



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

TATIANA COLOMBO PIMENTEL

**IOGURTE PROBIÓTICO COM INULINA COMO  
SUBSTITUTO DE GORDURA**

---

Londrina  
2009

TATIANA COLOMBO PIMENTEL

**IOGURTE PROBIÓTICO COM INULINA COMO SUBSTITUTO  
DE GORDURA TATIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina – PR, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio

Londrina  
2009

TATIANA COLOMBO PIMENTEL

**IOGURTE PROBIÓTICO COM INULINA COMO SUBSTITUTO DE  
GORDURA TATIANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina – PR, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência de Alimentos.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio  
UEL – Londrina – PR

---

Dr. Lúcio Alberto Forti Antunes  
Christian Hansen

---

Profa. Dra. Lúcia Helena Miglioranza  
UEL – Londrina – PR

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2009.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Glaci e Paulo, por terem me apoiado incondicionalmente em todas as minhas decisões, sem hesitar. Por todo o amor e carinho dispensados e pela presença constante durante todos os momentos desta caminhada. Essa conquista também é de vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter me feito acreditar, persistir e lutar. Por ter me confortado em todos os momentos e me dado a certeza de que eu venceria.

À minha mãe, Glaci, pela companhia nos finais de semana e feriados na universidade, necessários para a realização deste trabalho. Pelo apoio incondicional e exemplo de força e perseverança.

Ao meu pai, Paulo, exemplo de honestidade e amizade durante todas as etapas da minha vida. Pela companhia nas viagens quando o trabalho se tornava exaustivo.

À Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio pela orientação, dedicação e incentivo durante a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Sandra Garcia pela orientação mesmo em momentos muito difíceis de sua vida.

Ao meu irmão, Fabiano, pela ajuda na formatação, tabelas e gráficos deste trabalho, além dos momentos de descontração sempre presentes.

Ao meu querido Albani, pelo amor, amizade, admiração e certeza de que todos os esforços serão recompensados.

À minha amiga Luana, pela companhia de todas as horas e pela amizade incondicional.

Às minhas eternas amigas: Bruna, Caroline, Mirian e Mônica, as quais levarei em meu coração em qualquer lugar que eu esteja.

Aos meus familiares e amigos: Wilson e Sônia, Dito e Meire, Fernando e Sandra e Dr. Ali e Schirley, pela admiração e certeza de que eu conseguiria. Agradecimento especial a minha querida vó e madrinha Edi pela preocupação e orações sempre presentes e à minha prima e mestre Franciele pelo companheirismo e amizade mesmo quando a distância nos separava.

Aos meus amigos e companheiros de jornada: Elvis, Luiz, Michele, Nádia, Karla, Rafael, Luciana e Giselle. Ao companheirismo durante as análises, à ajuda quando tudo parecia estar errado e aos momentos de risadas e descontração tão importantes.

Aos amigos do departamento, principalmente Nelson, Marli e Elzinha, pela imensa ajuda dispensada.

Aos meus amigos e provadores da equipe sensorial, sem os quais uma parte deste trabalho não seria realizada: Maria das Graças, Michele Rosset, Cássia Reika Takabayashi, Agnes Izumi Nagashima, Mariana Buranelo Egea, Luciana Pereira Lobato, Fernanda Brito Darpossolo, Giselle Nobre Costa, Karla Bigetti Guergoletto, Rafael Coronato, Elvis Perboni Martins, Leonardo Raffa, Marina Costa, Giselle Onuki e Flávia Montanuci. Obrigada pela paciência e disposição para a realização dos testes.

À Christian Hansen pelo fornecimento das culturas lácticas.

À Clariant pelo fornecimento da inulina.

Ao CNPQ, pela bolsa de estudo concedida para a realização deste trabalho.

A todos aqueles que não foram citados aqui, mas que colaboraram e torceram para que mais uma etapa da minha vida fosse vencida.

**“O rio atinge seus objetivos porque  
aprendeu a contornar obstáculos.”**

(Lao Tse)

PIMENTEL, T.C. **Iogurte probiótico com inulina como substituto de gordura.** 2009. 186 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

## RESUMO

Investigou-se o efeito da redução do teor de gordura e da adição de inulina ou cultura probiótica nas características físicas e químicas (cor, pH, acidez titulável, perfil de textura e sinérese), sensoriais (Análise Descritiva Quantitativa e aceitação) e microbiológicas (contagem de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* e bolores e leveduras) de iogurtes. Estudou-se as alterações das características dos produtos durante armazenamento refrigerado (4°C) por 28 dias. A adição de inulina ou cultura probiótica e a redução do teor de gordura não resultaram em alteração da cor das formulações e não exerceram influência sobre a viabilidade do *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*. Houve diferenças no pH, na acidez titulável e nas contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* entre as formulações, relacionadas às diferentes composições químicas. Houve diminuição no pH e aumento na acidez durante o período de armazenamento. A adição de inulina ou cultura probiótica e o teor de gordura resultaram em diferenças no perfil de textura dos produtos comparados à formulação desnatada. A inulina provocou aumento da sinérese, observado durante o período de armazenamento para todas as formulações. A população dos microorganismos da cultura láctica não foi diferente no primeiro e no 28º dia de armazenamento. Não houve efeito da inulina sobre a viabilidade da cultura probiótica, sendo que os probióticos mantiveram um nível satisfatório no produto (7,877-8,282 log UFC mL<sup>-1</sup>) durante a estocagem. Um efeito antagonista da cultura probiótica sobre bolores e leveduras foi observado. A adição de inulina ou cultura probiótica e a redução do teor de gordura tiveram influência sobre os atributos dos iogurtes avaliados pela equipe sensorial treinada, exceto cor, aroma ácido e gosto doce. As formulações adicionadas de 2% de inulina foram igualmente aceitas à formulação integral, enquanto a adição de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* não resultou em modificação da aceitabilidade em relação ao iogurte desnatado. Correlações entre atributos sensoriais gerados na ADQ e entre atributos sensoriais e parâmetros físico-químicos e instrumentais foram determinadas.

**Palavras-chave:** Prebiótico. Probiótico. Inulina. Gordura. Funcional. Análise sensorial.

PIMENTEL, T.C. **Probiotic yogurt with inulin as fat substitute**. 2009. 186 f. Dissertation (Master's Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2009.

## ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of fat reduction and addition of inulin or probiotic culture on physical and chemical (color, pH, titratable acidity, texture profile and syneresis), sensorial (QDA and acceptability) and microbiological (counts of *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and yeasts and molds) characteristics of yogurts. Changes in products stored during 28 days at 4°C were studied. Inulin or probiotic culture addition and fat reduction did not alter yogurts color and did not influence *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* viability. There were differences in pH, titratable acidity and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* counts among formulations, related to different chemical composition. pH of samples decreased and titratable acidity increased during storage. Inulin and probiotic culture addition and fat content resulted in texture profile changes among formulations. Inulin addition resulted in increased syneresis, observed during storage for all formulations. Counts of lactic culture microorganisms were not different at 1<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> days of storage. There was not effect of inulin on probiotic culture viability. Probiotics exhibited good level in products (7,877 – 8,282 log CFU mL<sup>-1</sup>) during fermentation and storage. An antagonistic effect of probiotic culture on yeasts and molds was observed. Inulin or probiotic culture addition and fat reduction influenced sensory attributes of QDA, except color, acid odor and sweet taste. The low-fat yogurt formulations with 2% inulin were similar in acceptability to whole yogurt. Addition of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* did not result in acceptability changes to skimmed yogurt. Correlations between sensory attributes of QDA and between sensory attributes and physicochemical and instrumental parameters were determined.

**Keywords:** Prebiotic. Probiotic. Inulin. Fat. Functional. Sensory evaluation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> –	Estrutura química da inulina .....	30
<b>Figura 2</b> –	Fluxograma geral de fabricação de iogurte .....	43
<b>Figura 3</b> –	Curva típica de perfil de textura obtida no Texturômetro TAXT2i .....	52
<b>Figura 4</b> –	Fluxograma de preparação dos iogurtes .....	62
<b>Figura 5</b> –	Ficha para teste de reconhecimento de gostos básicos .....	69
<b>Figura 6</b> –	Ficha para teste de reconhecimento de odores básicos .....	70
<b>Figura 7</b> –	Ficha para levantamento de terminologia descritiva .....	71
<b>Figura 8</b> –	Ficha utilizada para avaliação dos atributos levantados na Análise Descritiva Quantitativa .....	74
<b>Figura 9</b> –	Ficha para Teste Afetivo .....	76
<b>Figura 10</b> –	Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e formulações de iogurte (b) sobre o plano fatorial (CP1 x CP2) .....	115
<b>Figura 11</b> –	Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e formulações de iogurte (b) sobre o plano fatorial (CP1 x CP3) .....	116
<b>Figura 12</b> –	Gráfico Aranha das amostras de iogurtes .....	119
<b>Figuras 13</b> –	Gráficos Formulação x Intensidade dos Atributos gerados na ADQ .....	185

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 –</b>	Definições e referências para os termos descritores ou atributos gerados pela equipe sensorial descritiva .....	72
<b>Tabela 2 –</b>	Composição química das formulações de iogurtes (base úmida) .....	78
<b>Tabela 3 –</b>	Conteúdo médio de inulina nos iogurtes (g/100g) durante o período de armazenamento a 4°C .....	81
<b>Tabela 4 –</b>	Parâmetros L*, a* e b* de cor dos iogurtes .....	83
<b>Tabela 5 –</b>	Conteúdo médio de lactose nos iogurtes (g/100g de produto) durante o período de armazenamento a 4°C .....	84
<b>Tabela 6 –</b>	Valores médios de pH dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C .....	86
<b>Tabela 7 –</b>	Valores médios de acidez dos iogurtes (% ácido láctico) durante o período de armazenamento a 4°C .....	86
<b>Tabela 8 –</b>	Valores médios de firmeza dos iogurtes (N) durante o período de armazenamento a 4°C .....	90
<b>Tabela 9 –</b>	Valores médios de coesividade dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C .....	94
<b>Tabela 10 –</b>	Valores médios de elasticidade dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C .....	95
<b>Tabela 11 –</b>	Valores médios de adesividade (em módulo) dos iogurtes (Ns) durante o período de armazenamento a 4°C .....	97
<b>Tabela 12 –</b>	Valores médios de gomosidade dos iogurtes (N) durante o período de armazenamento a 4°C .....	99
<b>Tabela 13 –</b>	Valores médios de sinérese dos iogurtes (mililitros para 100 gramas de produto) durante o período de armazenamento a 4°C .....	101
<b>Tabela 14 –</b>	Contagens médias de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C (log UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	103
<b>Tabela 15 –</b>	Contagens médias de <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> em iogurtes comerciais (log UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	104

<b>Tabela 16</b> –	Contagens médias de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C (log UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	105
<b>Tabela 17</b> –	Contagens médias de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> em iogurtes comerciais (log UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	108
<b>Tabela 18</b> –	Contagens médias de <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C (log UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	109
<b>Tabela 19</b> –	Contagens médias de bolores e leveduras nos iogurtes (UFC mL <sup>-1</sup> ) .....	113
<b>Tabela 20</b> –	Correlações dos atributos com os eixos componentes principais (CP) .....	117
<b>Tabela 21</b> –	Média dos atributos sensoriais para cada formulação .....	121
<b>Tabela 22</b> –	Coefficientes de correlação de Pearson dos atributos sensoriais obtidos na ADQ .....	128
<b>Tabela 23</b> –	Coefficientes de correlação de Pearson entre as medidas físico-químicas e instrumentais e os atributos sensoriais gerados na ADQ .....	132
<b>Tabela 24</b> –	Aceitação dos iogurtes .....	140
<b>Tabela 25</b> –	Composição química do leite em pó integral .....	171
<b>Tabela 26</b> –	Composição química do leite em pó desnatado .....	171

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> –	Espécies principais usadas como probióticos .....	24
<b>Quadro 2</b> –	Ocorrência natural de inulina em alimentos .....	31
<b>Quadro 3</b> –	Definições sensoriais e físicas correspondentes a cada parâmetro mecânico (dureza, coesividade, elasticidade, adesividade, fraturabilidade, gomosidade e mastigabilidade).....	50

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>18</b>
2.1	ALIMENTOS FUNCIONAIS	18
2.2	PROBIÓTICOS	20
2.2.1	<i>Lactobacillus casei</i>	26
2.3	PREBIÓTICOS	27
2.3.1	Inulina	29
2.3.1.1	Aspectos nutricionais	31
2.3.1.2	Determinação analítica	34
2.3.1.3	Toxicidade	35
2.3.1.4	Aspectos legais	37
2.3.1.5	Inulina como substituto de gordura	37
2.4	SIMBIÓTICOS	39
2.5	LOGURTE	40
2.5.1	Processo de Fabricação	42
2.5.1.1	Padronização	43
2.5.1.2	Homogeneização	44
2.5.1.3	Tratamento térmico	45
2.5.1.4	Diminuição da temperatura	45
2.5.1.5	Inoculação das culturas lácticas	46
2.5.1.6	Fermentação	46
2.5.1.6.1	<i>Culturas lácticas</i>	46
2.5.1.7	Resfriamento	48
2.5.1.8	Envase e armazenamento refrigerado	48
2.6	TEXTURA	49
2.7	ANÁLISE SENSORIAL	54
2.7.1	Testes Afetivos	55
2.7.2	Análise Descritiva Quantitativa	55
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>57</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	57

3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	57
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>58</b>
4.1	MATERIAL .....	58
4.1.1	Matéria-prima .....	58
4.1.2	Cultura Láctica .....	59
4.1.3	Cultura Probiótica .....	59
4.2	Métodos .....	59
4.2.1	Preparação da Cultura Láctica .....	60
4.2.2	Preparação dos logurtes .....	60
4.2.3	Avaliação da Composição Química .....	62
4.2.4	Avaliação da Cor .....	63
4.2.5	Avaliação das Características de Pós-acidificação .....	63
4.2.5.1	Determinação do pH .....	64
4.2.5.2	Acidez titulável .....	64
4.2.5.3	Perfil de textura .....	64
4.2.5.4	Sinérese .....	65
4.2.5.5	Avaliação microbiológica .....	65
4.2.5.5.1	<i>Contagem de Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i> .....	65
4.2.5.5.2	<i>Contagem de Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> .....	66
4.2.5.5.3	<i>Contagem de Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i> .....	66
4.2.5.5.4	<i>Bolores e leveduras, coliformes totais e coliformes a 45°C</i> .....	66
4.2.6	Análise Sensorial .....	67
4.2.6.1	Condições do teste .....	67
4.2.6.2	Análise descritiva quantitativa .....	68
4.2.6.2.1	<i>Pré-seleção dos candidatos</i> .....	68
4.2.6.2.2	<i>Desenvolvimento da terminologia descritiva</i> .....	70
4.2.6.2.3	<i>Seleção da equipe final de provadores</i> .....	75
4.2.6.2.4	<i>Avaliação das formulações</i> .....	76
4.2.6.3	Teste afetivo .....	76
4.2.7	Delineamento Experimental e Análise Estatística .....	77
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>78</b>
5.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	78

5.2	COR .....	82
5.3	CARACTERÍSTICAS DE PÓS-ACIDIFICAÇÃO .....	84
5.3.1	Teor de Lactose .....	84
5.3.2	pH e Acidez .....	85
5.3.3	Textura .....	90
5.3.4	Sinérese .....	100
5.3.5	Microbiologia .....	103
5.3.5.1	Contagem de <i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i> .....	103
5.3.5.2	Contagem de <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> .....	104
5.3.5.3	Contagem de <i>Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i> .....	108
5.3.5.4	Coliformes e Bolores e Leveduras .....	112
5.4	ANÁLISE SENSORIAL .....	114
5.4.1	Análise Descritiva Quantitativa .....	114
5.4.2	Correlações entre os Atributos Gerados na ADQ .....	127
5.4.3	Correlações entre Medidas Físico-químicas e Instrumentais e Atributos Sensoriais .....	132
5.4.4	Aceitação .....	139
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>143</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>145</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>146</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>170</b>
	ANEXO A .....	171
	ANEXO B .....	172
	ANEXO C .....	174
	ANEXO D .....	175
	ANEXO E .....	176
	ANEXO F .....	177
	ANEXO G .....	180
	ANEXO H .....	183

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas houve um aumento na conscientização quanto à saúde e qualidade de vida, o que encorajou as pessoas a praticar exercícios físicos, adquirir hábitos de alimentação saudável e diminuir o consumo de alimentos ricos em açúcar, sal e gordura (PINHEIRO *et al.*, 2005). Paralelamente a este fenômeno, observa-se um acelerado desenvolvimento de alimentos que promovem o bem-estar, melhoram a saúde e reduzem o risco de doenças (MUSSATTO; MANCILHA, 2007). O *alimento funcional* é um alimento semelhante em aparência ao alimento convencional; consumido como parte da dieta usual; capaz de produzir demonstrados efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução de riscos de doenças crônico-degenerativas, além de suas funções nutricionais básicas (HEALTH CANADA, 1998).

Probióticos são microorganismos vivos que conferem efeito benéfico ao indivíduo, quando consumidos em quantidades adequadas (FAO / WHO, 2001).

Prebióticos são componentes alimentares não viáveis, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação de sua microbiota (FAO / AGNS, 2007). Um dos prebióticos utilizados atualmente é a inulina, um frutooligosacarídeo formado por ligações  $\beta$ -1,2, não hidrolisadas pelo organismo humano; sendo assim considerada uma fibra alimentar solúvel (NINESS, 1999).

O consumo de inulina, além de seu efeito prebiótico, tem sido relacionado com a inibição do crescimento de patógenos no intestino (KIP *et al.*, 2005) e outros efeitos fisiológicos, como o aumento na absorção de cálcio (MANNING; GIBSON, 2004; ABRAMS *et al.*, 2005); redução do risco de aterosclerose (LETEXIER *et al.*, 2003); alívio da constipação (DEN HOND *et al.*, 2000; IZZO; NINESS, 2001) e não alteração do índice glicêmico e níveis insulínicos no sangue (IZZO; NINESS, 2001).

Produtos lácteos são considerados pelos consumidores como saudáveis: auxiliam no processo de digestão; são fundamentais para os ossos e auxiliam o sistema imune (KIP *et al.*, 2005). Iogurte é um produto fermentado elaborado com leite enriquecido com alto teor de sólidos, usando uma cultura mista

de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (ISLETEN; KARAGUL-YUCEER, 2006).

A relação entre o consumo de gorduras e as doenças cardíacas tem sido aceita e a redução de gordura animal na dieta tem sido recomendada pelos nutricionistas (KUCUKONER; HAQUE, 2003 *apud* GUVEN *et al.*, 2005). O consumo de produtos com baixo teor de gordura vem aumentando, devido ao reconhecimento dos seus benefícios e suas vantagens nutricionais (HAQUE; JI, 2003).

A gordura do leite tem um importante papel no desenvolvimento de textura, sabor e cor de produtos lácteos (GUVEN *et al.*, 2005). A redução no conteúdo de gordura pode causar alguns defeitos no iogurte como perda de sabor, de consistência ou falta de textura (EL-NAGAR *et al.*, 2002). Embora a fabricação de iogurtes com baixo teor de gordura seja possível há muitos anos, o uso de substitutos de gordura na fabricação de produtos lácteos é recente (GUVEN *et al.*, 2005).

A inulina vem sendo utilizada como substituto de gordura na indústria láctea e tem mostrado efeitos positivos na reologia e estabilidade dos produtos (EL-NAGAR *et al.*, 2002).

Considerando a crescente exigência do consumidor por alimentos que apresentem além da qualidade sensorial e nutricional, benefícios associados à saúde, justifica-se a proposta deste trabalho de elaborar e caracterizar física, química e sensorialmente, iogurte natural probiótico de baixo teor de gordura adicionado de inulina.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Em meados dos anos 80 crescia no Japão o interesse por alimentos que além de satisfazer requerimentos nutricionais e sensoriais básicos, desempenhassem efeitos fisiológicos benéficos (CÂNDIDO; CAMPOS, 1995a). Isso ocorreu principalmente devido ao fato da maioria da população concentrar-se numa faixa etária cada vez mais avançada, e por se buscar maneiras de reduzir a incidência de doenças e o custo representado por elas (PARRA; DUAILIBI, 2002).

Após um trabalho conjunto envolvendo universidades, governo e associações industriais, esta categoria de alimentos foi regulamentada em julho de 1991 no Japão, e recebeu o nome de —Foods for Specified Health Use (FOSHU) (CÂNDIDO; CAMPOS, 1995b). A legislação japonesa define FOSHU como: —alimentos processados, que contêm ingredientes que auxiliam funções corporais específicas, além de serem nutritivos (NEWMANN *et al.*, 2000).

Ainda não existe uma definição mundialmente aceita para os *alimentos funcionais* (STRINGHETA *et al.*, 2007). Entretanto, diversas organizações tentaram definir essa categoria emergente de alimentos (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2005; HEALTH CANADA, 1998). A falta de uma terminologia consensual não deve ser um obstáculo direto ao desenvolvimento desses produtos, levando em consideração que os consumidores são mais atraídos pelas alegações relacionadas aos benefícios à saúde do que pelo uso de um termo legal em particular (KWAK; JUKES, 2001). No entanto, para efeito de controle regulatório, uma definição explícita é crucial a fim de evitar incerteza e confusão (KWAK; JUKES, 2001).

Lajolo (2005) definiu *alimento funcional* como aquele semelhante em aparência ao alimento convencional; consumido como parte de uma alimentação normal; capaz de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos desejáveis na manutenção da saúde. Adicionalmente às suas funções nutricionais, como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, possui, em sua composição uma ou mais substâncias capazes de agir no sentido de modular os

processos metabólicos, melhorando as condições de saúde, promovendo o bem-estar das pessoas e reduzindo o risco de aparecimento precoce de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade.

Um programa europeu, denominado como —Functional Food Science in Europe (FUFOSE) propõe a seguinte definição: —um alimento pode ser considerado funcional, se for demonstrado satisfatoriamente que afeta benéficamente uma ou mais funções no organismo, além da função nutricional, em um modo que seja relevante na melhoria do bem-estar e saúde e/ou redução do risco de doença. Um alimento funcional deve permanecer como um alimento e deve demonstrar seus efeitos em quantidades que podem ser normalmente consumidas na dieta; não é uma pílula ou cápsula, mas parte de uma dieta normal (ROBERFROID, 2005a; ROBERFROID, 2005b).

Essa definição descreve todos os requerimentos para os *alimentos funcionais*, a saber: a natureza do alimento e seu consumo como parte de uma dieta normal; a demonstração científica dos efeitos benéficos; os benefícios nas funções do organismo além da função nutricional; e a relevância desses benefícios em melhorar o bem-estar e saúde e/ou reduzir o risco de doenças (ROBERFROID, 2005a; ROBERFROID, 2005b).

A legislação brasileira aborda o tema *alimentos funcionais* e dispõe as alegações de propriedades funcionais e de saúde de alimentos e ingredientes para consumo humano, permitidas para serem veiculadas em rótulos e nas propagandas de produtos elaborados, embalados e comercializados, prontos para a oferta ao consumidor.

Segundo BRASIL (1999), alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que uma substância (seja nutriente ou não) tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano; e alegação de propriedade de saúde é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde. Não são permitidas alegações de saúde que façam referência à cura ou prevenção de doenças, pois as doenças crônico-degenerativas são multifatoriais e o controle de apenas um componente como a dieta não é realmente suficiente para a prevenção (LAJOLO, 2005).

O mercado de *funcionais* representa uma demanda nova do consumidor informado, que busca alimentos diferenciados (STRINGHETA *et al.*,

2007). Mundialmente, foi estimado um crescimento no total de vendas de alimentos funcionais de 75 bilhões de dólares em 2007 para 109 bilhões de dólares em 2010 (GBA, 2007). Os Estados Unidos representam o maior mercado de alimentos e bebidas funcionais, com vendas estimadas em 29 bilhões de dólares em 2007. A Europa e o Japão vêm logo em seguida, na segunda e terceira posições, respectivamente. Em conjunto, Estados Unidos, Europa e Japão somam 90% do consumo mundial de alimentos funcionais. A Ásia e a América Latina estão entre os mercados de maior crescimento para este tipo de alimento (GBA, 2007). No Brasil, as estimativas giram em torno de US\$ 600 milhões; cerca de 15% do mercado nacional de *diet e light*, mais antigos no mercado. O conjunto de alimentos *diet, light* e *funcionais* representa cerca de 6% da produção nacional da indústria alimentícia (ALIMENTOS..., 2006).

Em termos de segmento de mercado mundial, o mercado de produtos lácteos funcionais é o maior segmento, com vendas superiores a 28 bilhões de dólares em 2007. O mercado de bebidas funcionais é o que mais cresce, com vendas estimadas em 34 bilhões de dólares para 2010 (GBA, 2007).

De acordo com IFIC (International Food Information Council Foundation) (2005) os probióticos e os prebióticos constituem exemplos de componentes funcionais.

## 2.2 PROBIÓTICOS

De acordo com Fooks *et al.* (1999); Schrezenmeir e Vrese (2001) e Shah (2007), o termo probiótico tem origem grega significando —pró-vidal. Tal termo foi inicialmente proposto por Lilly e Stilwell (1965) como uma substância secretada por um microorganismo que estimula o crescimento de outro microorganismo.

Posteriormente, Fuller (1989) redefiniu probióticos excluindo o termo substância, pois este poderia incluir antibióticos e estimulantes microbianos (FOOKS *et al.*, 1999). Este autor propôs então a seguinte definição: —probiótico é um suplemento alimentar microbiano vivo o qual afeta benéficamente o animal hospedeiro, por meio da melhoria de seu balanço microbiano intestinal. Essa

definição enfatizava a necessidade da viabilidade do probiótico e introduzia o aspecto relacionado ao efeito benéfico ao hospedeiro, que de acordo com a sua definição seria um animal (SCHREZENMEIR; VRESE, 2001). No entanto, o conceito continuava restrito a apenas um mecanismo particular de ação: melhoria do balanço microbiano intestinal (GUARNER *et al.*, 2005).

Essa definição foi modificada por Havenaar e Huis in't Veld (1992) incluindo o homem e não só os animais; outros habitats, como o trato respiratório e urogenital, além da microbiota intestinal (SCHREZENMEIR; VRESE, 2001; GUARNER *et al.*, 2005), e caracterizando probiótico como —uma cultura simples ou mista de microorganismos vivos, os quais beneficiam o homem ou os animais por meio da melhoria das propriedades de sua microbiota nativall. Esta definição, no entanto, ainda continuava restrita a microorganismos capazes de influenciar o balanço microbiano endógeno (GUARNER *et al.*, 2005).

A definição atualmente aceita é que os probióticos são microorganismos vivos que conferem efeito benéfico ao indivíduo, quando consumidos em quantidades adequadas (FAO / WHO, 2001; SANDERS, 2003; PINEIRO; STANTON, 2007).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2002), probióticos são microorganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo.

Esses microorganismos são, geralmente, bactérias gram-positivas sendo incluídos basicamente em dois gêneros: *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que usualmente são adicionados a leites fermentados ou acrescentados na forma liofilizada ou congelada (MORTAZAVIAN *et al.*, 2007).

Para exercer um impacto benéfico à saúde, a concentração de probióticos no produto deve atingir níveis adequados (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001; VASILJEVIC *et al.*, 2007; DONKOR *et al.*, 2007). Contudo, não há consenso quanto ao valor recomendado, sendo que os níveis sugeridos frequentemente consideram valores terapêuticos desde  $10^6$  (VARNAM; SUTHERLAND, 1994; EARLY, 1998; SHAH, 2007) até  $10^8$  ou  $10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001). Shah (2000) sugere um mínimo de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>, mas recomenda  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup> para compensar a redução que acontece no número de microorganismos viáveis durante a passagem pelo trato gastrointestinal.

Para Toma e Pokrotnieks (2006) o consumo deve ser de mais de 100 gramas por dia de bio-iogurte (iogurte contendo *L. acidophilus* e *B. bifidum*) em quantidades superiores a  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> para que se possam obter efeitos terapêuticos. Early (1998) sugere uma ingestão semanal de 300-400 gramas deste produto.

De acordo com a legislação brasileira, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na porção diária. Valores menores do que estes podem ser aceitos desde que a empresa comprove a sua eficácia (BRASIL, 2007).

Para humanos sugere-se que probióticos exerçam as seguintes funções:

- **formação ou reconstrução da microbiota intestinal**, por exemplo, em crianças recém-nascidas durante tratamento intensivo e após uso de antibióticos em adultos (HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992; SANDERS, 2000);
- **aumento da resistência da microbiota benéfica** intestinal, respiratória e urogenital (HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992; SANDERS, 2000);
- **diminuição do nível de colesterol sérico** (HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992; SANDERS, 2000; SANDERS, 2003; SHEIL *et al.*, 2007). O efeito hipocolesterolêmico das bactérias probióticas ainda gera controvérsia (ROBERFROID, 2000). Estudos realizados nas décadas de 70 e 80 reportavam reduções de 5-17% na concentração de colesterol sérico após 2 a 4 semanas de consumo diário de produtos lácteos fermentados. No entanto, alguns estudos não indicam nenhum efeito significativo (ROBERFROID, 2000). Hlivak *et al.* (2005) estudaram o efeito de um ano de administração oral de *Enterococcus faecium* no nível de colesterol sérico de humanos e encontraram uma diminuição no colesterol total de 12% após 56 semanas;
- **inibição de substâncias mutagênicas e redução da incidência de tumores intestinais** (SHEIL *et al.*, 2007);
- **interações não específicas com o sistema imune** (SANDERS, 2003);
- **metabolismo da lactose e redução da intolerância à lactose** (FOOKS *et al.*, 1999; SANDERS, 2003; SHEIL *et al.*, 2007). Má absorção de lactose é uma condição na qual o principal carboidrato do leite não é completamente

hidrolisado a seus monossacarídeos, glicose e galactose, devido à ausência da enzima  $\beta$ -D-galactosidase no intestino de algumas pessoas. Algumas bactérias ácido-láticas usadas como culturas lática na fermentação do leite e bactérias probióticas como *L. acidophilus* e *B. bifidum*, produzem  $\beta$ -D-galactosidase. Essa enzima hidrolisa a lactose resultando em um aumento da tolerância por produtos lácteos (SHAH, 2007).

- **alívio da constipação** (SANDERS, 2003);
- **inibição de patógenos** (SGOURAS *et al.*, 2004). Os mecanismos de inibição de patógenos associados aos lactobacilos e bifidobactérias incluem: a produção de substâncias antimicrobianas/inibitórias como; ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas, antibióticos e ácidos biliares desconjugados; competição por sítios de adesão e nutrientes e estimulação do sistema imune. A produção de ácidos orgânicos pelos probióticos diminui o pH e altera o potencial de oxido-redução do intestino, resultando em uma ação antimicrobiana (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001; SHEIL *et al.*, 2007);
- **aumento na absorção de cálcio** e diminuição do risco de osteoporose (HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992) e;
- **síntese de vitaminas e proteínas pré-digeridas** (HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992; SHEIL *et al.*, 2007).

É importante salientar, no entanto, que nem todos os probióticos são efetivos para todas as funções e é necessário considerar-se as variações existentes entre as diferentes espécies e cepas com relação à funcionalidade (PINEIRO; STANTON, 2007).

Em termos de crescimento e viabilidade de bactérias probióticas, leites fermentados são excelentes veículos para a transferência de espécies selecionadas para os humanos; e vários microorganismos vêm sendo utilizados em alimentos probióticos ao redor do mundo (QUADRO 1).

<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Bifidobacterium spp.</i> <sup>2</sup>	Outros
<i>L. acidophilus</i> <sup>2</sup> <i>L. casei</i> <sup>2</sup> <i>L. amylovorus</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gallinarum</i> <sup>1</sup> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. brevis</i> <i>L. cellobiosus</i> <i>L. curvatus</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <sup>3</sup> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <sup>3</sup> <i>B. longum</i> <i>B. thermophilum</i>	<i>E. faecalis</i> <sup>1</sup> <i>E. faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Sporolactobacillus inulinus</i> <sup>1</sup>

**Fonte:** HOLZAPFEL *et al.*, 1998; FOOKS *et al.*, 1999; AZIZPOUR *et al.*, 2009

<sup>1</sup>Aplicação em animais

<sup>2</sup>Principais probióticos

<sup>3</sup>Sinônimos

**Quadro 1** – Espécies principais usadas como probióticos

Em geral, no critério de seleção, para uma bactéria ser considerada probiótica consta que (FULLER, 1989; HAVENAAR; HUIS IN'T VELD, 1992; SAARELA *et al.*, 2000; MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002; GUARNER *et al.*, 2005; GIBSON, 2007):

- deve ser, preferencialmente, de origem humana;
- deve ser isolada do trato gastrintestinal de pessoas saudáveis;
- deve ser não patogênica, tóxica, alergênica, mutagênica ou carcinogênica, tanto a espécie utilizada quanto os produtos da fermentação ou os componentes celulares liberados após decréscimo da quantidade bacteriana;
- deve possuir propriedades tecnológicas adequadas a fim de que seja produzida e incorporada em alimentos sem perder sua viabilidade e funcionalidade;
- não deve criar sabores ou texturas desagradáveis nos produtos;
- deve permanecer viável durante a vida útil do produto;
- deve apresentar resistência à acidez e à bile, passando, portanto, pelo trato gastrintestinal e chegando viável ao seu sítio de ação;
- deve ter habilidade de aderir às células do epitélio intestinal e/ou colonizar o lúmen do trato;

- deve contribuir para a nutrição do indivíduo pela síntese de nutrientes essenciais que se tornam mais disponíveis e/ou pela digestão de substâncias que o indivíduo seja fisiologicamente incapacitado de utilizar;
- deve apresentar atividade antagonista a patógenos entéricos e/ou;
- pode estar associada a outros benefícios à saúde.

A sobrevivência das bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados depende de vários fatores, como: espécie probiótica utilizada; interação entre as espécies presentes; composição química do meio de fermentação (ex: fonte de carboidrato); produção de peróxido de hidrogênio durante o metabolismo bacteriano; acidez final; teor de sólidos do leite; disponibilidade de nutrientes; presença de promotores e inibidores de crescimento; concentração de açúcares; oxigênio dissolvido; nível de inoculação; temperatura de incubação; tempo de fermentação; temperatura de estocagem e permeabilidade da embalagem ao oxigênio (DAVE; SHAH, 1997; SHAH, 2000; MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002; SANZ, 2007).

Para superar os problemas de sobrevivência de bactérias probióticas em produtos lácteos fermentados, diferentes alternativas vêm sendo utilizadas, incluindo: seleção de culturas (SHAH, 2000; TUNGLAND, 2000; LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001); microencapsulação (SHAH, 2000; MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002; KAILASAPATHY, 2006) e adição de prebióticos (MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 2002; GIBSON, 2004).

Os prebióticos exercem um efeito protetor sobre as bactérias probióticas, incluindo o aumento de sua sobrevivência e atividade durante a estocagem do produto (DONKOR *et al.*, 2007). Akalin *et al.* (2004) avaliando a viabilidade e atividade de bifidobactérias em iogurte contendo frutooligossacarídeos durante o armazenamento refrigerado, encontraram que a viabilidade de *B. longum* em iogurtes contendo frutooligossacarídeos permaneceu acima de  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup> por até 21 dias enquanto este nível foi mantido por apenas 7 dias sem a adição.

### 2.2.1 *Lactobacillus casei*

O *Lactobacillus casei* é um microorganismo heterofermentativo facultativo que produz ácido láctico como principal produto da glicólise (DESAI et al., 2004).

Possui temperatura ótima de crescimento a 37°C e mínima a 15°C. O pH ótimo de crescimento é de 6,8, com mínimo em torno de 3,0 (RASIC; KURMANN, 1983).

O grupo *Lactobacillus casei* compreende bactérias lácticas fenotípica e genotipicamente heterogêneas, envolvendo as espécies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus zeae* e *Lactobacillus rhamnosus* (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002).

Tem sido reportado que o *Lactobacillus casei* estimula o sistema imune (SGOURAS et al., 2004; ARYANA; MCGREW, 2007); alivia os sintomas da doença de Crohn (INGRASSIA et al., 2005); reduz sinais clínicos de diarreia por rotavírus (GUÉRIN-DANAN et al., 2001); diminui os níveis de triglicérides séricos e colesterol (MINELLI et al., 2004); e possui propriedades antimicrobianas (SGOURAS et al., 2004). Este último aspecto pode ser de especial valor como apelo aos consumidores, porque as linhagens de *E.coli* enteropatogênica e enterotoxigênica estão entre os patógenos inibidos (ITSARANUWAT et al., 2003).

Minelli et al. (2004) examinaram quatro linhagens de *L. casei* quanto ao seu uso potencial em um novo produto fermentado probiótico. As características analisadas foram: performance tecnológica, capacidade de adesão *in vitro* e tolerância ao trânsito intestinal quando administradas em ratos. Os autores reportaram que todas as linhagens estudadas poderiam ser utilizadas em alimentos promotores de saúde.

Segundo Nighswonger et al. (1996), *Lactobacillus casei* mostrou-se promissor como uma outra espécie de *Lactobacillus* que não o *L. acidophilus* para o uso como suplemento em produtos fermentados, porque sua estabilidade durante a estocagem refrigerada é igual, ou melhor, que as cepas de *L. acidophilus* testadas.

Muitas indústrias têm incorporado *Lactobacillus casei* na manufatura de iogurtes (DESAI et al., 2004).

## 2.3 PREBIÓTICOS

Prebiótico foi definido primeiramente como um ingrediente alimentar que não é hidrolisado pelas enzimas digestivas humanas no trato gastrointestinal superior e afeta benéficamente o indivíduo por estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de um ou um número limitado de bactérias no cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Gibson *et al.* (2004) atualizaram a definição para: —prebióticos são ingredientes seletivamente fermentados; que permitem mudanças específicas na composição e/ou na microbiota intestinal; e que conferem benefícios ao bem estar e saúde do hospedeiro.

O principal conceito associado a ambas definições é que os prebióticos têm efeito seletivo na microbiota; o que resulta em melhoria da saúde do hospedeiro (FAO / AGNS, 2007).

As definições apresentadas anteriormente, no entanto, enquanto diferenciam essa classe de ingredientes alimentares dentro das fibras alimentares, são restritivas em sua aplicabilidade em locais diferentes do trato gastrointestinal (FAO / AGNS, 2007). Um encontro técnico da FAO, realizado em 2007, trouxe a definição atualmente aceita: —prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação de sua microbiota (FAO/ AGNS, 2007). Essa definição deixa explícito que os prebióticos (FAO / AGNS, 2007):

- são componentes e não um organismo ou uma droga. São substâncias que podem ser caracterizadas quimicamente; e em muitos casos devem ser componentes de grau alimentício;
- conferem benefícios mensuráveis à saúde e não devido à absorção do componente na corrente sanguínea ou ao componente atuar por si só; capazes de transpor qualquer efeito adverso;
- modulam a microbiota: mostra que apenas a presença do componente e da formulação na qual ele foi inserido mudam a composição ou a atividade da microbiota do hospedeiro.

Um ingrediente alimentar para ser considerado prebiótico, deve atender aos seguintes itens: não pode ser hidrolisado nem absorvido na parte superior do trato gastrointestinal (estômago e intestino delgado); deve ser seletivamente fermentado por um ou um limitado número de bactérias potencialmente benéficas no cólon (como as bifidobactérias); deve alterar a composição da microbiota para uma composição mais saudável e deve, preferencialmente, induzir efeitos que são benéficos para a saúde do hospedeiro (FOOKS *et al.*, 1999; GIBSON *et al.*, 2004; MANNING; GIBSON, 2004; KOLIDA *et al.*, 2007).

Um prebiótico para ter uso potencial deve ser estável durante a estocagem; não requerer refrigeração e ser de incorporação fácil e eficiente em alimentos processados (TUNGLAND, 2000).

Muitos carboidratos não digeríveis vêm sendo testados, com as oligofrutoses e a inulina frequentemente sendo empregadas nesses estudos (TUNGLAND, 2000).

As oligofrutoses foram introduzidas como sinônimos de frutooligossacarídeos em 1989 (COUSSEMENT, 1999). De acordo com a nomenclatura da IUB- IUPAC (International Union of Biochemistry - International Union of Pure and Applied Chemistry), oligossacarídeos são definidos como sacarídeos contendo 3-10 resíduos de monossacarídeos unidos através de ligações glicosídicas (MUSSATO; MANCILHA, 2007). Outra classificação considera os oligossacarídeos como sendo aqueles que possuem entre 3 e 19 unidades de monossacarídeos (MUSSATO; MANCILHA, 2007). No entanto, não há razão fisiológica ou química para esta divisão (VORAGEN, 1998).

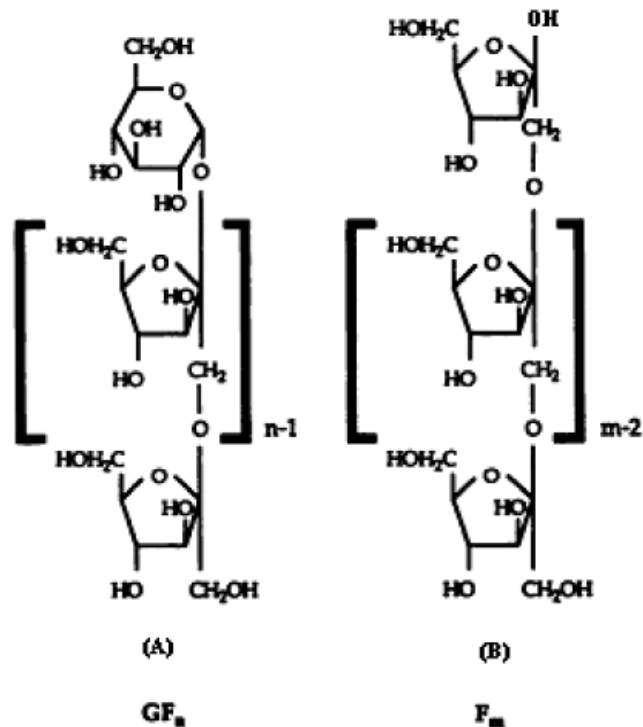
A inulina é composta de uma mistura de oligômeros e polímeros na qual o número de unidades de monossacarídeos varia de 2 até mais de 65, com um grau de polimerização médio na inulina nativa de 12 (GIBSON *et al.*, 2004; ROBERFROID, 2005a).

### 2.3.1 Inulina

A inulina foi descoberta no século XIX por um cientista alemão e definida como o carboidrato isolado da raiz de *Inula helenium*. Ao longo do mesmo século vários estudos foram realizados reportando os efeitos benéficos da inulina para os humanos (ROBERFROID, 2005a). No entanto, apenas recentemente a inulina e seus derivados têm atraído o interesse da indústria alimentícia; que já vem desenvolvendo uma série de produtos, estimulando assim pesquisas e publicações acerca da produção e uso nutricional desse carboidrato (ROBERFROID, 2005a).

A inulina convencional contém em torno de 6-10% de açúcares, representados pela glicose, frutose e sacarose. Um tipo de inulina, denominada de —alta performancell (HP), se encontra disponível no mercado. Este produto é obtido através da remoção das moléculas de cadeia curta, sendo assim, os açúcares residuais, assim como os oligômeros, são removidos. A inulina HP tem grau de polimerização médio de 25 e uma distribuição molecular entre 11 e 60. Este produto promove duas vezes mais a sensação da gordura do que a inulina convencional (NINESS, 1999; FRANCK, 2002; ROBERFROID, 2005a)

Na figura 1 está representada a estrutura química da inulina, onde se observa que esta é formada por uma mistura heterogênea de polímeros de frutose, que pode terminar com uma molécula de glicose (A) ou de frutose (B).



**Figura 1** – Estrutura química da inulina (GIBSON; ROBERFROID, 1995)

A produção de inulina é realizada a partir da extração de raízes de chicória (*Cichorium intybus*) utilizando água quente, por um processo semelhante ao da extração de açúcar da beterraba (FRANCK, 2002; FDA / CFSAN, 2003; ROBERFROID, 2005a).

De acordo com Lorenzo, Navia e Neiditch (1999) e FDA / CFSAN (2003), os métodos convencionalmente utilizados para extrair inulina de produtos vegetais incluem algumas etapas básicas: lavagem dos tubérculos; fatiamento ou moagem dos tubérculos; extração de inulina com água; tratamento do extrato com dióxido de carbono e cal; filtragem e recuperação da inulina por precipitação ou evaporação. Os produtos comerciais de inulina contêm 92% de inulina em uma média de grau de polimerização de 10 (CARABIN; FLAMM, 1999).

A inulina está amplamente distribuída na natureza em uma variedade de plantas e em algumas bactérias e fungos (FRANCK, 2002). No quadro 2 são apresentados alguns vegetais e a quantidade respectiva de inulina que pode ser encontrada naturalmente.

Fonte	Inulina (%)
Alcachofra de Jerusalém	16-20
Alho	9-16
Arroz	0,5-0,9
Aspargo	2-3
Banana	0,3-0,7
Cebola	1,1-7,5
Centeio	0,5-1
Cevada	0,5-1,5
Chicória	15-20
Dente de Leão	12-15
Trigo	1-4
Yacon	3-19

**Quadro 2** – Ocorrência natural de inulina em alimentos

**Fonte:** Van Loo (1995); Tunglund (2000)

### 2.3.1.1 Aspectos nutricionais

A relação entre dose-efeito em um complexo ecossistema como a microbiota colônica depende de alguns fatores como, por exemplo, o número inicial de bifidobactérias (ROBERFROID *et al.*, 1998; ROBERFROID, 1999; KOLIDA *et al.*, 2007). Indivíduos com menor contagem de bifidobactérias inicial geram melhores respostas à ação dos prebióticos do que aqueles que possuem maior contagem (RASTALL; MAITIN, 2002).

Gibson (2007) e Kolida *et al.* (2007) afirmam que uma dose prebiótica de 5g/dia de inulina é suficiente para alterar benéficamente a microbiota colônica, sendo que em casos específicos, esse valor pode chegar a 8g/dia. Manning e Gibson (2004) indicam que no mínimo 4g/dia, mas preferivelmente 8g/dia do prebiótico seriam necessários para aumentar significativamente a quantidade de bifidobactérias no intestino.

Van de Wiele *et al.* (2006) concluíram que a inulina apresenta efeitos prebióticos mais pronunciados do que as oligofrutoses considerando tanto a atividade fermentativa quanto a composição bacteriana, quando utilizaram um simulador do ecossistema colônico humano (SHIME).

A inulina possui unidades de frutose unidas por ligações do tipo  $\beta(1-2)$ , que não são clivadas pelos humanos devido à inabilidade enzimática, então, é fermentada no cólon, sem recuperação nas fezes (IZZO; NINESS, 2001).

Consequentemente, em termos de valor calórico, a inulina não pertence aos carboidratos digeríveis, que possuem valor calórico de 3,9 kcal/g (ROBERFROID, 1999; IZZO; NINESS, 2001). O valor calórico da inulina foi determinado como sendo de 1,5 kcal/g (ROBERFROID, 1999).

Alguns benefícios associados a inulina são:

- aumento na absorção de cálcio (GRIFFIN *et al.*, 2003; MANNING; GIBSON, 2004; ABRAMS *et al.*, 2005; SCHOLZ-AHRENS *et al.*, 2007). As várias hipóteses para explicar esse efeito são: o efeito osmótico; a acidificação do conteúdo do cólon devido à fermentação e produção de ácidos graxos de cadeia curta; a formação de sais solúveis de cálcio e magnésio a partir desses ácidos e a hipertrofia da parede do cólon (ROBERFROID, 2000; MUSSATTO; MANCILHA, 2007);
- redução da lipogênese hepática e da concentração de triacilglicerol no plasma e consequentemente; do risco de aterosclerose (BALCAZAR-MUNOZ *et al.*, 2003; LETEXIER *et al.*, 2003);
- alívio da constipação (DEN HOND *et al.*, 2000; IZZO; NINESS, 2001). Os produtos finais da fermentação de carboidratos não digeríveis por bactérias colônicas, os ácidos graxos de cadeia curta, são eficientemente absorvidos e utilizados pelas células epiteliais humanas, estimulando o crescimento destas, assim como a absorção de sal e água; aumentando a umidade do bolo fecal através da pressão osmótica e consequentemente, aumentando a motilidade intestinal (MUSSATTO; MANCILHA, 2007);
- manutenção do índice glicêmico e insulínico no sangue, pois não é hidrolisada aos seus monossacarídeos (IZZO; NINESS, 2001; BALCÁZAR-MUNOZ *et al.*, 2003);
- diminuição no colesterol sérico total (MORTENSEN *et al.*, 2002; BALCÁZAR-MUNOZ *et al.*, 2003). Mudanças na concentração de colesterol sérico têm sido relacionadas com mudanças na microbiota intestinal (MUSSATTO; MANCILHA, 2007). Algumas espécies de *Lactobacillus acidophilus* assimilam o colesterol presente no meio, enquanto outras parecem inibir a absorção do colesterol via parede intestinal (MUSSATTO; MANCILHA, 2007) ou produzir metabólitos que interferem na sua síntese no fígado (GIBSON, 2007). No entanto, a habilidade de prebióticos como a inulina de atuarem na diminuição de colesterol

ainda gera controvérsias (MANNING; GIBSON, 2004) principalmente quando se levam em consideração dados contrastantes obtidos em estudos com humanos (GIBSON, 2007);

- modificação significativa da microbiota colônica. O consumo de inulina resulta em um aumento das bifidobactérias e dos lactobacilos na microbiota colônica humana (GIBSON *et al.*, 1995; ROBERFROID, 2000; BOUHNİK *et al.*, 2007; KOLIDA *et al.*, 2007). Bouhnik *et al.* (2007) fazendo um estudo de quatro semanas de ingestão de inulina encontraram que baixas doses do prebiótico (2,5g duas vezes ao dia) foram bem toleradas e levaram a um aumento significativo da contagem de bifidobactérias nas fezes de voluntários saudáveis;

- diminuição do pH do cólon e inibição de patógenos. Devido à fermentação, há produção de ácidos carboxílicos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato) e ácido láctico, que servem para prover as bactérias benéficas tanto de material quanto de energia para seu crescimento (ROBERFROID, 1999); e diminuem o pH a valores abaixo dos quais os patógenos seriam capazes de competir efetivamente (MANNING; GIBSON, 2004; KIP *et al.*, 2005; GIBSON, 2007). Além disso, algumas espécies de lactobacilos e bifidobactérias são capazes de secretar antibióticos naturais com amplo espectro de atividade (MANNING; GIBSON, 2004; GIBSON, 2007);

- produção de nutrientes, como vitaminas do complexo B (B1, B2, B6 e B12), ácido nicotínico e ácido fólico (MUSSATTO; MANCILHA, 2007; GIBSON, 2007);

- inibição de diarreia. O possível efeito inibitório das bifidobactérias sobre outras bactérias gram-positivas e gram-negativas suporta a teoria de que a inulina, através da estimulação do crescimento destes microorganismos no cólon, atuaria como agente profilático à diarreia associada a antibióticos e no tratamento e redução da duração de diarreias incipientes (GIBSON; WANG, 1994; SHAH, 2007);

- redução do risco de câncer de cólon (POOL-ZOBEL, 2005). O mecanismo pelo qual esse fato ocorreria inclui a redução da exposição a fatores de risco (carcinógenos genotóxicos) ou redução do seu impacto; supressão do crescimento das células tumorais; modulação da expressão gênica; e redução da atividade metastásica das células tumorais (POOL-ZOBEL, 2005).

O impacto do prebiótico sobre a microbiota intestinal existe enquanto o prebiótico é ingerido. Cessada a ingestão, o perfil bacteriano retorna ao padrão que havia antes da ingestão do prebiótico (ROBERFROID, 2005b).

Em 1995 foi estimado que norte-americanos consumissem 1-4 g por dia de inulina pela utilização de alimentos que a contivessem em sua constituição, enquanto que a média para os europeus seria de 3-11g por dia (VAN LOO *et al.*, 1995). Em 2003, a FDA (Food and Drug Administration) reportou que a ingestão de inulina para os americanos seria de 2,6 gramas por dia, principalmente devido ao consumo de trigo e cebola. Para os europeus esse valor seria maior do que 10 gramas ao dia (FDA / CFSAN, 2003). Damião (2007) afirma que no Brasil, provavelmente, o consumo deve equiparar-se aos valores norte-americanos.

#### 2.3.1.2 Determinação analítica

Atualmente, autoridades legais em muitos países confirmam que a inulina pode ser designada no rótulo dos alimentos como fibra alimentar (GIBSON *et al.*, 2004; ROBERFROID, 2005a). Isto se deve ao fato de que a inulina preenche os requisitos necessários para ser considerada como tal, a saber: encontrada na parte comestível de plantas; é um carboidrato, sendo composta por uma mistura de oligossacarídeos ou de oligossacarídeos e polissacarídeos; é resistente à hidrólise pelas enzimas humanas; é resistente à absorção no intestino delgado; e é hidrolisada e/ou fermentada por bactérias no cólon (ROBERFROID, 2005b).

Contudo, devido à sua solubilidade em etanol/água (4/1), os métodos clássicos para análise de fibra alimentar determinam apenas parcialmente a inulina presente (ROBERFROID, 2005a).

Inulina e oligofrutoses podem ser analisadas utilizando o Método de Frutana descrito pela AOAC (Association of Official Analytical Chemistry) número 997.08 e integrado ao Método de Fibra Alimentar Total da AOAC (QUEMENER *et al.*, 1997; HOEBREGS, 1997; SIMONOVSKA, 2000). Este método mede a inulina total mais as oligofrutoses em qualquer produto de origem alimentar, sendo um método bastante específico e reprodutível para ambas as substâncias. O método

envolve o tratamento da amostra com as enzimas amiloglucosidase e inulinase, seguido pela determinação dos açúcares residuais por cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência ou, preferivelmente, cromatografia de troca aniônica de alta eficiência com detector de pulso amperométrico (FRANCK, 2002; ROBERFROID, 2005a).

Existem no mercado kits enzimáticos para determinação de inulina em produtos alimentícios ou vegetais. O princípio baseia-se no fato de que sacarose e maltooligossacarídeos, quando presentes na amostra, são hidrolisados a frutose e glicose usando uma enzima específica sucrase/maltase. Após o ajuste de pH, as amostras são analisadas quanto à glicose + frutose (A) ou tratadas com frutanasase purificada (a qual hidrolisa frutanos a frutose e glicose) e então analisadas quanto à frutose + glicose (B). O conteúdo de frutanos corresponde à diferença entre B e A (MEGAZYME, 2009).

### 2.3.1.3 Toxicidade

Tanto a inulina quanto as oligofrutoses estão presentes na dieta das populações ao redor do mundo (VAN LOO *et al.*, 1995; TUNGLAND, 2000). Essa presença não está em quantidades traços, sendo que vários gramas são ingeridos na dieta normal (COUSSEMENT, 1999).

A literatura não reporta dúvidas quanto à inocuidade dos vegetais contendo inulina. Embora isso não seja garantia de segurança, é confortante que durante séculos ninguém tenha reportado dúvidas quanto à segurança desses vegetais (COUSSEMENT, 1999). Pelo contrário, muitos deles são considerados como promotores da saúde como a chicória e o alho, principalmente para diabéticos.

A inulina, quando administrada na dieta, não resulta em mortalidade, morbidade, toxicidade em órgãos, toxicidade reprodutiva ou desenvolvida ou carcinogenicidade. Muitos estudos *in vitro* também demonstraram ausência de potencial mutagênico ou genotóxico. A única limitação no uso destas fibras está relacionada à tolerância gastrointestinal (CARABIN; FLAMM, 1999).

Testes realizados pela Orafiti indicaram a existência de três categorias de pessoas quanto à ingestão de carboidratos totalmente

fermentescíveis: (1) pessoas não-sensíveis: podem consumir 30 gramas por dia ou mais sem desencadear reações indesejáveis; (2) pessoas sensíveis: podem consumir 10 gramas por dia sem desencadear reações indesejáveis, mas podem apresentá-las com doses superiores a 20 gramas por dia; e (3) pessoas muito sensíveis: podem desencadear reações indesejáveis com doses inferiores a 10 gramas por dia (COUSSEMENT, 1999). A distribuição de pessoas entre as categorias, para alimentos líquidos, é de 71% de não sensíveis, 25% de sensíveis e 4% de muito sensíveis, quando administrada uma dose da amostra (ABSOLONNE *et al.*, 1995 *apud* COUSSEMENT, 1999).

A variabilidade existente entre as pessoas está relacionada à resposta a fermentação dos prebióticos, levando em consideração a estrutura química como o comprimento da cadeia e a composição dos monossacarídeos; assim como a microbiota colônica (CUMMINGS *et al.*, 2001). A concentração de carboidratos não-digeríveis no alimento, a frequência de consumo e o consumo de outros alimentos também podem afetar a resposta dos indivíduos e sua tolerância (LIVESEY, 2001).

A tolerância aos carboidratos não digeríveis aumenta à medida que o grau de polimerização (DP) também aumenta. Em geral, a tolerância por inulinas de alto grau de polimerização (DP > 5, média DP 23) é maior do que a tolerância a inulina nativa (DP entre 2 e 60, média DP 9) (TUNGLAND, 2000).

Gibson (2007) e Kolida e Gibson (2007) afirmam que o principal efeito adverso associado à ingestão de prebióticos é o desconforto intestinal devido à produção de gás. Os autores sugerem que em uma dose racional de 20g/dia, a distensão de gás não deve ocorrer.

A Food and Drug Administration (FDA), em estudo realizado em 2003, concluiu que o consumo regular de 40 a 70 gramas por dia de inulina nativa por adultos saudáveis parece resultar em ausência de efeitos adversos, especialmente quando o consumo é dividido ao longo do dia (FDA / CFSAN, 2003). Esse consumo estimado é reforçado por observações em artigos (TUNGLAND, 2000).

#### 2.3.1.4 Aspectos legais

A inulina é classificada como alimento ou ingrediente alimentar, não como aditivo, em todos os países nos quais é utilizada. Na Europa, é aprovada para uso em alimentos sem limitações, não sendo fixado um valor de ingestão diária aceitável (COUSSEMENT, 1999; TUNGLAND, 2000). Nos Estados Unidos é reconhecida como GRAS (Generally Recognized as Safe), o que se refere a alimentos que possuem elementos chave da segurança alimentar, definidos por especialistas (ROBERFROID, 2000; TUNGLAND, 2000); e pode ser utilizada sem qualquer restrição em todas as categorias de alimentos, a menos que haja um padrão e este não permita o seu uso (TUNGLAND, 2000).

A utilização de inulina e oligofrutoses como ingredientes funcionais foi aprovada no Brasil, sendo permitida a alegação: —a inulina contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis (BRASIL, 2005). Essa alegação pode ser utilizada desde que a porção diária do produto pronto para o consumo forneça no mínimo 3 gramas de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 grama se o alimento for líquido (BRASIL, 2007).

#### 2.3.1.5 Inulina como substituto de gordura

A inulina está disponível na forma de um pó branco, sem odor e de sabor neutro, com pureza alta e composição química conhecida. A inulina convencional é ligeiramente doce (10% em relação à sacarose) enquanto a de alta performance não o é. Pode ser combinada com outros ingredientes sem alterar o sabor dos produtos. É moderadamente solúvel em água (máximo de 10% à temperatura ambiente) e apresenta baixa viscosidade (menos de 2 mPa.s para uma solução a 5% em água). Possui ainda uma capacidade notável de substituir gordura (FRANCK, 2002).

O conhecimento a respeito dos efeitos adversos de um consumo excessivo de gordura é virtualmente universal. Consequentemente, os indivíduos

preocupados com a saúde estão modificando seus hábitos alimentares e consumindo menos gordura (MILLER; GROZIAK, 1996).

Nos EUA, 2/3 da população consome produtos com baixo teor de gordura. Os produtos mais consumidos têm sido os derivados do leite, principalmente queijos, iogurtes e cremes. Dos produtos consumidos, 8% são destinados à manutenção da saúde do consumidor, 80% para reduzir a taxa de colesterol, 73% para reduzir a gordura e 64% para perder peso (ALTSCHUL, 1993).

A gordura do leite tem um importante papel no desenvolvimento de textura, sabor e cor de produtos lácteos (GUVEN *et al.*, 2005). A redução no conteúdo de gordura pode causar alguns defeitos no iogurte como perda de sabor, de consistência ou falta de textura (EL-NAGAR *et al.*, 2002). Além disso, a gordura influencia outras características dos produtos como manuseio, estabilidade e aparência (BRENNAN; TUDORICA, 2007).

Embora a fabricação de iogurtes com baixo teor de gordura seja possível há muitos anos, o uso de substitutos de gordura na fabricação de produtos lácteos é recente (GUVEN *et al.*, 2005). Os substitutos de gordura são utilizados para reduzir o conteúdo de gordura em muitos produtos lácteos como queijos e sorvetes. Mesmo o iogurte, que não contém uma grande quantidade de gordura comparado aos outros produtos lácteos, também tem sido alvo desses substitutos (YAZICI; AKGUN, 2003).

O potencial de substituto de gordura da inulina foi descoberto e patenteado em 1992 pela Orafiti (COUSSEMENT, 1999). Desde então, a inulina vem sendo utilizada como substituto de gordura na indústria láctea e tem mostrado efeitos positivos na reologia e estabilidade dos produtos (EL-NAGAR *et al.*, 2002). Isto se deve ao fato de que a inulina promove na boca uma sensação semelhante à da gordura. Essa característica é resultado de seu maior peso molecular; tornando-a menos solúvel do que as oligofrutoses, e com habilidade de formar microcristais quando misturada à água ou leite. Esses microcristais não são percebidos na boca, mas interagem para formar uma textura finamente cremosa que promove a sensação de gordura (NINESS, 1999; FRANCK, 2002).

Na prática, geralmente cada grama de gordura é substituído por 0,25 grama de inulina. Consequentemente, a substituição da gordura na maioria dos alimentos resultaria em concentrações de 2-6 gramas de inulina por porção (COUSSEMENT, 1999).

Pagliari e Beatrice (1994) notaram que a adição de inulina em queijos tipo mussarela de baixo teor de gordura melhorou as propriedades sensoriais, enquanto Spiegel *et al.* (1994) reportaram que iogurtes de baixo teor de gordura acrescidos de inulina tinham melhor textura e sabor. Observando o efeito da inulina na qualidade de iogurtes, Guven *et al.* (2005) conseguiram um produto similar ao controle com adição de 1% de inulina, sendo que a substituição não influenciou as características físicas e sensoriais.

A aceitação de qualquer produto alimentício pelo consumidor depende do sabor. Ainda que os consumidores queiram alimentos com uma quantidade mínima de gordura ou até alimentos sem gordura ou calorias, eles também querem alimentos que tenham sabor (CASTELLUCCI; SAMPAIO, 2002). Aparentemente a inulina contribui para uma melhoria no sabor, especialmente em produtos lácteos de baixo teor de gordura. Além disso, suas propriedades prebióticas podem contribuir para uma melhoria da saúde e aliado a outros possíveis benefícios, parece atrativo usar esse ingrediente no desenvolvimento de iogurtes com baixo teor de gordura (KIP *et al.*, 2005).

## 2.4 SIMBIÓTICOS

O potencial de sinergia entre probióticos e prebióticos desencadeou o desenvolvimento de alimentos contendo combinações desses ingredientes (CRITTENDEN *et al.*, 2001). Esses produtos são chamados de simbióticos (ROBERFROID *et al.*, 1998; LIONG; SHAH, 2005).

Os simbióticos promovem o crescimento de bactérias benéficas já existentes no cólon, assim como aumentam a sobrevivência, implantação e crescimento das bactérias que estão sendo adicionadas com o produto (LIONG; SHAH, 2005). Este último fato decorre da presença do substrato específico para o probiótico estar disponível para a fermentação (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

## 2.5 IOGURTE

A partir do leite, a indústria de laticínios fabrica os produtos lácteos fermentados, adicionados ou não de probióticos e/ou prebióticos, que têm ocupado a maior atenção por parte dos pesquisadores e da indústria de laticínios.

No começo do século XX, o bacteriologista russo Eli Metchnikoff (Instituto Pasteur, França), foi o primeiro a dar uma explicação científica para os efeitos benéficos das bactérias lácticas presentes em leites fermentados (SHAH, 2007). Ele associou a saúde e a longevidade dos búlgaros com o alto consumo de leites fermentados. Sua teoria, denominada —Teoria da Longevidadell, tinha como princípio a ação inibitória das bactérias lácticas sobre as bactérias produtoras de toxina normalmente presentes no intestino, resultando em um aumento no tempo de vida da população (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001).

Metchnikoff se dedicou ao estudo de uma só linhagem, *Bulgarian bacillus*, que por muito tempo foi considerada o que hoje se conhece por *Lactobacillus bulgaricus*. Posteriormente, verificou-se que o *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* deveria ser o microorganismo contido naqueles produtos (TAMIME, 2002a).

Embora existam substâncias fisiologicamente ativas no próprio leite, o efeito promotor de saúde dos produtos lácteos fermentados se deve à atividade biológica de bactérias usadas na fabricação desses produtos ou de seus metabólitos, produzidos no processo fermentativo. Produtos lácteos adicionados de culturas selecionadas, como leite fermentado, kefir e especialmente os iogurtes, têm se tornado o foco de interesse em relação às propriedades funcionais.

Acredita-se que o iogurte originou-se no Oriente Médio. Inicialmente, era elaborado com leite de cabra, ovelha, búfala e camela; animais que acompanhavam as tribos nômades. A maneira empírica de preparação aperfeiçoou-se intuitivamente com o aquecimento do leite, melhores condições higiênicas do material usado e do material inoculado (TAMIME, 2002a).

Até 1950 a produção e/ou o consumo de iogurte permaneceu restrito às regiões do Oriente Médio, penínsulas Balcãs, Índia, Mediterrâneo, grupos étnicos vivendo em diferentes partes do mundo e àqueles que percebiam que o produto fazia bem à saúde (TAMIME, 2002a).

No entanto, essa situação começou a mudar principalmente devido: (a) a refrigeração passou a ser utilizada amplamente fazendo com que o iogurte fosse distribuído e disponibilizado no mercado; (b) a introdução de novos tipos de iogurtes (adição de açúcar e frutas) dando ao produto uma imagem de fresco e; (c) a incorporação de bactérias probióticas ao produto, melhorando os seus benefícios à saúde (TAMIME, 2002a).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define iogurte como o produto resultante da fermentação do leite (em natureza ou reconstituído) pasteurizado ou esterilizado, adicionado ou não de outros produtos de origem láctea, bem como de outras substâncias alimentícias recomendadas pela tecnologia atual de fabricação, por cultivos protosimbióticos de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* viáveis, ativos e abundantes no produto final e durante seu prazo de validade, aos quais podem-se acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade, contribuem para determinação das características do produto final (BRASIL, 2000).

O iogurte pode ser classificado em diferentes categorias baseado em: (a) características físicas do gel, (b) composição química; e (c) ingredientes saborizantes (TAMIME, 2002a).

De acordo com a tecnologia de fabricação e características físicas do gel, Kardel e Antunes (1997); Spreer e Mixa (1998) e Abreu (2000) citam três tipos de iogurte:

- iogurte tradicional (set yogurt): também denominado de iogurte firme, caracteriza-se pela fermentação já dentro da embalagem. Como ele não sofre homogeneização após sua fermentação, se apresenta na forma de uma coalhada firme e mais ou menos consistente. Esse tipo de iogurte pode ser comercializado na sua forma natural (sem a adição de açúcar e saborizantes); na forma aromatizada (normalmente com adição de açúcar, saborizantes, aromas e corantes); ou tipo sundae (uma camada de polpa de fruta, mel, etc, no fundo da embalagem, ficando o iogurte sobre esta);
- iogurte batido (stirred yogurt): ao contrário do anterior, o leite é colocado em um tanque (com ou sem a adição de açúcar, aromatizantes, saborizantes, corantes) e; depois de completa a fermentação, o iogurte é batido e

posteriormente embalado. O produto é re-solidificado a uma textura semi-sólida através da utilização de agentes espessantes;

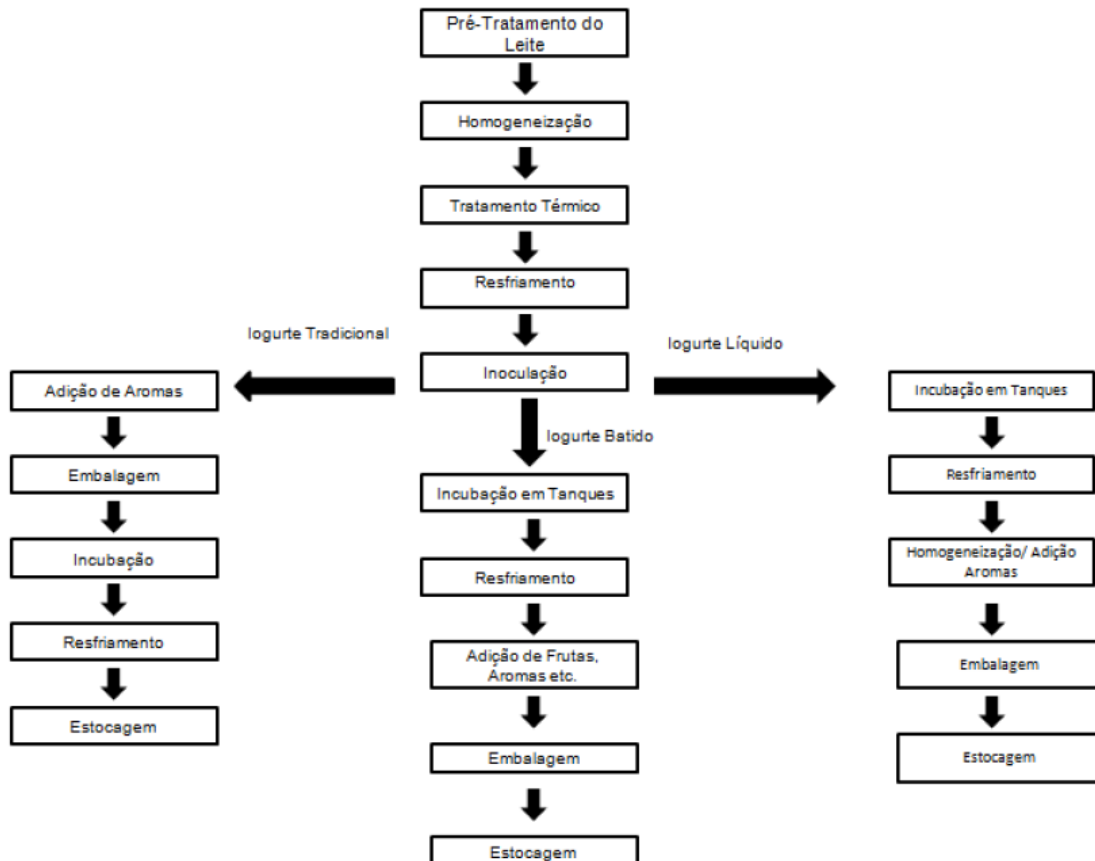
- iogurte líquido (fluid yogurt): também conhecido como —iogurte para beberll, podendo ser consumido de forma natural ou adicionado de açúcar, aromatizantes, saborizantes e corantes. O produto é, homogeneizado e transformado na forma líquida antes do preenchimento da embalagem. Não contém espessantes, mas contém estabilizantes. Normalmente é comercializado em embalagens plásticas tipo garrafa e embalagens tipo —longa vidall.

De acordo com a composição química originam-se os iogurtes com creme (matéria gorda mínima de 6%), integral (matéria gorda mínima de 3%), parcialmente desnatado (matéria gorda máxima de 2,9%) e desnatado (matéria gorda máxima de 0,5%); e de acordo com os ingredientes saborizantes aqueles de sabor natural, adicionados de frutas ou aromatizados (BRASIL, 2000; TAMIME, 2002a).

Ultimamente o mercado do iogurte está fragmentado, com estratégias de vendas enfocadas sobre o conteúdo calórico, a quantidade de gordura reduzida, a maior capacidade de conservação, a fabricação sem aditivos, efeitos benéficos à saúde relacionados às bactérias viáveis e os iogurtes destinados ao público infantil (EARLY, 1998).

### 2.5.1 Processo de Fabricação

A figura 2 descreve a sequência de fabricação geral de iogurtes, segundo Spreer e Mixa (1998) e Kardel e Antunes (1997).



**Figura 2** – Fluxograma geral de fabricação de iogurte (KARDEL; ANTUNES, 1997; SPREER; MIXA, 1998)

Os principais ingredientes do iogurte procedem diretamente do leite e seus derivados lácteos. Os que se utilizam com mais frequência são: leite integral; leite desnatado; leite concentrado desnatado; leite em pó desnatado; nata e concentrados de proteínas lácteas (EARLY, 1998).

### 2.5.1.1 Padronização

Os conteúdos de gordura e de extrato seco desengordurado são ajustados a fim de cumprir a legislação de cada país. Para o aumento do extrato seco desengordurado costuma-se adicionar leite em pó desnatado (TAMIME, 2002a). O estabelecimento de valores mínimos tem como objetivo proteger os

consumidores, garantindo a manutenção do extrato seco desengordurado semelhante aos valores encontrados no leite (TAMIME; ROBINSON, 1991).

Do ponto de vista dos fabricantes, as propriedades físicas do iogurte, como a consistência do coágulo, são de grande importância e, geralmente, quanto maior o conteúdo do extrato seco desengordurado, maior a consistência e viscosidade do produto final (TAMIME; ROBINSON, 1991). Além disso, o aumento do extrato seco desengordurado diminui a tendência a sinérese e reduz ligeiramente a produção de ácido durante a fermentação, obtendo-se um produto menos ácido, o que atualmente tem melhor aceitação pelos consumidores (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

#### 2.5.1.2 Homogeneização

A homogeneização afeta a fase lipídica do leite, que não participa diretamente da formação do coágulo do iogurte. No entanto, a redução do tamanho e o aumento dos glóbulos de gordura como consequência da homogeneização, modifica o gel que se forma depois. Em primeiro lugar, a adsorção dos pequenos glóbulos de gordura sobre as micelas de caseína aumenta a viscosidade e o volume total efetivo da matéria em suspensão. Em segundo lugar, há diminuição da sinérese devido ao aumento do caráter hidrofílico das micelas de caseína, resultado das interações proteína-proteína e caseína-membrana do glóbulo de gordura. Há ainda um efeito adicional que se produz como consequência da desnaturação de algumas proteínas (VARNAM; SUTHERLAND, 1994; TAMIME, 2002a).

A homogeneização não é uma prática obrigatória e exige equipamento relativamente caro, sendo utilizada quase que exclusivamente em indústrias com grandes produções (ABREU, 2000). Com a homogeneização promove-se a dispersão homogênea dos constituintes e melhora-se o sabor, a consistência, a apresentação e a digestibilidade do iogurte (ABREU, 2000).

Normalmente a homogeneização é efetuada em duas fases, a pressões na ordem de 15 MPa na primeira e de 4 MPa na segunda fase. Para que toda a gordura se encontre no estado líquido a homogeneização se realiza a temperaturas superiores a 50°C, normalmente sendo utilizadas temperaturas

próximas a 65°C (EARLY, 1998). Embora a homogeneização aconteça na primeira fase, a segunda fase tem duas funções básicas: melhora a eficiência do processo e previne a aglutinação dos glóbulos de gordura que possa ocorrer após a primeira fase (CHANDAN; O'RELL, 2006).

#### 2.5.1.3 Tratamento térmico

Os objetivos desta etapa são: eliminar formas vegetativas de microorganismos patogênicos; destruir ou reduzir até um número aceitável os microorganismos deteriorantes; reduzir a população microbiana total para que não interfira no desenvolvimento das bactérias lácticas usadas como —lácticasll; desnaturar as proteínas do soro para melhorar a textura do produto final e para ajudar a evitar a separação do soro durante a conservação do iogurte; e hidratar os estabilizantes que se dissolvem sob calor (EARLY, 1998; TAMIME, 2002a).

Diferentes temperaturas são utilizadas para o tratamento térmico durante a fabricação do iogurte, e podem variar dependendo da combinação tempo e temperatura. Alguns exemplos são: 85°C por 30 minutos, 90-95°C por 5 minutos; e 105°C por 10 segundos. O tratamento térmico induz mudanças físicas e químicas complexas e multifatoriais (TAMIME, 2002a).

#### 2.5.1.4 Diminuição da temperatura

Uma vez que o leite tenha recebido tratamento térmico é necessário esfriá-lo até uma temperatura adequada para realizar a inoculação (42-43°C). Na fabricação de iogurte tradicional esta etapa se torna bastante importante, pois é necessário que o leite esteja a uma temperatura adequada quando se inoculam as bactérias lácticas. Uma temperatura demasiadamente alta pode inibir ou até destruir os microorganismos da cultura láctica; se a temperatura estiver muito baixa o tempo de fermentação se prolonga desnecessariamente (EARLY, 1998).

### 2.5.1.5 Inoculação das culturas lácticas

Após o leite ser resfriado (42-43°C), adiciona-se de 1% a 2% da cultura láctica previamente pesada. Após a adição homogeneiza-se por cerca de 2 minutos para que os microorganismos se distribuam uniformemente no leite (EARLY, 1998).

Nas produções em grande escala costuma-se utilizar a inoculação direta na cuba de fermentação. Os cultivos são adquiridos como suspensões superconcentradas congeladas ou liofilizadas (VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

### 2.5.1.6 Fermentação

Em iogurtes tradicionais a fermentação se desenvolve na própria embalagem. As temperaturas de incubação dependem dos microorganismos que compõem o cultivo e do tempo de fermentação previsto (EARLY, 1998).

#### 2.5.1.6.1 Culturas lácticas

As funções das culturas lácticas nas fermentações lácticas são: auxiliar na preservação do leite pela geração de ácido láctico e em alguns casos compostos antimicrobianos; produzir compostos de sabor e outros metabólitos que resultarão em um produto com características sensoriais desejadas pelo consumidor; melhorar o valor nutricional com a liberação de aminoácidos livres ou síntese de vitamina B; desenvolver a textura do produto através da produção de ácido láctico e, os benefícios à saúde devido à presença, no ato do consumo, de células bacterianas viáveis benéficas (TAMIME, 2002b).

Os tipos de microorganismos normalmente utilizados são os *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp.

*thermophilus*, os quais se desenvolvem no iogurte em simbiose (ISLETEN; KARAGUL-YUCEER, 2006).

*Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* produz ácido láctico, que reduz o pH para um pH ótimo de crescimento de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (LOURENS-HATTINGH; VILJEON, 2001). O *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, em retorno, libera aminoácidos e peptídeos da proteína do leite, estimulando o crescimento de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (ZOURARI *et al.*, 1992; VARNAM; SUTHERLAND, 1994). O crescimento de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* é ainda estimulado pelo ácido fórmico ou dióxido de carbono liberado durante o crescimento de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (ZOURARI *et al.*, 1992; VARNAM; SUTHERLAND, 1994).

Esta simbiose, entretanto, exige no cultivo uma determinada proporção entre cocos e bacilos. Segundo Kroger (1976) e Spreer e Mixa (1998), a relação quantitativa entre os dois microorganismos deve ser de 1:1.

No entanto, para superar problemas de pós-acidificação em produtos lácteos fermentados durante a estocagem, tem-se utilizado culturas com menor concentração de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, ou até mesmo sem esse microrganismo, como a cultura comercial ABT (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*) (KAILASAPATHY; PHILLIPS, 2008)

O *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* é capaz de fermentar glicose, galactose e lactose produzindo ácido, mas usualmente não fermenta a sacarose, maltose e frutose; enquanto que o *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* produz ácido, fermentando glicose, lactose e sacarose (ZOURARI *et al.*, 1992).

A temperatura ótima de crescimento para os microorganismos do iogurte situa-se entre 42-43°C (RASIC; KURMANN, 1978). Segundo Spreer e Mixa (1998), em tal faixa de temperatura, os tempos de geração dos microorganismos utilizados são similares. Em temperaturas superiores (45°C) ocorre predominância de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, enquanto que em temperaturas inferiores (37°C) o crescimento de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* é favorecido.

Os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, da Resolução N° 5, de 13 de novembro de 2000, estabelecem que em

iogurtes a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup> no produto final, durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2000).

#### 2.5.1.7 Resfriamento

O coágulo começa a ser resfriado a partir do momento em que se alcança a acidez desejada. O grau de acidificação depende do tipo de iogurte que se está elaborando, do método de resfriamento e da acidez que se deseja para o produto final. Geralmente nesse momento o iogurte tem entre pH 4,5-4,6 (EARLY, 1998). Uma temperatura de 15-20°C deve ser alcançada dentro de uma hora a uma hora e meia (SPREER; MIXA, 1998).

Para evitar o choque térmico que provocaria um encolhimento da massa, e conseqüentemente, o dessoramento, recomenda-se fazer o resfriamento em duas etapas (TAMIME; ROBINSON, 1991; EARLY, 1998; ABREU, 2000):

- 1ª etapa – consiste em abaixar a temperatura a 18-20°C. Isso pode ser feito com água à temperatura ambiente ou utilizando trocadores de calor de placas ou tubulares. Com isso, haverá uma forte diminuição da multiplicação da cultura láctica e da produção de ácido.

- 2ª etapa – faz-se o resfriamento abaixo de 10°C.

Para o iogurte batido ocorre então a quebra do gel, devendo-se considerar dois pontos básicos: homogeneizar satisfatoriamente o coágulo, eliminando a presença de pedaços ou grandes flocos; e diminuir a viscosidade ao mínimo possível (ABREU, 2000).

#### 2.5.1.8 Envase e armazenamento refrigerado

No caso de iogurte batido, incuba-se em um tanque e envasa-se posteriormente. Nesse caso, o iogurte deve ser envasado depois de resfriado e mantido sob refrigeração por mais de 24 horas antes de ser comercializado a fim de que haja uma completa maturação, evitando defeitos de textura do produto (ABREU,

2000). Os iogurtes devem manter-se em condições de refrigeração até o momento do consumo (EARLY, 1998).

As variações de temperatura durante o período de conservação podem produzir modificações na textura e na viscosidade, originando separação do soro e favorecendo o desenvolvimento de microorganismos deteriorantes. Além disso, a exposição a temperaturas mais altas do que as recomendadas acelera reações bioquímicas como a oxidação de gorduras; aumenta a hidratação das proteínas contidas no iogurte; produz a desidratação da superfície do produto; e modifica a cor das frutas (EARLY, 1998).

A temperatura deve manter-se durante todo o período de conservação entre 2 e 5 °C e nunca deve ultrapassar 10 °C nas etapas intermediárias das cadeias de distribuição (EARLY, 1998).

## 2.6 TEXTURA

A textura é definida como a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e de superfície dos alimentos, detectada pelos sentidos da visão, audição, tato e cinestesia (SZCZESNIAK, 2002).

De acordo com Szczesniak (2002), essa definição apresenta importantes conceitos como:

- a textura é uma propriedade sensorial e, portanto, apenas humanos (ou animais no caso de alimentos destinados a eles) podem percebê-la e descrevê-la. Os instrumentos utilizados para a medida de textura podem detectar e quantificar apenas alguns parâmetros físicos, que podem ser interpretados em termos da percepção sensorial;

- é um atributo multiparamétrico;
- é derivada da estrutura dos alimentos (molecular, microscópica ou macroscópica);
- é detectada por vários sentidos.

Como a textura é um atributo multiparamétrico, portanto, sendo evidenciada por uma quantidade grande de palavras para descrevê-la, é lógico

tentar introduzir ordem e classificar esses termos em categorias (SZCZESNIAK, 2002).

As propriedades que caracterizam a textura são classificadas em três categorias: atributos mecânicos, geométricos e outras características. Os atributos mecânicos dão indicação do comportamento mecânico dos alimentos antes da deformação e, por sua vez, se dividem em primários e secundários. Os primários estão correlacionados com uma propriedade mecânica tal como a força, deformação e energia; os secundários resultam da combinação das propriedades primárias (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; ANZÁLDUA-MORALES, 1994).

As definições sensoriais e físicas correspondentes a cada parâmetro mecânico estão dispostas no quadro 3, de acordo com Civille e Szczesniak (1973).

Parâmetros Mecânicos	Sensorial	Física
Dureza <sup>1</sup>	Força requerida para compressão entre os dentes molares (para sólidos) ou entre a língua e o palato (para semi-sólidos)	Força necessária para produzir uma certa deformação
Coesividade <sup>1</sup>	Grau com qual uma substância é comprimida entre os dentes antes de romper	Extensão em que um material pode ser deformado antes da ruptura
Elasticidade <sup>1</sup>	Grau com qual um produto volta a sua forma original, depois da compressão com os dentes	Velocidade na qual um material volta à condição não deformada, depois que a força de deformação é removida
Adesividade <sup>1</sup>	Força requerida para remover o material que adere à boca (palato) durante o processo normal de comer	Trabalho necessário para superar forças atrativas entre as superfícies do alimento e a superfície de outros materiais com os quais este está em contato
Fraturabilidade <sup>2</sup>	Força com qual uma amostra esmigalha, racha ou quebra em pedaços	Força pela qual o material fratura
Gomosidade <sup>2</sup>	Energia requerida para desintegrar uma amostra semi-sólida à consistência adequada para a deglutição	Energia para desintegrar alimentos semi-sólidos até deglutição
Mastigabilidade <sup>2</sup>	Tempo requerido para mastigar a amostra sólida em uma taxa constante de aplicação de força, para reduzi-la a uma consistência adequada para a deglutição	Energia para mastigar alimentos sólidos até deglutição

<sup>1</sup>atributos primários, <sup>2</sup>atributos secundários

**Quadro 3** – Definições sensoriais e físicas correspondentes a cada parâmetro mecânico (dureza, coesividade, elasticidade, adesividade, fraturabilidade, gomosidade e mastigabilidade)

**Fonte:** Civille e Szczesniak (1973)

Os atributos geométricos são aqueles relacionados com o tamanho, a forma e a orientação das partículas do alimento. As características geométricas foram divididas em dois grupos: (1) aquelas relacionadas com o tamanho e forma das partículas e (2) aquelas relacionadas com a forma e orientação das partículas (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973; ANZÁLDUA-MORALES, 1994).

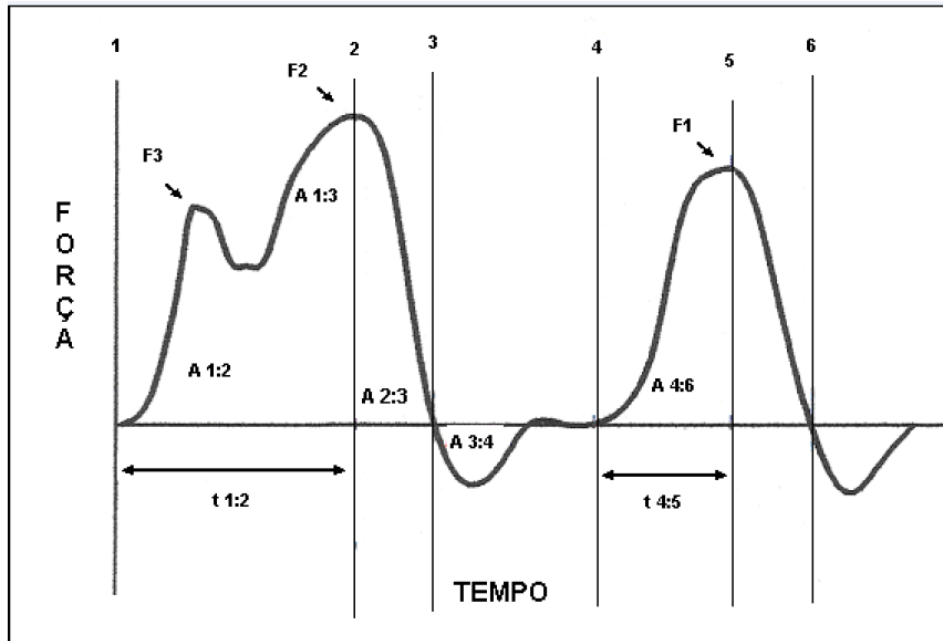
As outras características estão relacionadas com a percepção de umidade e conteúdo de gordura dos alimentos (SZCZESNIAK, 1963).

A classificação dos termos relacionados à textura gerou um método de descrição de textura, a Análise de Perfil de Textura (TPA), aplicado tanto na medida sensorial quanto na instrumental (SZCZESNIAK, 2002). A terminologia de classificação de textura pretendia alcançar tanto o aspecto sensorial quanto o instrumental acreditando que se ambos utilizassem as mesmas terminologias e definições, a correlação entre os métodos seria facilitada (SZCZESNIAK, 1975).

A análise sensorial por perfil de textura consiste em uma descrição detalhada e medição de todos os componentes da textura de um alimento, segundo a ordem de aparição durante o consumo do produto (BRANDT *et al.*, 1963; CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973). A ordem das fases inclui: (1) primeira mordida ou fase inicial, a qual inclui as características mecânicas de dureza, fraturabilidade, e qualquer outra característica geométrica observada inicialmente; (2) fase mastigatória, a qual inclui as características mecânicas de gomosidade, mastigabilidade, adesividade e qualquer outra característica geométrica observada durante a mastigação e (3) fase residual, a qual inclui absorção de umidade e cobertura do produto na boca (CIVILLE; SZCZESNIAK, 1973).

O método instrumental foi primeiramente conduzido com o texturômetro General Foods (FRIEDMAN *et al.*, 1963) e posteriormente foi adaptado para o —Instron Universal Test Machinell (BOURNE, 1968). Um dos equipamentos mais modernos para a medição de textura dos alimentos é o texturômetro TA-XT2i. Este equipamento foi desenhado especialmente para alimentos, tem controles eletrônicos muito precisos, sua sensibilidade é alta e é muito versátil (ANZÁLDUA-MORALES, 1994).

O método instrumental envolve o teste de dupla compressão da substância e quantifica os parâmetros mecânicos a partir das curvas força/deformação (figura 3) geradas pelo teste (SZCZESNIAK, 2002).



**Figura 3** – Curva típica de perfil de textura obtida no Texturômetro TAXT2i

A partir dos dados da curva gerada, os seguintes parâmetros de textura podem ser obtidos (STABLEMICROSYSTEMS, 2007):

- dureza: é a força necessária para produzir uma certa deformação (F2);
- coesividade: é a quantidade de força para simular a das ligações internas que compõem o corpo da amostra ( $A_{4:6} / A_{1:3}$ );
- elasticidade: é a velocidade na qual uma amostra volta à condição não deformada depois que a força de deformação for removida ( $t_{4:5} / t_{1:2}$ );
- adesividade: é a quantidade de trabalho para simular aquele necessário para superar as forças atrativas entre a superfície da amostra e a superfície do sensor (—probell) com o qual a amostra entra em contato ( $A_{3:4}$ );
- fraturabilidade: é a força na qual o material fratura (F3);
- gomosidade: é a quantidade de energia para simular aquela requerida para desintegrar uma amostra semi-sólida até o estado de deglutição ( $F_2 \times$  coesividade);
- mastigabilidade: é a quantidade de energia requerida para simular aquela de mastigar uma amostra sólida até o estado de deglutição ( $F_2 \times$  coesividade  $\times$  elasticidade).

Segundo Ares *et al.* (2007), a textura do iogurte é uma das características mais importantes para definir a qualidade do iogurte, pois afeta a sua aparência, o sabor e a aceitabilidade geral.

Segundo Samarzija *et al.* (2001), a textura do iogurte se deve a formação de um gel irreversível como consequência de várias ações, entre elas, a formação de ácido láctico pelas bactérias da cultura láctica, o aumento gradual da acidez com consequente desestabilização da micela da caseína em pH 4,6-4,7 e a interação entre a  $\beta$ -lactoglobulina com a k-caseína protegendo a micela de caseína de uma completa desestabilização e desagregação. Para Varnam e Sutherland (1994), a produção de exopolissacarídeos pelos microorganismos da cultura láctica e/ou probiótica também desempenha um importante papel na viscosidade e textura destes produtos.

De acordo com Kroger (1976), um iogurte de boa qualidade deve possuir uma textura fina e lisa que retenha água sem ocorrer sinérese. Para Vedamuthu (1991) a textura do iogurte deve ser suave, livre de grumos ou grânulos, bem como, apresentar-se sem fissuras.

Diversos fatores podem afetar a textura do iogurte. Entre eles, estão: a composição do leite; o tratamento térmico; a adição de leite em pó; as gorduras do leite quando homogeneizadas; a presença de estabilizantes; a cultura bacteriana utilizada; a temperatura de incubação; o pH final e a temperatura de estocagem (RASIC; KURMANN, 1978; ARES *et al.*, 2007).

Haully, Fuchs e Prudêncio-Ferreira (2005) avaliando a suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos, observaram um aumento na coesividade e adesividade do produto, uma diminuição na firmeza; e valores iguais de elasticidade e gomosidade comparando iogurtes suplementados com iogurtes controle.

Brennan e Tudorica (2007) reportaram que os iogurtes de baixo teor de gordura não tiveram diferença significativa quanto à firmeza quando comparados ao iogurte com teor normal de gordura.

## 2.7 ANÁLISE SENSORIAL

Análise sensorial foi definida como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais que possam ser percebidas pelo sentido da visão, olfato, tato, sabor e audição, utilizando conhecimentos de Ciência de Alimentos, Fisiologia, Psicologia e Estatística (STONE; SIDEL, 1993). Entre as aplicações mais frequentes da análise sensorial encontram-se: controle das etapas de desenvolvimento de um novo produto; avaliação do efeito de alterações nas matérias-primas ou no processamento tecnológico sobre o produto final; seleção de nova fonte de suprimento; controle de efeito da embalagem sobre os produtos acabados; controle de qualidade; estabilidade durante o armazenamento (—vida de prateleira); graduação ou avaliação do nível de qualidade do produto; e teste de mercado de um novo produto ou produto reformulado (DUTCOSKY, 2007).

Existe um número grande de métodos sensoriais empregados atualmente e novos métodos continuam sendo desenvolvidos. Em geral, os métodos são divididos em categorias, como segue (MEILGAARD *et al.*, 1998; HEYMANN; LAWLESS, 1999):

1. Discriminativos: métodos que estabelecem diferenciação qualitativa e/ou quantitativa entre as amostras. Ex: testes de diferença (comparação pareada, duo trio, triangular etc) e testes de sensibilidade (limites, estímulos constantes e diluição);

2. Descritivos: métodos que descrevem qualitativa e quantitativamente as amostras. Ex: avaliação de atributos; perfil de sabor; perfil de textura; análise descritiva quantitativa (ADQ) etc;

3. Afetivos: avaliam a resposta dos indivíduos com relação à preferência e/ou aceitação de um produto ou características específicas do produto; através de consumidores habituais ou potenciais do mesmo. Ex: comparação pareada, ordenação, escala hedônica e escala de atitude.

### 2.7.1 Testes Afetivos

A análise de aceitação é de extrema importância, por refletir o grau em que os consumidores gostam ou desgostam de determinado produto. Pode ser realizada em laboratório de Análise Sensorial, por uma equipe formada por um número de 25 a 50 pessoas, que sejam representativas do público que se deseja atingir (STONE; SIDEL, 1993).

De todas as escalas e métodos testados, a escala hedônica de nove pontos ocupa um nicho em termos de aplicabilidade para medir a preferência e a aceitação de um produto. A escala foi desenvolvida e descrita em detalhes por Jones *et al.* (1955), como parte de um grande esforço para avaliar a aceitabilidade de refeições militares.

A escala hedônica é facilmente entendida por consumidores com o mínimo de instrução. Os resultados têm provado que esta escala é notavelmente estável e as diferenças são reproduzidas com diferentes grupos (STONE; SIDEL, 1993).

### 2.7.2 Análise Descritiva Quantitativa

O método de Análise Descritiva Quantitativa foi descrito em detalhes por seus idealizadores (STONE *et al.*, 1974) e avalia a qualidade sensorial geral de um produto (JAWORSKA *et al.*, 2005). A ADQ descreve todas as sensações percebidas quando se faz a avaliação de uma amostra do produto. Cada uma das propriedades sensoriais, como aparência, aroma, textura e sabor é avaliada usando uma série de descritores, que são medidos quantitativamente usando uma escala apropriada (STONE *et al.*, 1974; JAWORSKA *et al.*, 2005).

As vantagens da análise descritiva quantitativa sobre os outros métodos de avaliação consistem na confiança no julgamento de uma equipe composta por 10 a 12 julgadores treinados; no desenvolvimento de uma linguagem descritiva objetiva, mais próxima à linguagem do consumidor; no desenvolvimento consensual da terminologia descritiva a ser utilizada; o que implica em maior

concordância de julgamentos entre provadores; e no fato de que na ADQ os produtos são analisados com repetições por todos os julgadores e os resultados são estatisticamente analisados (STONE; SIDEL, 1993).

A análise de variância (ANOVA) é o método estatístico mais apropriado para avaliar as respostas obtidas na ADQ e coeficientes de correlação são utilizados para determinar relações entre as várias escalas de medida (STONE; SIDEL, 1993). Frequentemente utiliza-se o diagrama aranha para representar os resultados graficamente (STONE; SIDEL, 1993).

Uma outra forma de avaliar os resultados é a técnica multivariada de Análise de Componentes Principais (ACP), que permite análise global dos resultados, mostrando as relações existentes entre as amostras e evidenciando os atributos que melhor caracterizam cada uma delas (JAWORSKA *et al.*, 2005). A ACP é uma técnica de análise multivariada que descreve as relações entre múltiplas variáveis, conseguidas através da redução do espaço das variáveis por combinações lineares das variáveis originais (JAWORSKA *et al.*, 2005).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Elaborar e caracterizar física, química, microbiológica e sensorialmente iogurte natural probiótico de baixo teor de gordura adicionado de inulina.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Medir o efeito da adição de inulina e/ou probiótico e do teor de gordura na composição química, pH, acidez titulável, sinérese, perfil de textura, cor medida por colorímetro e contagem dos microorganismos das culturas lática e probiótica.
- Medir o efeito da estocagem a 4°C por 28 dias nos valores de pH, acidez titulável, sinérese, perfil de textura, teor de lactose, teor de inulina e contagem dos microorganismos das culturas lática e probiótica.
- Descrever as propriedades sensoriais dos iogurtes por meio de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ).
- Medir por teste afetivo a aceitação de iogurte com adição de inulina e/ou probiótico.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios de pesquisa do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- UEL, localizados no município de Londrina-PR.

### 4.1 MATERIAL

#### 4.1.1 Matéria-prima

- Leite

Para a preparação da cultura lática utilizou-se leite UHT Parmalat (Parmalat) integral.

Para a fabricação dos iogurtes utilizou-se leite em pó integral Ninho (Nestlé) ou desnatado Molico (Nestlé). A composição química, conforme dados da embalagem, dos leites utilizados se encontra no Anexo A.

- Inulina

Na preparação dos iogurtes adicionados de inulina utilizou-se inulina Raftiline HP, extraída da raiz de chicória, proveniente da empresa Orafti. A inulina foi gentilmente cedida pela empresa Clariant. As informações técnicas do produto são apresentadas no Anexo B

#### 4.1.2 Cultura Láctica

A cultura láctica utilizada foi uma cultura termofílica, liofilizada, de cepas mistas que contém *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. A cultura láctica foi gentilmente cedida pela empresa Chr. Hansen sob a denominação comercial FD DVS YC-X11. Segundo o fabricante, a cultura pode ser utilizada na elaboração de iogurtes com um corpo de alta viscosidade e firmeza do gel; sabor muito suave; com uma pós-acidificação mínima.

A temperatura recomendada de incubação é de 35-45°C. As informações técnicas do produto são apresentadas no Anexo C.

#### 4.1.3 Cultura Probiótica

A cultura probiótica utilizada foi uma cultura mesofílica, liofilizada, de cepa pura contendo *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*. A cultura probiótica foi gentilmente cedida pela empresa Chr. Hansen sob a denominação comercial FD DVS *L. casei*-01. Segundo o fabricante, a cultura pode ser utilizada na elaboração de iogurtes com aroma suavemente ácido e com baixa viscosidade; sendo geralmente associada com outras culturas. *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* pertence ao grupo *L. casei*. As informações técnicas do produto são apresentadas no Anexo D.

### 4.2 MÉTODOS

Foram preparadas cinco formulações de iogurtes, conforme segue:

- formulação 1: iogurte formulado com leite em pó integral;
- formulação 2: iogurte formulado com leite em pó desnatado;
- formulação 3: iogurte formulado com leite em pó desnatado adicionado de 20 g/L de inulina;

- formulação 4: iogurte formulado com leite em pó desnatado adicionado de 0,1 g/L de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*;
- formulação 5: iogurte formulado com leite em pó desnatado adicionado de 20 g/L de inulina e 0,1 g/L de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

#### 4.2.1 Preparação da Cultura Láctica

A cultura láctica foi preparada seguindo as instruções do fabricante para casos de utilização em volumes de leite inferiores aos recomendados nos envelopes. Leite UHT foi colocado em erlenmeyer e autoclavado à temperatura de 121°C por 15 minutos. Depois de resfriado (8-10°C), foi adicionado da cultura láctica (1 envelope de 50 U para 1 litro de leite), homogeneizado por 10-15 minutos e distribuído em recipientes de 50 mL, sendo que cada recipiente teria cultura láctica suficiente para ser utilizada em 25 litros de leite. Os recipientes foram, então, congelados a -18°C.

#### 4.2.2 Preparação dos Iogurtes

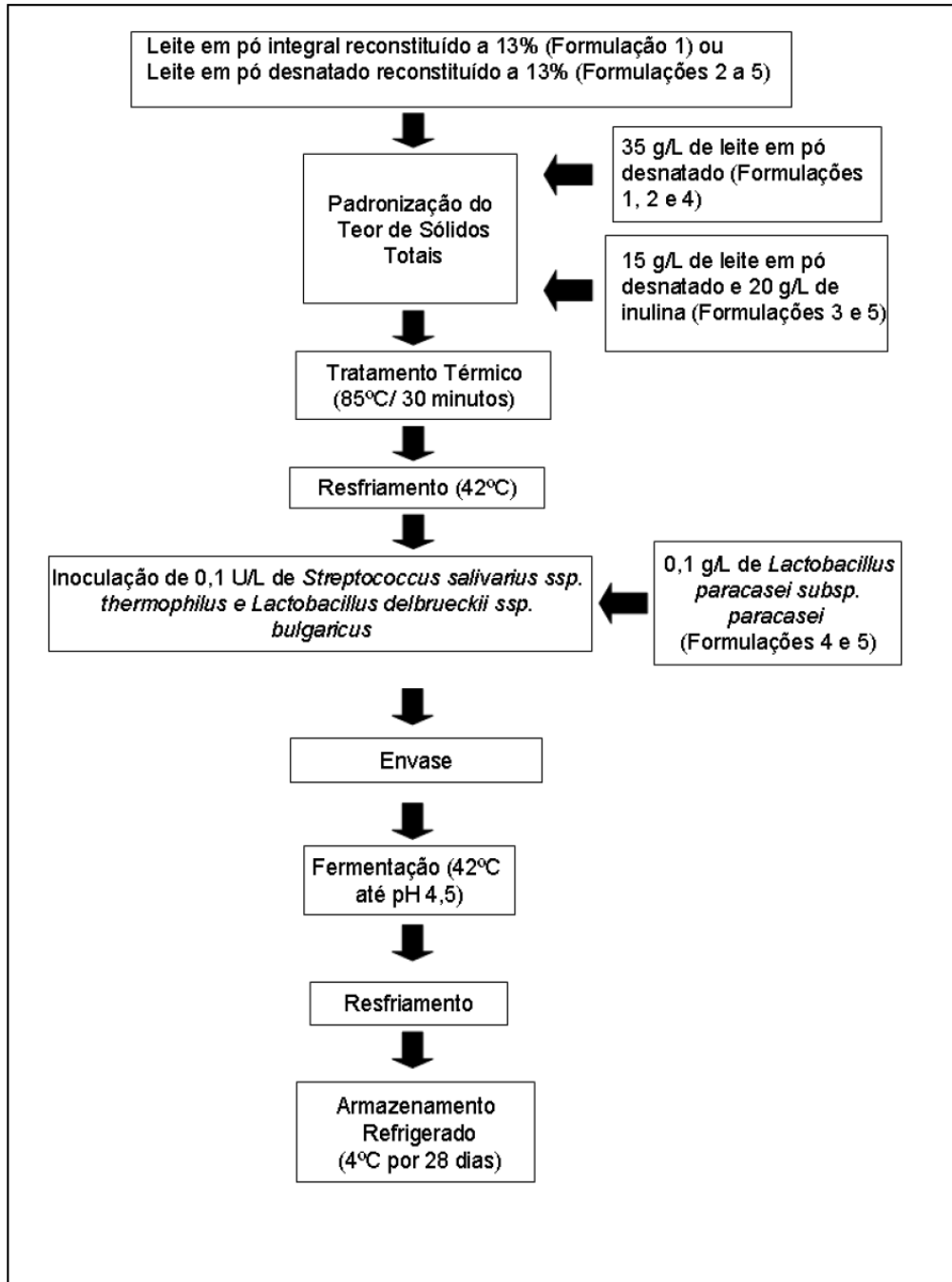
A preparação dos iogurtes foi realizada conforme figura 4. Leite em pó comercial (integral/desnatado) foi utilizado sendo feita sua reconstituição a 13% (p/v) em água destilada.

Para ajustar os sólidos totais, aos lotes sem adição de inulina foram adicionados 35 g/L de leite em pó desnatado, enquanto que aos lotes com adição de inulina foram adicionados 15 g/L de leite em pó desnatado e 20 g/L de inulina (AKALIN *et al.*, 2004). A quantidade de inulina foi selecionada seguindo a regulamentação brasileira a fim de se utilizar a alegação de propriedade funcional da inulina (BRASIL, 2007) e com base nos estudos de Akalin *et al.* (2004).

Cada formulação foi então pasteurizada a 85°C por 30 minutos (AKALIN *et al.*, 2004) e resfriada a aproximadamente 42°C. A seguir, foi inoculada a cultura láctica a 0,1 U/L (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*), com ou sem adição de 0,1 g/L de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*. Todas as culturas foram utilizadas de acordo com as instruções do fabricante.

As bases inoculadas foram colocadas em recipientes de plástico com tampa e capacidade para 80 mL, incubadas a 42°C até que o pH 4,5 fosse alcançado, resfriadas a 4°C, e estocadas nessa temperatura por 28 dias (DONKOR *et al.*, 2007).

Foram realizadas três repetições do experimento.



**Figura 4** – Fluxograma de preparação dos iogurtes

#### 4.2.3 Avaliação da Composição Química

A avaliação da composição química foi feita no primeiro dia de armazenamento.

- teor de umidade: pelo método de secagem em estufa a 105 °C (AOAC, 1995);
- proteínas: pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1995) utilizando fator 6,38;
- lipídios: pelo método de Soxhlet (AOAC, 1995);
- cinzas: pelo método de incineração em forno mufla a 550 °C (AOAC, 1995);
- lactose: pelo método de Fehling (BRASIL, 2003);
- inulina: pelo kit enzimático Fructan HK (Megazyme) (MEGAZYME, 2009).

As análises de composição química foram feitas em triplicata por repetição.

#### 4.2.4 Avaliação da Cor

Para avaliação instrumental da cor utilizou-se o colorímetro BYK Gardner (Germany, série 199968). O aparelho tinha como especificação: área de leitura 11mm, iluminante CIE D65 (luz natural do dia), iluminação em um ângulo de 45°, ângulo de observação de 0° e observador padrão CIE 10°. O colorímetro forneceu diretamente os parâmetros L\* (luminosidade), a\* (componente vermelho-verde) e b\* (componente amarelo-azul). As análises de cor foram feitas em triplicata por repetição.

#### 4.2.5 Avaliação das Características de Pós-acidificação

Estabeleceu-se como período de armazenamento 28 dias a 4°C. Os iogurtes foram avaliados quanto ao valor de pH, acidez expressa em ácido láctico, perfil de textura, sinérese, teor de lactose, conteúdo de inulina e contagem de células viáveis da cultura láctica e da cultura probiótica. As análises acima

mencionadas foram realizadas no primeiro dia de formulação e a cada sete dias de armazenamento.

Para as demais análises o tempo está descrito nos itens apropriados.

As análises de pH, acidez titulável, conteúdo de inulina e perfil de textura foram realizadas em triplicata por tempo de armazenamento em cada repetição, enquanto a sinérese, o teor de lactose e a contagem de células viáveis da cultura láctica e da cultura probiótica foram feitas em duplicata por tempo de armazenamento em cada repetição.

#### 4.2.5.1 Determinação do pH

Determinou-se o pH dos iogurtes a 8°C usando um potenciômetro digital, previamente calibrado com soluções tampões fosfato comerciais pH 4,00 e 7,00 (Synth) (ARYANA, 2003).

#### 4.2.5.2 Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada segundo AOAC (1995). Dez gramas da amostra foram diluídos em água suficiente para totalizar 100 mL de solução. As soluções foram, então, tituladas com solução de NaOH 0,1N até que o pH 8,3 fosse alcançado. O resultado foi expresso em porcentagem (%) de ácido láctico.

#### 4.2.5.3 Perfil de textura

Para análise do perfil de textura instrumental (TPA), as formulações foram submetidas ao texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems), utilizando-se

sensor cilíndrico de acrílico P 25/ L, profundidade de compressão de 8mm; velocidade de compressão do sensor de 2mm/s; força de 0,10N e tempo de 0,5 segundos. Para o teste as formulações foram mantidas em seus recipientes originais.

Os parâmetros de textura do gel foram obtidos a partir das curvas de força x tempo e área dos gráficos, onde foram determinados dureza / firmeza (N), coesividade (adimensional), elasticidade (adimensional), adesividade (Ns) e gomosidade (N) (DOMAGALA *et al.*, 2006).

#### 4.2.5.4 Sinérese

O soro liberado das formulações de iogurte foi medido de acordo com Aryana (2003) com modificações, pois não era possível obter 300 gramas conforme metodologia original. Foi feita a inversão de 3 recipientes contendo iogurte a 8°C em uma peneira colocada no topo de um funil. Mediu-se a massa de iogurte. A quantidade de soro coletada em um cilindro graduado após 2 horas a 21°C foi usada como indicador da capacidade de retenção de água da formulação. Os resultados foram expressos como volume de soro liberado por 100 gramas do produto.

#### 4.2.5.5 Avaliação microbiológica

##### 4.2.5.5.1 Contagem de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*

Para contagem de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* foi utilizado o meio ágar M17- lactose. O ágar M17-lactose foi preparado segundo as instruções do fabricante. O meio foi, então, esterilizado a 121°C por 15 minutos. A inoculação foi realizada em profundidade. Após a inoculação, as placas de Petri foram incubadas em aerobiose a 45°C por 24 horas (TABASCO *et al.*, 2007), as colônias foram contadas e os resultados expressos em log UFC mL<sup>-1</sup> do produto.

#### 4.2.5.5.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*

Para contagem de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* foi utilizado meio MRS ágar acidificado (pH 5,2) (THARMARAJ; SHAH, 2003). O meio MRS foi preparado de acordo com as instruções do fabricante. O pH do meio foi ajustado para pH 5,2 usando ácido clorídrico 1M. O meio foi, então, esterilizado a 121°C por 15 minutos. A inoculação foi realizada em profundidade. Após inoculação as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose, a 45°C por 72 horas (THARMARAJ; SHAH, 2003), as colônias foram contadas e os resultados expressos em log UFC mL<sup>-1</sup> do produto.

#### 4.2.5.5.3 Contagem de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

A contagem de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* foi feita utilizando meio ágar MRS vancomicina (THARMARAJ; SHAH, 2003). O ágar MRS foi preparado conforme instruções do fabricante. O meio foi, então, esterilizado a 121°C por 15 minutos. Aproximadamente 2mL de uma solução de 0,05g de vancomicina/100mL de solução foram adicionados a 1000mL de MRS para obter 1mg/L de concentração final. A solução de vancomicina foi esterilizada previamente por filtração em membrana Millipore 0,45µm. A inoculação foi realizada em profundidade. Após inoculação as placas de Petri foram incubadas invertidas em jarras contendo gerador de anaerobiose a 37°C por 72 horas. Colônias brancas, brilhantes e lisas, de aproximadamente 1,0 mm de diâmetro foram então contadas e os resultados expressos em log UFC mL<sup>-1</sup> do produto.

#### 4.2.5.5.4 Bolores e leveduras, coliformes totais e coliformes a 45°C

Os iogurtes foram submetidos às análises microbiológicas preconizadas pela resolução nº 5 de 13 de novembro de 2000 (BRASIL, 2000)

utilizando as técnicas descritas pelo Ministério da Agricultura através da Instrução Normativa nº. 62 de 26 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003) e os resultados foram expressos em UFC mL<sup>-1</sup> do produto para bolores e leveduras e NMP/mL para coliformes e coliformes a 45 °C.

As análises (pesquisa de bolores e leveduras, coliformes totais e coliformes a 45°C) foram realizadas no primeiro dia e no 28º dia de armazenamento.

#### 4.2.6 Análise Sensorial

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina (UEL) (Anexo E).

##### 4.2.6.1 Condições do teste

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Universidade Estadual de Londrina (UEL), cujas instalações incluem cabines individuais, controle de iluminação e temperatura ambiente, ao primeiro dia de armazenamento do produto. Para avaliação foi utilizada luz branca e as formulações foram servidas em seus recipientes originais, codificados com números de três dígitos aleatórios, aproximadamente à temperatura de 12°C.

As formulações foram apresentadas seqüencialmente aos provadores na Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) e no Teste Afetivo, conforme delineamento de apresentação das formulações.

#### 4.2.6.2 Análise descritiva quantitativa

##### 4.2.6.2.1 Pré-seleção dos candidatos

Foram selecionados indivíduos dentre os alunos, professores ou funcionários da UEL; consumidores potenciais de iogurte; cujo poder discriminativo foi avaliado por testes de reconhecimento de gostos e odores básicos (MEILGAARD *et al.*, 1998).

No recrutamento foi solicitado o preenchimento de um questionário para a obtenção de informações sobre os provadores quanto ao interesse, disponibilidade de tempo para a realização dos testes, afinidade com o produto a ser avaliado e facilidade de expressão. A ficha de recrutamento se encontra no Anexo F, assim como o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram recrutados 25 voluntários.

A capacidade dos voluntários em reconhecer os gostos básicos foi avaliada por meio do teste proposto por Caul (1957) *apud* Penna (1980) onde cada indivíduo avaliou o gosto de uma série de soluções aquosas contendo sacarose (0,4 e 0,8%), ácido cítrico (0,02, 0,03 e 0,04%), cloreto de sódio (0,08 e 0,15%) e cafeína (0,02 e 0,03%).

Indivíduos que não conseguiram identificar pelo menos uma das soluções referentes a cada gosto básico foram eliminados da equipe sensorial a ser formada. A ficha utilizada se encontra na figura 5.

---

**TESTE DE RECONHECIMENTO DE GOSTOS BÁSICOS**

NOME:

DATA:

Por favor, prove cada solução duas vezes e descreva a qualidade do gosto (doce, ácido, salgado, amargo, outros).

Enxágue a boca entre uma amostra e outra.

Nº DA AMOSTRA	DOCE	ÁCIDO	SALGADO	AMARGO	OUTROS

---

**Figura 5** – Ficha para teste de reconhecimento de gostos básicos.

A capacidade dos indivíduos em reconhecer os odores foi avaliada em teste sensorial onde foi solicitado a cada voluntário que descrevesse a qualidade do odor de uma série de 15 substâncias aromáticas diferentes encontradas no cotidiano. As amostras foram colocadas sobre algodão; contido no fundo de frascos de erlenmeyer; recobertos com papel alumínio, codificados e tampados com papel alumínio perfurado. A porcentagem de acerto para cada aroma específico foi calculada por meio de contagem de pontos (3 pontos: termo correto; 2 pontos: termo descritivo ou associativo; 1 ponto: termo errado; 0 : sem resposta). Indivíduos que não atingiram o mínimo de 60% de acerto foram excluídos da equipe sensorial a ser formada (MEILGAARD et al., 1998). A ficha utilizada se encontra na figura 6.

---

**TESTE DE RECONHECIMENTO DE ODORES BÁSICOS**

NOME:

DATA:

Os frascos cobertos contêm substâncias odoríferas que se encontram normalmente em casa ou no local de trabalho. Aproxime o frasco de seu nariz, tire a tampa, aspire brevemente 3 vezes e tente identificar o odor. Se não lhe vier à memória o nome exato da substância, tente descobrir alguma coisa com o qual você associe esse odor.

Nº DA AMOSTRA	ODOR

---

**Figura 6** – Ficha para teste de reconhecimento de odores básicos.

Após os testes realizados foram selecionados 15 provadores.

#### 4.2.6.2.2 *Desenvolvimento da terminologia descritiva*

O desenvolvimento da terminologia descritiva pelos provadores selecionados foi realizado utilizando-se o Método de Rede, descrito por Kelly (1955) *apud* Moskowitz (1988). Seis produtos foram apresentados aos pares (formulações 1x2, 2x5, 3x4 e produto comercial x formulação 5) aos provadores em cabines individuais de avaliação sensorial. O produto comercial utilizado foi um iogurte natural integral probiótico (Activia -Danone).

Os indivíduos foram solicitados a descrever as semelhanças e as diferenças entre as formulações de cada par com relação à aparência, aroma, sabor e textura. Apenas um par de formulações foi analisado por sessão. A ficha utilizada se encontra na figura 7.

---

**FICHA PARA LEVANTAMENTO DE TERMINOLOGIA DESCRITIVA  
(MÉTODO DE REDE)**

Nome:.....Data:.....

Por favor, prove as duas amostras quanto à aparência, aroma, sabor e textura e indique em que elas são semelhantes e em que são diferentes.

Amostras: \_\_\_\_\_ e \_\_\_\_\_

Aparência:

Aroma:

Sabor:

Textura:

---

**Figura 7** – Ficha para levantamento de terminologia descritiva

Após o término das sessões, uma discussão em grupo foi conduzida sob a supervisão de um líder, com o objetivo de identificar os termos ou atributos mais citados; agrupar termos descritivos semelhantes e gerar amostras referências. Foram gerados os seguintes termos descritores: cor, brilho, sinérese, homogeneidade e firmeza para aparência; aroma ácido e aroma de leite fermentado para o aroma; gosto ácido e gosto doce para o sabor; e firmeza, cremosidade e homogeneidade para a textura.

As definições para cada termo (atributo) e as referências para os pontos extremos da escala, para cada atributo, foram consensualmente estabelecidas pelos provadores e encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1 – Definições e Referências para os termos descritores ou atributos gerados pela equipe sensorial descritiva**

Termo Descritor (atributos)	Definição	Referência
<b>Aparência</b>		
Cor	Intensidade da coloração branca com tendência ao amarelo	FRACA: Iogurte natural Nestlé desnatado  INTENSA: 50g de Leite Fermentado Activia + 75mL de leite UHT integral Parmalat
Brilho	Reflexo da luz, contrário de opaco	POUCO: Coalhada Vigor  MUITO: Iogurte natural integral Nestlé
Sinérese	Presença de líquido superficial	AUSENTE: Coalhada Vigor sem líquido superficial  MUITA: Coalhada Vigor
Homogeneidade	Ausência de grumos ou partículas que sejam percebidos visualmente	POUCA: Coalhada Vigor  MUITA : Iogurte natural Nestlé integral
Firmeza	Força aparente do coágulo	POUCA: Iogurte Natural Activia  MUITA: Iogurte Natural Vigor Consistência Firme
<b>Aroma</b>		
Ácido	Aroma ácido característico da presença de ácidos	FRACO: 1 pote de 200g de Iogurte natural Nestlé integral com pH inicial de 4,0, adicionado de 300mL de leite UHT Parmalat, pH final 5,0  INTENSO: 1 pote de 200g de Iogurte natural Nestlé integral mantido a 42 <sup>o</sup> C por 4 horas, pH final 4,0
Leite Fermentado	Aroma típico de leite que tenha sido submetido a processo fermentativo	FRACO: Leite Fermentado Activia  INTENSO: Yakult

<b>Sabor</b>		
Gosto Ácido	Refere-se a sensação percebida no instante que a amostra entra em contato com as papilas gustativas, característico do ácido láctico	FRACO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral com pH inicial de 4,0, adicionado de 300mL de leite UHT Parmalat, pH final 5,0  INTENSO: 1 pote de 200g de iogurte natural Nestlé integral mantido a 42C por 4 horas, pH final 4,0
Gosto Doce	Gosto doce associado à presença de açúcares	AUSENTE: iogurte natural Nestlé integral  INTENSO: iogurte natural Nestlé integral com 7% de açúcar União
<b>Textura</b>		
Firmeza	Facilidade ou não de corte do produto quando manipulado com uma colher	BAIXA: iogurte natural Parmalat consistência cremosa  ALTA: petit suisse danoninho com polpa de banana
Creiosidade	Sensação de recobrimento na boca	BAIXA: 100g de iogurte Parmalat natural cremoso + 15g de leite integral  ALTA: 100g de iogurte Parmalat natural cremoso + 50g de creme de leite
Homogeneidade	Ausência de grumos ou partículas que sejam percebidos durante a deglutição	POUCA: Coalhada Vigor  MUITA : iogurte natural Nestlé integral

Sessões suplementares de avaliação das formulações, das referências sugeridas e de discussão em grupo foram realizadas a fim de alcançar um consenso de termos descritivos (atributos) para a equipe sensorial e definir a ficha de avaliação das formulações. A ficha descritiva consensualmente desenvolvida encontra-se na figura 8. Os materiais de referência e a definição de cada termo descritivo foram colocados à disposição dos provadores em cada sessão. O treinamento foi encerrado quando os provadores demonstraram não ter dificuldades em avaliar as formulações utilizando a ficha de avaliação.



#### 4.2.6.2.3 Seleção da equipe final de provadores

Para a seleção dos provadores que fariam parte da equipe final de análise descritiva dos iogurtes três formulações (1, 2 e 5) foram avaliadas, utilizando-se um delineamento experimental de blocos completos casualizados com três repetições. Foi pedido aos provadores que enxáguassem a boca com porções de água à temperatura ambiente, entre uma formulação e outra.

Foi executada análise de variância para os resultados de cada provador, para cada atributo, tendo como fonte de variação: formulações e repetições. Foram computados para cada provador os níveis de significância ( $p$ ) dos valores de  $F$ (formulações) e  $F$ (repetições). Os provadores que apresentaram poder discriminativo ( $p$  de  $F$ formulações  $< 0,5$ ); reprodutibilidade nos julgamentos ( $p$  de  $F$ repetições  $\geq 0,05$ ) e consenso com os demais membros do grupo foram selecionados para compor a equipe definitiva treinada, segundo metodologia proposta por Damasio e Costell (1991). A concordância dos provadores com a equipe foi verificada através da comparação das médias individuais com a média da equipe sensorial.

Foram selecionados 12 provadores para compor a equipe, 9 mulheres e 3 homens, sendo todos alunos de pós-graduação. Cerca de 50% dos provadores estava na faixa de 15 a 25 anos, 41,67% tinha entre 25 e 35 anos e 8,33% tinha entre 35 e 50 anos.

A maioria dos provadores (75%) relatou gostar de iogurte natural enquanto o restante não gostava nem desgostava do produto. Quanto aos iogurtes com fibras e os probióticos, 91,67% dos provadores relataram gostar dos produtos enquanto 8,33% disseram nunca ter provado. Para iogurtes com baixo teor de gordura 83,33% dos provadores relataram gostar do produto e 16,67% disseram nunca ter provado.

Todos os provadores tinham alguma experiência prévia com análise sensorial, sendo que 91,67% já havia participado de teste de aceitação; 33,33% de testes discriminativos e 25% de análises descritivas.

#### 4.2.6.2.4 Avaliação das formulações

O perfil sensorial das formulações foi desenvolvido pelos provadores treinados conforme delineamento descrito no item 4.2.8, onde as formulações foram servidas sequencialmente em cada sessão (repetição da análise). A intensidade de cada descritor foi avaliada em cada formulação pela escala não estruturada de 9 centímetros, com termos de intensidade ancorados em seus extremos, sendo o mínimo à esquerda e o máximo à direita (Figura 8).

#### 4.2.6.3 Teste afetivo

A aceitabilidade das formulações foi avaliada por 75 consumidores potenciais do produto. A ficha de recrutamento se encontra no Anexo G, assim como o termo de consentimento livre e esclarecido. Cada provador recebeu sequencialmente um copo de iogurte de cada formulação, codificado com três dígitos aleatórios. Para avaliar a aceitabilidade das formulações, os provadores utilizaram escala hedônica estruturada de 9 pontos (9= gostei muitíssimo; 1= desgostei muitíssimo) (STONE; SIDEL, 1993). A ficha utilizada se encontra na figura 9.

---

**TESTE DE ESCALA HEDÔNICA**

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Você está recebendo uma amostra de iogurte natural. Por favor, avalie a amostra codificada e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou dela.

Amostra: \_\_\_\_\_

9- gostei muitíssimo  
 8- gostei muito  
 7- gostei moderadamente  
 6- gostei ligeiramente  
 5- nem gostei nem desgostei  
 4- desgostei ligeiramente  
 3- desgostei moderadamente  
 2- desgostei muito  
 1- desgostei muitíssimo

Comentários: \_\_\_\_\_

---

**Figura 9** – Ficha para Teste Afetivo

#### 4.2.7 Delineamento Experimental e Análise Estatística

As avaliações (físicas, químicas e microbiológicas) seguiram o delineamento inteiramente casualizado e foram repetidas três vezes. Nas análises de composição química e cor avaliada por instrumento, os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de comparação de médias de Tukey. Nas análises de pH, acidez titulável, perfil de textura, sinérese, teor de lactose, teor de inulina e contagem de células viáveis da cultura láctica e probiótica utilizou-se esquema de tratamentos em parcelas subdivididas, onde o tratamento principal foi a formulação e o secundário o tempo de armazenamento. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), Teste F de Snedecor e Teste —tll ou teste de Tukey de comparação de médias.

Para a ADQ o delineamento foi blocos completos casualizados repetido três vezes, onde os tratamentos foram as formulações e os blocos os provadores. Os dados foram submetidos à ANOVA com dois fatores (tratamentos e provadores) e interação, Teste F de Snedecor, Teste de comparação de médias de Tukey e Análise dos Componentes Principais.

Para o teste sensorial afetivo o delineamento foi blocos completos casualizados, onde os tratamentos foram as formulações e os blocos os provadores. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), Teste F de Snedecor e Teste de comparação de médias de Tukey.

Para avaliação dos dados apresentados foram utilizados os programas SAS 9.0 e Statistica 6.0.

A análise de correlações entre os atributos sensoriais obtidos na Análise Descritiva Quantitativa e entre atributos sensoriais e medidas físico-químicas e instrumentais foi realizada utilizando-se o Excel 6.0 (Microsoft) juntamente com o pacote estatístico Statgraphics plus 4.0 (Statistical Graphics Corp). O teste de correlação foi o de Pearson sendo verificada a significância da correlação através do teste —tll.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O meio base utilizado na formulação dos iogurtes foi o leite em pó integral ou desnatado. Segundo Aportela-Palacios *et al.* (2005) a utilização desse tipo de leite padroniza a fonte de leite e sua composição nas repetições do experimento.

Na tabela 2 estão os resultados referentes aos valores médios e desvio padrão dos teores de umidade, proteína, gordura, lactose e cinzas dos iogurtes formulados.

**Tabela 2** – Composição química das formulações de iogurtes (base úmida)\*

Formulação**	Umidade (g/100g)	Proteína (g/100g)	Gordura (g/100g)	Lactose (g/100g)	Cinzas (g/100g)
1	84,07 ± 0,578 <sup>A</sup>	4,600 ± 0,589 <sup>B</sup>	3,543 ± 0,133 <sup>A</sup>	5,842 ± 0,037 <sup>C</sup>	1,001 ± 0,036 <sup>C</sup>
2	83,89 ± 0,478 <sup>A</sup>	5,588 ± 0,265 <sup>A</sup>	0,101 ± 0,003 <sup>B</sup>	8,225 ± 0,060 <sup>A</sup>	1,309 ± 0,180 <sup>A</sup>
3	84,12 ± 0,589 <sup>A</sup>	4,836 ± 0,176 <sup>B</sup>	0,100 ± 0,007 <sup>B</sup>	7,005 ± 0,053 <sup>B</sup>	1,109 ± 0,045 <sup>B</sup>
4	84,12 ± 0,953 <sup>A</sup>	5,660 ± 0,300 <sup>A</sup>	0,101 ± 0,003 <sup>B</sup>	7,034 ± 0,539 <sup>B</sup>	1,307 ± 0,108 <sup>A</sup>
5	84,03 ± 0,388 <sup>A</sup>	5,011 ± 0,178 <sup>B</sup>	0,100 ± 0,005 <sup>B</sup>	7,072 ± 0,022 <sup>B</sup>	1,128 ± 0,048 <sup>B</sup>

\* Médias na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\*Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Os teores de umidade se encontraram na faixa de 83,89 a 84,12 % (16,11 a 15,88 % de sólidos totais, respectivamente) e não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre as formulações. Os valores obtidos correspondem a valores típicos de umidade de iogurtes (TAMIME; ROBINSON, 1991). Aportela-Palacios *et al.* (2005) encontraram teores de umidade de 84,5% para iogurtes integrais e próximos a 80,0% quando adicionados de 1,5% de fibras.

A legislação brasileira exige um mínimo de 2,9% de proteínas lácteas em iogurtes (BRASIL, 2000). Os iogurtes obtidos neste experimento estão de acordo com a legislação quanto ao teor mínimo de proteína requerido, já que valores

na faixa de 4,60 a 5,66 % foram obtidos. La Torre, Tamime e Muir (2003) obtiveram teores de proteína de 5,39 a 5,6 % em iogurtes probióticos. Segundo a Food Standards Agency (2002) os iogurtes naturais apresentam teores de proteína entre 4,80 e 5,73% considerando produtos integrais e de baixo teor de gordura.

As formulações 2 e 4 apresentaram valores mais elevados de proteína do que as demais formulações e não diferiram entre si ( $p>0,05$ ). As formulações 1, 3 e 5 não diferiram entre si ( $p>0,05$ ). Os resultados indicam que as diferenças estão relacionadas à composição dos leites em pó utilizados (Anexo A) e à quantidade de leite em pó desnatado utilizada para o ajuste dos sólidos totais na formulação dos iogurtes. Isso porque o leite em pó integral apresentava menor concentração de proteína do que o leite em pó desnatado, fazendo com que a formulação integral (1) contivesse menor teor desse componente do que a formulação desnatada (2). Comparando as formulações 2, 3, 4 e 5, todas desnatadas, as diferenças podem ser associadas à quantidade de leite em pó desnatado utilizada na padronização dos sólidos totais, sendo que aquelas formulações que foram adicionadas de maior quantidade deste ingrediente (2 e 4) apresentaram maior teor de proteína do que as formulações onde a inulina substituiu uma parte do leite em pó desnatado (3 e 5). Guven *et al.* (2005) também observaram maior teor de proteína com o aumento na quantidade de leite em pó desnatado utilizada na formulação de iogurtes.

Os resultados obtidos para os teores de gordura foram de 3,54% para o iogurte integral (formulação 1) e 0,100 e 0,101% para as demais formulações (2,3,4 e 5). Aportela-Palacios *et al.* (2005) obtiveram valores de 3,5 a 3,6% de gordura em iogurtes formulados com leite em pó e afirmam que o valor esperado era de 3,5%. Este valor se encontra bastante próximo ao encontrado no presente estudo (3,54%). Guven *et al.* (2005) obtiveram valores de 0,1% de gordura ao utilizarem leite desnatado na formulação de iogurtes. Paseephol *et al.* (2009) encontraram valores de 3,5 e 0,1% para iogurtes formulados com leite em pó integral e desnatado, respectivamente.

Quanto ao teor de gordura, os iogurtes são classificados como integrais (3,0 a 5,9%), semi-desnatados (0,6 a 2,9%) e desnatados (até 0,5%) (BRASIL, 2000). Exceto a formulação 1, classificada como integral, as demais formulações (2,3,4 e 5) podem ser classificadas como desnatadas.

Quanto ao teor de lactose, a formulação 2 apresentou o maior teor e a formulação 1 o menor. As formulações 3, 4 e 5 não apresentaram diferença entre si ( $p > 0,05$ ), sendo encontrados resultados intermediários aos das formulações 1 e 2. O teor de lactose esteve diretamente relacionado à composição dos leites em pó utilizados e à quantidade de leite em pó desnatado contida na formulação. Resultados similares foram observados por Guven *et al.* (2005) que encontraram teores de lactose de 5,53 a 7,88% em iogurtes, valores semelhantes aos encontrados neste estudo (5,84 a 8,23%).

As formulações 2 e 4 apresentaram os maiores teores de cinzas, enquanto a formulação 1 apresentou o menor teor. As formulações 2 e 4 e as formulações 3 e 5 não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. Os resultados encontrados podem estar relacionados à composição dos leites em pó utilizados e à quantidade de leite em pó desnatado utilizada no meio base, sendo que aquelas formulações que continham maior quantidade deste ingrediente apresentaram maiores teores de cinzas. Efeito similar foi observado por Guven *et al.* (2005), que obtiveram formulações com teores de cinzas de 0,880 a 1,135% sendo a diferença relacionada à quantidade de leite em pó desnatado utilizada na formulação dos iogurtes.

A legislação brasileira não contempla os parâmetros físico-químicos como extrato seco total e extrato seco desengordurado para iogurtes (BRASIL, 2000). Quanto às especificações dos Estados Unidos, os iogurtes devem ter um mínimo de extrato seco desengordurado de 8,25% independentemente da quantidade de gordura presente (USDA SPECIFICATIONS FOR YOGHURT, 2001). Os iogurtes obtidos neste trabalho apresentaram extrato seco desengordurado na faixa de 12,39 a 16,01 %, estando, portanto, dentro da faixa estabelecida internacionalmente.

Na tabela 3 estão os resultados referentes aos valores médios e desvio padrão do teor de inulina nas formulações nas quais foi adicionada (3 e 5), nos diferentes tempos de armazenamento.

**Tabela 3** – Conteúdo médio de inulina nos iogurtes (g/100g) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**		Média
	3	5	
1	2,015 ± 0,007	2,000 ± 0,014	2,008 ± 0,011 <sup>A</sup>
7	2,000 ± 0,000	2,000 ± 0,000	2,000 ± 0,000 <sup>A</sup>
14	2,000 ± 0,000	2,000 ± 0,000	2,000 ± 0,000 <sup>A</sup>
21	1,980 ± 0,000	1,980 ± 0,014	1,980 ± 0,000 <sup>B</sup>
28	1,960 ± 0,014	1,960 ± 0,014	1,960 ± 0,000 <sup>C</sup>
<b>Média</b>	1,991 ± 0,021 <sup>a</sup>	1,988 ± 0,018 <sup>a</sup>	

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\*Formulações: 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A interação tratamento x tempo de armazenamento na análise de variância não foi significativa ( $p > 0,05$ ), indicando que as formulações apresentaram comportamento semelhante em relação ao tempo de estocagem. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre as formulações quanto ao teor de inulina, indicando que a presença do probiótico não teve efeito sobre o conteúdo da fibra.

Houve diminuição no conteúdo de inulina ( $p \leq 0,05$ ) durante o período de estocagem sendo que a diminuição média foi de 2,39%. O declínio ocorreu somente após o 14º dia de estocagem, sendo que entre o 14º e 21º dia e entre o 21º e 28º dia esse declínio foi idêntico. Cardarelli *et al.* (2008a) obtiveram redução no conteúdo de inulina de 2,7% durante 28 dias de estocagem a 4°C de queijos *petit-suisse* probióticos adicionados apenas desse prebiótico.

Os resultados obtidos indicam que a concentração de inulina, seu grau de polimerização e a temperatura de estocagem dos iogurtes não permitiram a metabolização do prebiótico pelos microorganismos da cultura láctica e probiótica (formulação 5), sendo a diminuição encontrada relacionada possivelmente a uma hidrólise ácida, já que a inulina foi encontrada em ambas as formulações na mesma proporção. Segundo Oraffi (1999), em ambiente ácido, a inulina pode ser hidrolisada, resultando na formação de frutose e na perda de suas propriedades funcionais. Entretanto, durante a produção e estocagem do produto, pode ocorrer uma hidrólise limitada: 1% durante a pasteurização do leite, 2% durante a incubação

do leite e 5% durante a estocagem do produto. Sendo assim, os resultados obtidos no presente estudo estão coerentes, já que valores médios de 2,39% de redução foram encontrados.

É importante mencionar que o *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* é um microorganismo mesofílico, tendo temperatura ótima a 37°C (RASIC; KURMANN, 1983). Como a temperatura utilizada para a estocagem dos iogurtes era baixa (4°C), o microorganismo probiótico não foi capaz de degradar a inulina (BURITI *et al.*, 2007). Além disso, a inulina utilizada no presente estudo apresentava um alto grau de polimerização (DP médio de 23), dificultando sua degradação pelo probiótico.

Segundo Brasil (2007), a alegação de propriedade funcional da inulina é permitida desde que a porção diária do produto pronto para o consumo forneça no mínimo 1,5 grama se o alimento for líquido. A alegação permitida é: —a inulina contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis (BRASIL, 2005). Teores de 2% de inulina estavam presentes nas formulações nas quais esta foi adicionada (formulações 3 e 5), indicando que seria possível a utilização da alegação de propriedade funcional da inulina para os iogurtes formulados, considerando uma porção diária do produto pronto para o consumo de 100 gramas.

A legislação brasileira não apresenta valores de ingestão diária de inulina necessários para exercer o efeito benéfico associado a este carboidrato. Manning e Gibson (2004) indicam que no mínimo 4g/dia do prebiótico seriam necessários para aumentar significativamente a quantidade de bifidobactérias no intestino. Sendo assim, para obter os efeitos terapêuticos associados a inulina, seria necessária a ingestão de 200 gramas diários do iogurte elaborado neste estudo.

## 5.2 COR

Os valores médios dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) se encontram na tabela 4.

**Tabela 4** – Parâmetros L\*, a\* e b\* de cor dos iogurtes\*

Parâmetro	Formulação**				
	1	2	3	4	5
L*	87,362 ± 1,43 <sup>a</sup>	86,456 ± 4,224 <sup>a</sup>	86,443 ± 2,022 <sup>a</sup>	85,953 ± 5,695 <sup>a</sup>	85,908 ± 0,695 <sup>a</sup>
a*	1,613 ± 0,159 <sup>a</sup>	1,300 ± 0,156 <sup>a</sup>	1,406 ± 0,157 <sup>a</sup>	1,414 ± 0,332 <sup>a</sup>	1,410 ± 0,193 <sup>a</sup>
b*	10,163 ± 0,635 <sup>a</sup>	10,528 ± 0,548 <sup>a</sup>	9,971 ± 1,360 <sup>a</sup>	10,479 ± 0,156 <sup>a</sup>	9,808 ± 0,329 <sup>a</sup>

\* Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

L\* variando de 0 (preto) a 100 (branco); a\* variando do vermelho (+a\*) ao verde (-a\*) e b\* variando do amarelo (+b\*) ao azul (-b\*)

\*\*Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A avaliação de cor por instrumento foi realizada para observar se o teor de gordura ou a adição de inulina e probiótico teriam influência sobre este parâmetro; embora os produtos fossem brancos. Paseephol *et al.* (2009) relatam que embora iogurtes naturais visualmente pareçam brancos e brilhantes, a avaliação de cor por instrumento pode revelar diferenças entre amostras.

No entanto, não houve diferença nos parâmetros de cor (L\*, a\* e b\*) para todas as formulações estudadas ( $p > 0,05$ ). Aryana *et al.* (2007) e Aryana e McGrew (2007) também não encontraram alteração significativa na cor medida por instrumento em iogurtes adicionados de inulina e *Lactobacillus acidophilus/Lactobacillus paracasei*, respectivamente. Segundo os autores um fator que influencia a cor do produto é a cor dos ingredientes utilizados em sua fabricação. O leite em pó foi comum a todas as formulações e os tratamentos continham inulina e/ou cultura probiótica, ambos na forma de pó, não alterando então a cor dos iogurtes. Dello Stafollo *et al.* (2004) também não observaram efeito da inulina nos parâmetros de cor de iogurtes. Por outro lado, Paseephol *et al.* (2009) encontraram diminuição dos parâmetros L\* e b\* e aumento no parâmetro a\* quando a inulina foi adicionada a iogurtes. Yazici e Akgun (2004) também não observaram influência do teor de gordura na cor medida por instrumentos em iogurtes batidos.

Aportela-Palacios *et al.* (2005) obtiveram valores de L\* na faixa de 75 a 87,2, a\* na faixa de -3,12 a 1,31 e b\* na faixa de 9,27 a 11,4, dependendo do tipo e da quantidade de fibra adicionada aos iogurtes. Estes valores foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho (L\* de 85,908 a 87,362; a\* de 1,300 a 1,613 e b\* de 9,808 a 10,528).

### 5.3 CARACTERÍSTICAS DE PÓS-ACIDIFICAÇÃO

Foram avaliados teor de lactose, pH, acidez titulável, perfil de textura, sinérese, contagens dos microorganismos da cultura láctica e probiótica e qualidade microbiológica (bolors e leveduras e coliformes). Na análise de variância a interação tratamento x tempo de armazenamento não foi significativa ( $p > 0,05$ ) para todas as características analisadas, indicando que as formulações se comportaram de maneira semelhante em relação ao tempo de estocagem.

#### 5.3.1 Teor de Lactose

Os teores médios de lactose dos iogurtes durante o período de armazenamento estão apresentados na tabela 5.

**Tabela 5** – Conteúdo médio de lactose nos iogurtes (g/100g de produto) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	5,842 ± 0,037	8,225 ± 0,060	7,005 ± 0,053	7,034 ± 0,539	7,072 ± 0,022	7,036 ± 0,803 <sup>A</sup>
7	5,879 ± 0,103	7,960 ± 0,120	6,895 ± 0,211	6,944 ± 0,193	6,796 ± 0,059	6,894 ± 0,690 <sup>B</sup>
14	5,832 ± 0,047	7,809 ± 0,195	6,744 ± 0,103	7,006 ± 0,099	6,702 ± 0,098	6,818 ± 0,659 <sup>B,C</sup>
21	5,799 ± 0,105	7,780 ± 0,126	6,627 ± 0,152	6,906 ± 0,131	6,780 ± 0,075	6,778 ± 0,659 <sup>C</sup>
28	5,501 ± 0,087	7,600 ± 0,148	6,449 ± 0,143	6,958 ± 0,191	6,584 ± 0,047	6,618 ± 0,715 <sup>D</sup>
<b>Média</b>	5,770 ± 0,158 <sup>d</sup>	7,875 ± 0,246 <sup>a</sup>	6,744 ± 0,238 <sup>c</sup>	6,969 ± 0,253 <sup>b</sup>	6,787 ± 0,175 <sup>e</sup>	

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\*Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Houve diferença ( $p \leq 0,05$ ) no teor médio de lactose dentre os diferentes tipos de iogurtes, sendo que a formulação 2 (desnatada) apresentou o maior valor seguida da formulação 4 (probiótica), enquanto a formulação 1 (integral)

apresentou o menor valor. As formulações 3 e 5 não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si e apresentaram valores intermediários. Essas diferenças estão relacionadas à composição dos leites em pó utilizados e à quantidade de leite em pó desnatado utilizada no meio base para a formulação dos produtos, conforme já discutido no item composição química.

Houve decréscimo do teor de lactose durante o período de estocagem ( $p \leq 0,05$ ). O decréscimo na quantidade de lactose foi de 5,94 %, considerando os valores médios. Galvão *et al.* (1995) citam um consumo de lactose entre 10 e 30% durante a fermentação e armazenamento de iogurtes. Silva (2007) encontrou diminuição de 12,22 a 20,20 na porcentagem de lactose quando estudou a influência da concentração da cultura lática nas características de iogurtes. Valores menores encontrados neste estudo podem estar relacionados à baixa pós-acidificação da cultura lática utilizada; conforme descrito na especificação do produto DVS YC - X11 (Anexo C). Além disso, a temperatura de armazenamento dos iogurtes era baixa (4°C) dificultando a utilização da lactose pela cultura lática. Para Chandan e O'Rell (2006), à temperatura de armazenamento de 4°C a cultura lática permanece viável mas sua atividade é drasticamente limitada.

### 5.3.2 pH e Acidez

Os valores médios de pH e acidez das formulações de iogurte durante o período de armazenamento estão demonstrados nas tabelas 6 e 7, respectivamente.

**Tabela 6** – Valores médios de pH dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	4,467 ± 0,007	4,436 ± 0,011	4,450 ± 0,009	4,439 ± 0,008	4,447 ± 0,007	4,448 ± 0,014 <sup>A</sup>
7	4,399 ± 0,006	4,369 ± 0,008	4,379 ± 0,008	4,370 ± 0,007	4,380 ± 0,007	4,379 ± 0,013 <sup>B</sup>
14	4,346 ± 0,011	4,327 ± 0,008	4,329 ± 0,006	4,322 ± 0,007	4,329 ± 0,006	4,331 ± 0,011 <sup>C</sup>
21	4,279 ± 0,008	4,260 ± 0,007	4,260 ± 0,009	4,247 ± 0,009	4,260 ± 0,007	4,261 ± 0,014 <sup>D</sup>
28	4,260 ± 0,007	4,240 ± 0,007	4,240 ± 0,005	4,230 ± 0,007	4,240 ± 0,007	4,242 ± 0,013 <sup>E</sup>
<b>Média</b>	4,350 ± 0,078 <sup>a</sup>	4,326 ± 0,077 <sup>c</sup>	4,332 ± 0,078 <sup>b</sup>	4,322 ± 0,079 <sup>c</sup>	4,331 ± 0,077 <sup>b</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

**Tabela 7** – Valores médios de acidez dos iogurtes (% ácido láctico) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	0,991 ± 0,073	1,230 ± 0,056	1,072 ± 0,030	1,250 ± 0,031	1,105 ± 0,030	1,130 ± 0,108 <sup>B</sup>
7	1,035 ± 0,085	1,230 ± 0,044	1,098 ± 0,052	1,295 ± 0,012	1,095 ± 0,0056	1,151 ± 0,111 <sup>B</sup>
14	1,074 ± 0,127	1,276 ± 0,030	1,112 ± 0,034	1,313 ± 0,034	1,135 ± 0,062	1,182 ± 0,187 <sup>A</sup>
21	1,093 ± 0,117	1,272 ± 0,046	1,126 ± 0,020	1,313 ± 0,029	1,127 ± 0,031	1,186 ± 0,106 <sup>A</sup>
28	1,080 ± 0,087	1,270 ± 0,036	1,150 ± 0,029	1,306 ± 0,044	1,160 ± 0,035	1,193 ± 0,097 <sup>A</sup>
<b>Média</b>	1,054 ± 0,103 <sup>c</sup>	1,255 ± 0,046 <sup>a</sup>	1,112 ± 0,042 <sup>b</sup>	1,296 ± 0,039 <sup>a</sup>	1,124 ± 0,049 <sup>b</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Considerou-se como ponto final da fermentação valores de pH 4,5. Segundo Kurmann (1977) este seria o pH ideal para leites fermentados porque valores inferiores poderiam levar à rejeição do produto por parte dos consumidores e favorecer o dessoramento. Para Brandão (1995), valores de pH acima de 4,6 favorecem a separação do soro porque o gel ainda não foi suficientemente formado. pHs semelhantes para o término do processo fermentativo foram utilizados por: Aryana *et al.* (2007); Akalin *et al.* (2004); Dello Staffolo *et al.* (2004); Kailasapathy e Phillips (2008); Mortazavian *et al.* (2007); Vasiljevic *et al.* (2007); Donkor *et al.* (2007) e Kailasapathy (2006).

Neste estudo, o tempo de fermentação a 42 °C requerido para atingir o pH desejado (4,5) foi de 8 a 10 horas, dependendo da formulação, o que confirma o baixo poder de acidificação da cultura láctica utilizada, conforme descrito nas especificações do produto (Anexo C). Özer *et al.* (2005) observaram que o tempo necessário, a uma temperatura de 43 °C, para que os iogurtes atingissem pH 4,6 foi de 3,5 a 8 horas, dependendo da formulação estudada. Lee e Lucey (2004) encontraram tempos de 5 a 6 horas para pH final 4,6, temperaturas de incubação de 40 ou 45,7 °C e para níveis de inoculação da cultura láctica normalmente utilizados (1 a 2%). Guggisberg *et al.* (2009) relataram tempos entre 2 horas e 35 minutos e 3 horas e 5 minutos para que os iogurtes alcançassem pH 4,6 a uma temperatura de 42 °C. Os autores relatam, no entanto, que diferenças na razão entre superfície e volume do produto; diferentes níveis de oxigênio influenciando o crescimento microbiano e os gradientes de acidificação e temperatura podem ser responsáveis por diferenças no tempo de incubação. Além disso, o conteúdo de proteína pode influenciar a acidez de produtos lácteos já que, devido ao grande número de grupos que podem interagir reversivelmente com prótons, as proteínas têm ação tamponante. Adicionalmente, Bacus (1984) afirma que quanto maior a força tamponante, maior a quantidade de ácido a ser produzida pelas bactérias para abaixar o pH do produto, resultando em fermentação mais lenta. O diferente conteúdo de proteína nas formulações poderia, então, estar relacionado com diferenças no tempo de incubação do leite durante a preparação de iogurtes.

Contudo, após 24 horas do preparo (dia 1) dos iogurtes, os valores de pH se encontraram na faixa de 4,436 a 4,467, com acidez titulável na faixa de 0,991 a 1,25% de ácido láctico.

As formulações 2 e 4 apresentaram os menores valores de pH e maiores valores de acidez e não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ). A formulação integral apresentou o maior valor de pH e menor valor de acidez. As formulações 3 e 5 não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ) e apresentaram valores intermediários de pH e acidez.

O pH e a acidez titulável dos iogurtes integral e desnatado (1 e 2) foram diferentes ( $p \leq 0,05$ ) sendo que a amostra integral (formulação 1) apresentou maior pH e menor acidez titulável do que a desnatada (formulação 2). Guggisberg *et al.* (2009) também observaram que iogurtes com maior teor de gordura apresentavam maiores valores de pH e atribuíram o fato ao conteúdo de proteína, que era menor no produto de maior teor de gordura. Os autores relatam que o

conteúdo de proteína pode influenciar nos valores de pH. Akalin *et al.* (2007), no entanto, não observaram diferenças nos valores de pH de iogurtes desnatados e integrais e sugerem que o processo de acidificação não é influenciado pelo conteúdo de gordura do leite. Vinderola *et al.* (2000) também não detectaram diferenças significativas nos valores de pH de iogurtes desnatados e integrais contendo *Lactobacillus acidophilus* e *B. bifidum*.

As formulações que continham inulina (3 e 5) apresentaram maiores valores de pH e menores valores de acidez quando comparadas ao produto desnatado (formulação 2). Cardarelli (2006) afirma que a adição de probióticos em combinação com os prebióticos (produtos simbióticos) pode resultar em produtos menos ácidos.

Akalin *et al.* (2004) observaram que iogurtes adicionados de frutooligossacarídeos apresentavam menor conteúdo de ácido láctico do que os iogurtes controle e atribuíram o fato ao menor conteúdo de lactose naqueles produtos adicionados de inulina e não à presença do carboidrato. Aryana e McGrew (2007) não relataram diferenças no pH entre as amostras de iogurte controle e aquelas adicionadas de inulina (HP ou GR). Guven *et al.* (2005) afirmam que o uso de inulina como substituto de gordura não afeta o pH e a acidez titulável de iogurtes. Guggisberg *et al.* (2009) observaram que os valores de pH não foram influenciados pela adição de inulina em iogurtes firmes.

As diferenças encontradas no pH e na acidez titulável entre as formulações integral e desnatada (1 x 2) e desnatada e aquelas adicionadas de inulina (2 x 3 e 2 x 5) podem estar relacionadas às diferentes concentrações de lactose e proteína nos produtos. Segundo Cardarelli *et al.* (2008a), uma maior concentração de lactose provê o microorganismo de maior quantidade de substrato a ser degradado em ácidos orgânicos, levando a um menor pH e a maiores valores de acidez titulável durante a estocagem. Segundo Modler *et al.* (1983), iogurtes com maiores porcentagens de proteína; principalmente proveniente da adição de leite em pó desnatado, são mais ácidos devido à capacidade tamponante das proteínas. Sendo assim, a amostra integral (formulação 1) possuía menor concentração de lactose e proteína do que a desnatada (formulação 2) e, portanto, apresentou maiores valores de pH e menores valores de acidez. Comparando a formulação desnatada (2) com as adicionadas de inulina (3 e 5), a desnatada (formulação 2)

continha maior conteúdo de lactose e proteína e, conseqüentemente, menores valores de pH e maiores valores de acidez.

A adição de probiótico não teve efeito sobre o pH e a acidez titulável dos iogurtes ( $p > 0,05$ ). Özer *et al.* (2005) também não observaram efeito da adição de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium bifidum* BB-12 no pH de iogurtes probióticos.

Os valores médios de pH das formulações situaram-se entre 4,448 e 4,24 durante o período de estocagem. Aryana e McGrew (2007) avaliaram os atributos de qualidade de iogurtes fabricados com *Lactobacillus casei* e vários prebióticos, e encontraram valores de pH entre 4,60 e 4,32 durante o tempo de estocagem de 28 dias. Guven *et al.* (2005) obtiveram valores de pH entre 4,46 e 4,20 durante os 15 dias de armazenamento de iogurtes adicionados de diferentes concentrações de inulina. Kailasapathy e Phillips (2008) relataram valores de pH entre 4,54 e 4,13 durante 35 dias de armazenamento de iogurtes batidos com adição de frutas. Akalin *et al.* (2007) encontraram valores de pH entre 4,53 e 4,29 em iogurtes prebióticos durante armazenamento refrigerado de 28 dias.

Os valores médios de acidez das formulações situaram-se entre 1,130 e 1,193% de ácido láctico durante o período de estocagem e atendem ao estabelecido pela legislação brasileira em vigor. Essa legislação afirma que o iogurte deve apresentar uma acidez mínima de 0,6 e máxima de 1,5 grama de ácido láctico por 100 gramas de produto (BRASIL, 2000).

Houve um declínio ( $p \leq 0,05$ ) do pH médio das formulações de 4,448 para 4,240 e um aumento na acidez média de 1,130 para 1,193 % de ácido láctico com o aumento no tempo de estocagem. Efeito semelhante foi encontrado por Aryana e McGrew (2007), Akalin *et al.* (2004), Kailasapathy e Phillips (2008), Buriti *et al.* (2007), Aportela-Palacios *et al.* (2005), Cardarelli *et al.* (2008a); Guven *et al.* (2005); Fuchs (2004) e Haully *et al.* (2005). Esse declínio no pH e o aumento da acidez são resultado da pós-acidificação dos produtos e estão relacionados à continuidade do processo fermentativo pelas bactérias ácido-láticas durante o período de estocagem, com produção de ácido láctico (APORTELA-PALACIOS *et al.*, 2005).

### 5.3.3 Textura

Foram considerados os seguintes parâmetros de textura: dureza (firmeza), coesividade, elasticidade, adesividade e gomosidade. Segundo Gunaserakan e Ak (2003) nem todos os atributos avaliados pelo perfil de textura são válidos para todos os alimentos. Cardarelli (2006) considera que para produtos semi-sólidos o termo firmeza é mais apropriado para designar a força necessária para realizar determinada deformação, ao invés de dureza. Além disso, a autora considera que os parâmetros fraturabilidade e mastigabilidade não são aplicáveis a esse tipo de produto. De fato, Civille e Szczesniak (1973) consideram gomosidade como um atributo para amostras semi-sólidas e mastigabilidade como um atributo para amostras sólidas.

Para se conseguir uma melhor avaliação da influência da inulina e do probiótico na textura dos iogurtes escolheu-se o iogurte firme em detrimento do iogurte batido. Guggisberg *et al.* (2009) também optaram por este tipo de iogurte para caracterizá-lo reologicamente.

Os valores médios de firmeza dos iogurtes durante o período de armazenamento estão dispostos na tabela 8.

**Tabela 8 –** Valores médios de firmeza dos iogurtes (N) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	1,822 ± 0,591	1,874 ± 0,322	1,843 ± 0,157	2,521 ± 0,163	1,985 ± 0,334	2,009 ± 0,427 <sup>B</sup>
7	1,904 ± 0,713	2,253 ± 0,216	1,869 ± 0,168	2,514 ± 0,306	2,093 ± 0,216	2,127 ± 0,435 <sup>A</sup>
14	1,916 ± 0,289	2,200 ± 0,074	1,880 ± 0,166	2,642 ± 0,278	2,048 ± 0,196	2,137 ± 0,347 <sup>A</sup>
21	2,213 ± 0,280	2,092 ± 0,187	1,769 ± 0,135	2,294 ± 0,122	2,001 ± 0,276	2,074 ± 0,273 <sup>A,B</sup>
28	2,098 ± 0,129	2,056 ± 0,347	1,881 ± 0,214	2,413 ± 0,393	2,013 ± 0,248	2,092 ± 0,323 <sup>A,B</sup>
<b>Média</b>	1,991 ± 0,458 <sup>B,C</sup>	2,095 ± 0,272 <sup>D</sup>	1,848 ± 0,168 <sup>C</sup>	2,477 ± 0,284 <sup>A</sup>	2,028 ± 0,250 <sup>D</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A formulação desnatada contendo inulina (formulação 3) mostrou o menor valor médio de firmeza enquanto a formulação contendo apenas o probiótico (formulação 4) teve o maior valor. As formulações desnatadas 2 e 5 apresentaram valores intermediários e não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. A formulação integral somente foi diferente ( $p \leq 0,05$ ) da formulação 4.

O teor de gordura não teve influência ( $p > 0,05$ ) sobre a firmeza dos iogurtes, já que as formulações 1 e 2 não apresentaram diferença. Brennan & Tudorica (2007) também não observaram influência da gordura na firmeza de iogurtes.

A adição de probiótico aumentou ( $p \leq 0,05$ ) a firmeza dos iogurtes já que a formulação 4 (probiótica) apresentou valor maior de firmeza do que a formulação desnatada (formulação 2). Segundo Ganina *et al.* (2007) bactérias probióticas possuem lectina em suas superfícies e podem sintetizar em maior ou menor extensão exopolissacarídeos (EPS). Duboc e Mollet (2001) afirmam que esses EPS agem como agentes texturizantes e estabilizantes, primeiramente aumentando a viscosidade do produto final e depois retraindo água e interagindo com outros constituintes do leite como proteínas e micelas, aumentando a rigidez das micelas de caseína. Schiavão-Souza *et al.* (2007) observaram que a cepa probiótica utilizada no presente estudo (*L. casei*-01, Chr. Hansen) era capaz de produzir exopolissacarídeos. Sendo assim, a produção de EPS pelos probióticos poderia estar relacionada com a maior firmeza encontrada na formulação 4. Cardarelli *et al.* (2008b) também observaram que a adição de *Lactobacillus paracasei* a mousses de chocolate resultou em produtos mais firmes.

A adição de inulina diminuiu ( $p \leq 0,05$ ) a firmeza dos iogurtes já que a formulação 3 apresentou menor valor de firmeza do que a formulação 2. Kim *et al.* (2001) afirmam que a menor firmeza de produtos adicionados de inulina está relacionada à incapacidade da inulina de formar gel após aquecimento (25 a 100 °C) e resfriamento (25 °C) quando sua concentração é baixa (5 e 10%). Paseephol *et al.* (2009) relatam que as moléculas de inulina ficam dispersas dentro das micelas de caseína, interferindo na formação da matriz protéica e sendo então, responsáveis por um gel mais macio.

Fuchs (2004) também observou que a suplementação de iogurte de soja com inulina resultou em uma diminuição da firmeza do produto. El-Nagar *et al.* (2002) observaram que a adição de 5% de inulina provocou uma diminuição da

firmeza em sorvetes com baixo teor de gordura. Paseephol *et al.* (2009) observaram que a adição de 4% de inulina de diferentes graus de polimerização resultou em iogurtes com menor firmeza. Os autores reportaram ainda que o tipo de inulina teve efeito significativo sobre este parâmetro, com as inulinas de maior grau de polimerização resultando em iogurtes com menor firmeza do que aqueles adicionados de inulinas de médio grau de polimerização ou de oligofrutoses. Provavelmente haja uma incompatibilidade entre o polissacarídeo e as proteínas do leite, fazendo com que as forças repulsivas gerem exclusão das moléculas protéicas do domínio ocupado pelo polissacarídeo, resultando em diminuição da concentração de proteína para a formação de gel, e, conseqüentemente, menor firmeza do gel.

A formulação simbiótica (formulação 5) não foi diferente ( $p > 0,05$ ) das formulações integral (1) e desnatada (2). Isso decorre do fato de que, enquanto o probiótico proporcionou um aumento na firmeza, a inulina fez com que este parâmetro diminuísse, resultando em um produto de característica intermediária.

Houve um aumento da firmeza dos iogurtes notada no período de 1 a 7 dias de estocagem ( $p \leq 0,05$ ). No período de 7 a 14 dias de estocagem a firmeza dos iogurtes foi mantida. Após os 14 dias de armazenamento houve uma tendência à diminuição da firmeza dos produtos, sendo que, no 28º dia de estocagem, os valores de firmeza não diferiram ( $p > 0,05$ ) dos valores encontrados inicialmente.

O aumento da firmeza no período inicial de armazenamento pode ser devido ao efeito do abaixamento da temperatura e da interação entre os componentes das formulações, associado ao baixo pH do produto (GONZÁLEZ *et al.*, 1998). Kailasapathy (2006) afirma que a pós-acidificação durante o período de estocagem e conseqüentemente, o rearranjo da caseína, pode resultar em uma estrutura mais compacta e contínua nos iogurtes.

A posterior tendência à diminuição da firmeza dos produtos pode estar relacionada à proteólise. Shihata e Shah (2000) afirmam que a produção de iogurtes é um processo complexo envolvendo mudanças físicas e químicas, incluindo a proteólise, que envolve a progressiva hidrólise da caseína a polipeptídeos, peptídeos e aminoácidos durante as 4 semanas de armazenamento refrigerado. Donkor *et al.* (2007) observaram que o período de armazenamento de iogurtes tem um importante papel na extensão da atividade proteolítica total e que a quantidade de aminoácidos liberada após 28 dias de estocagem era maior do que

nos estágios iniciais de armazenamento. Tunick *et al.* (1995) reportaram que a proteólise levou a uma diminuição nos valores de firmeza em mussarelas.

A semelhança de firmeza entre o primeiro e o 28<sup>o</sup> dia de armazenamento, indica estabilidade dos produtos. Segundo Maruyama *et al.* (2006), a estabilidade da firmeza durante o período de armazenamento é desejada, uma vez que, dessa forma, confirma-se que o produto após algumas semanas de armazenamento continua semelhante ao produto recém-fabricado.

Buriti *et al.* (2008) observaram um aumento significativo nos valores de firmeza durante as duas primeiras semanas de armazenamento de queijo fresco cremoso, sendo que os valores permaneceram estáveis entre a segunda e a terceira semana. Estes resultados são idênticos aos apresentados no presente trabalho. No entanto, Guven *et al.* (2005) e Buriti (2005) observaram que a firmeza dos produtos permaneceu inalterada durante os 28 dias de estocagem, avaliando iogurtes e queijos, respectivamente.

La Torre, Tamime e Muir (2003) obtiveram valores de firmeza na faixa de 1,6 a 2,5N ao avaliarem iogurtes probióticos durante o período de estocagem de 20 dias. Cardarelli (2006) encontrou valores de firmeza entre 1,70 e 3,86N ao analisarem queijos petit-suisse durante 28 dias de estocagem. Os resultados deste estudo estão de acordo com os encontrados na literatura, já que valores médios de 2,009 a 2,137N foram encontrados durante o período de armazenamento de 28 dias.

Os valores médios de coesividade dos iogurtes durante o período de armazenamento estão dispostos na tabela 9.

**Tabela 9** – Valores médios de coesividade dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	0,412 ± 0,033	0,424 ± 0,018	0,404 ± 0,012	0,412 ± 0,016	0,408 ± 0,017	0,412 ± 0,021 <sup>A</sup>
7	0,413 ± 0,049	0,409 ± 0,009	0,407 ± 0,037	0,422 ± 0,035	0,399 ± 0,018	0,410 ± 0,032 <sup>A</sup>
14	0,392 ± 0,011	0,395 ± 0,020	0,399 ± 0,013	0,388 ± 0,016	0,378 ± 0,006	0,390 ± 0,015 <sup>B</sup>
21	0,404 ± 0,008	0,428 ± 0,031	0,419 ± 0,034	0,402 ± 0,011	0,411 ± 0,039	0,412 ± 0,028 <sup>A</sup>
28	0,387 ± 0,010	0,403 ± 0,043	0,387 ± 0,014	0,403 ± 0,043	0,400 ± 0,037	0,396 ± 0,032 <sup>B</sup>
<b>Média</b>	0,402 ± 0,028 <sup>A</sup>	0,412 ± 0,029 <sup>A</sup>	0,403 ± 0,026 <sup>A</sup>	0,405 ± 0,028 <sup>A</sup>	0,399 ± 0,028 <sup>A</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A inulina, o probiótico e o teor de gordura não mostraram efeito sobre a coesividade dos iogurtes já que as formulações não apresentaram diferença ( $p > 0,05$ ) entre si. Domagala *et al.* (2006) também não encontraram diferenças na coesividade de iogurtes integrais e desnatados. Buriti *et al.* (2008) não observaram efeito da adição de *Lactobacillus paracasei* e/ou inulina na coesividade de queijo fresco cremoso.

Durante o período de estocagem, houve alteração da coesividade dos iogurtes ( $p \leq 0,05$ ), sendo observada a diminuição desse parâmetro ao final do período de estocagem. Maruyama *et al.* (2006) afirmam ser possível que os valores de coesividade estejam inversamente relacionados com os valores de firmeza. De fato, enquanto um aumento da firmeza foi observado durante o período inicial de armazenamento, uma diminuição da coesividade também ocorreu. Cardarelli (2006) encontrou correlação entre os parâmetros pH e coesividade, sendo que quanto menor o pH menor a coesividade. Como houve um abaixamento do pH durante o período de armazenamento dos produtos, no presente estudo, houve concomitantemente, uma diminuição nos valores de coesividade.

A matriz protéica do iogurte é a principal responsável pela coesividade dos produtos (TUNICK, 2000). Com o aumento no período de estocagem, a matriz protéica passa por um processo de proteólise, fazendo com que os componentes que formam o produto passem por rearranjos de associações e interações que fazem com que a estrutura dos produtos seja alterada (VAN

HEKKEN *et al.*, 2004). A proteólise altera a integridade estrutural da matriz protéica, levando a uma redução da coesividade (IRUDAYARAJ *et al.*, 1999).

Buriti *et al.* (2008) também observaram uma diminuição significativa da coesividade de queijos aos 14 dias de armazenamento. Maruyama *et al.* (2006) observaram uma diminuição da coesividade de queijos petit-suisse durante um período de armazenamento de 21 dias. Cardarelli (2006) relatou uma diminuição da coesividade de queijos petit-suisse durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

Os valores médios de coesividade obtidos no presente experimento (0,390 a 0,412) estão de acordo com resultados obtidos da literatura. Maruyama *et al.* (2006) obtiveram valores de coesividade entre 0,340 e 0,593 ao avaliarem queijos petit-suisse. Buriti *et al.* (2008) encontraram valores entre 0,462 e 0,547 em queijos. Cardarelli (2006) relatou valores entre 0,277 e 0,398 em queijos petit-suisse.

Os valores médios de elasticidade dos iogurtes durante o período de armazenamento estão dispostos na tabela 10.

**Tabela 10** – Valores médios de elasticidade dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	0,933 ± 0,024	0,936 ± 0,020	0,953 ± 0,028	0,945 ± 0,021	0,975 ± 0,035	0,948 ± 0,029 <sup>B</sup>
7	0,923 ± 0,032	0,935 ± 0,022	0,967 ± 0,036	0,947 ± 0,039	0,962 ± 0,037	0,946 ± 0,036 <sup>B</sup>
14	0,942 ± 0,022	0,942 ± 0,021	0,992 ± 0,014	0,936 ± 0,058	0,990 ± 0,012	0,960 ± 0,039 <sup>A</sup>
21	0,938 ± 0,012	0,944 ± 0,031	0,967 ± 0,040	0,930 ± 0,006	0,983 ± 0,017	0,952 ± 0,031 <sup>A,B</sup>
28	0,943 ± 0,022	0,937 ± 0,020	0,947 ± 0,024	0,947 ± 0,053	0,967 ± 0,024	0,948 ± 0,031 <sup>B</sup>
<b>Média</b>	0,936 ± 0,023 <sup>B</sup>	0,939 ± 0,022 <sup>B</sup>	0,965 ± 0,031 <sup>A</sup>	0,941 ± 0,039 <sup>B</sup>	0,976 ± 0,028 <sup>A</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A adição de inulina fez com que a elasticidade dos iogurtes nos quais foi adicionada (formulações 3 e 5) fosse maior do que para os demais iogurtes estudados ( $p \leq 0,05$ ). Possivelmente a presença de inulina tenha resultado em uma estrutura de gel mais flexível, fazendo com que os iogurtes adicionados deste carboidrato recuperassem mais facilmente a sua forma inicial após o processo de compressão. De fato, Paseephol *et al.* (2009) observaram que quando inulinas de

alto grau de polimerização foram adicionadas a iogurtes, maior recuperação da estrutura foi observada do que para iogurtes desnatados. Os autores utilizaram um reômetro e o parâmetro de recuperação da estrutura foi obtido através da curva de fluxo. Mendoza *et al.* (2001) também observaram que a adição de inulina a linguiças secas fermentadas com baixo teor de gordura resultou em um aumento dos valores de elasticidade dos produtos, quando comparados ao produto de baixo teor de gordura.

As formulações 1, 2 e 4 não apresentaram diferença entre si ( $p > 0,05$ ) indicando que o teor de gordura e a adição da cultura probiótica não tiveram efeito sobre a elasticidade dos iogurtes. Buriti *et al.* (2008) também não observaram influência da adição de *Lactobacillus paracasei* sobre a elasticidade de queijo fresco cremoso. Souza (2006) não obteve influência do teor de gordura na elasticidade de queijos.

Houve aumento da elasticidade dos iogurtes durante o período de 7 a 14 dias de estocagem, com posterior diminuição desse parâmetro, fazendo com que no 28º dia de estocagem os valores não diferissem dos iniciais ( $p > 0,05$ ). Cardarelli (2006) encontrou correlação entre os parâmetros pH e elasticidade, sendo que quanto menor o pH maior a elasticidade. Como houve diminuição do pH durante o período de armazenamento dos produtos, houve concomitantemente, um aumento nos valores de elasticidade durante as primeiras semanas de estocagem.

A posterior diminuição da elasticidade pode estar relacionada à proteólise. Imm *et al.* (2003) observaram que a proteólise poderia ser responsável por diferenças na textura, incluindo a elasticidade, ao estudarem as propriedades texturais de mussarelas de bovinos e caprinos. Hort e Le Grys (2001) afirmam que a quebra da rede protéica causada pela proteólise está relacionada à menor elasticidade dos produtos.

Buriti *et al.* (2008) também observaram um discreto aumento da elasticidade de queijos entre o 1º e o 21º dia de armazenamento, sendo que a variação foi significativa ( $p \leq 0,05$ ) apenas na última semana de amostragem. Maruyama *et al.* (2006) observaram um aumento da elasticidade de queijos petit-suisse durante um período de armazenamento de 21 dias e relataram que esse aumento ocorreu independentemente dos demais parâmetros de textura. Cardarelli (2006) também observou um aumento da elasticidade de queijos petit-suisse durante armazenamento refrigerado de 28 dias.

Os valores médios de elasticidade obtidos no presente experimento (0,946 – 0,960) estão de acordo com resultados obtidos da literatura. Maruyama *et al.* (2006) obtiveram valores de elasticidade entre 0,860 e 0,899 ao avaliarem queijos petit-suisse. Buriti *et al.* (2008) encontraram valores entre 0,855 e 0,904 em queijos. Cardarelli (2006) relatou valores entre 0,846 e 0,887 em queijos petit-suisse.

Os valores médios de adesividade (em módulo) dos iogurtes durante o período de armazenamento estão dispostos na tabela 11. Os valores de adesividade são negativos uma vez que esse parâmetro é uma força medida quando o probe do texturômetro está retornando de seu movimento de compressão (CARDARELLI, 2006).

**Tabela 11** – Valores médios de adesividade (em módulo) dos iogurtes (Ns) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	1,145 ± 0,410	1,085 ± 0,133	1,032 ± 0,081	1,240 ± 0,370	0,994 ± 0,091	1,099 ± 0,263 <sup>B</sup>
7	0,938 ± 0,233	1,193 ± 0,282	1,061 ± 0,182	1,320 ± 0,248	1,087 ± 0,202	1,120 ± 0,257 <sup>A,B</sup>
14	1,052 ± 0,213	1,567 ± 0,161	1,074 ± 0,136	1,296 ± 0,344	1,088 ± 0,153	1,215 ± 0,286 <sup>A</sup>
21	1,192 ± 0,233	1,329 ± 0,199	0,971 ± 0,072	1,180 ± 0,187	1,064 ± 0,179	1,147 ± 0,213 <sup>A,B</sup>
28	1,180 ± 0,169	1,318 ± 0,487	1,144 ± 0,192	1,237 ± 0,241	1,096 ± 0,210	1,195 ± 0,282 <sup>A,B</sup>
<b>Média</b>	1,101 ± 0,270 <sup>B</sup>	1,298 ± 0,315 <sup>A</sup>	1,056 ± 0,146 <sup>B</sup>	1,255 ± 0,278 <sup>A</sup>	1,066 ± 0,169 <sup>B</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Quanto a adesividade, as formulações 2 e 4 apresentaram os maiores valores e não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. As formulações 1, 3 e 5 apresentaram os menores valores e não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si.

As formulações que continham inulina (3 e 5) ou maior teor de gordura (1) apresentaram menores valores de adesividade em relação à formulação desnatada (2). El-Nagar *et al.* (2002) afirmam que o aumento da adesividade está relacionado à formação de um gel mais viscoso. Sendo assim, a adição de inulina e o aumento no teor de gordura poderiam estar relacionados à formação de um gel menos viscoso e, conseqüentemente, menos adesivo. De fato, Altschul (1993) relata que os produtos desnatados apresentam maior viscosidade quando mastigados e

Franck (2002) afirma que a inulina apresenta baixa viscosidade (menos de 2 mPa.s para uma solução a 5% em água). O maior conteúdo de proteína também pode estar relacionado à maior adesividade da formulação desnatada (2) em relação à integral (1) e às contendo inulina em sua composição (3 e 5). Isso porque uma maior concentração de proteína resulta em uma menor quantidade de água livre dentro da rede protéica, o que faz com que os géis liberem menor quantidade de soro e sejam, então, mais adesivos; devido à menor lubrificação (PEREIRA *et al.*, 2003).

A adição de probiótico não teve efeito ( $p > 0,05$ ) sobre a adesividade dos iogurtes formulados já que as formulações 2 e 4 não diferiram entre si. Kailasapathy (2006) afirma que tanto os microorganismos da cultura láctica quanto os probióticos são capazes de produzir EPS, sendo que uma maior quantidade pode ser observada quando o probiótico está presente. Possivelmente a maior produção de EPS pelos probióticos em relação a cultura láctica não exerça influência significativa na adesividade dos produtos. De fato, Hassan *et al.* (2007) não observaram diferenças na adesividade de queijos produzidos com culturas que produziam EPS quando comparadas a outras que não produziam. Buriti *et al.* (2008) também não observaram influência da adição de *Lactobacillus paracasei* sobre a adesividade de queijo fresco cremoso.

Houve uma variação da adesividade dos iogurtes com tendência ao seu aumento durante o período de estocagem, porém, no 28º dia de armazenamento, os valores não diferiram dos iniciais ( $p > 0,05$ ). Cardarelli (2006) encontrou correlação entre os parâmetros pH e adesividade, sendo que quanto menor o pH maior a adesividade. Como houve redução do pH durante o período de armazenamento dos produtos, houve concomitantemente, uma tendência a aumento nos valores de adesividade. O aumento na adesividade dos produtos durante o período de armazenamento pode estar relacionado também à contínua produção de EPS tanto pela cultura láctica (formulações 1,2,3,4 e 5) quanto pelo microorganismo probiótico (formulações 4 e 5). De fato, Uemura *et al.* (1993) *apud* Kailasapathy (2006) afirmam que esses polissacarídeos contribuem para uma textura filante a iogurtes.

Buriti *et al.* (2008) também observaram um aumento da adesividade de queijo fresco cremoso nas duas primeiras semanas de armazenamento, sendo mais pronunciado entre o 1º e o 7º dia. Cardarelli (2006) relatou um aumento da adesividade de queijo petit-suisse durante o armazenamento refrigerado de 28 dias.

Maruyama *et al.* (2006) observaram um aumento ( $p \leq 0,05$ ) da adesividade para todas as formulações de queijos petit-suisse probióticos analisadas, durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

Cardarelli (2006) obteve valores de adesividade entre 1,25 e 5,12 Ns ao avaliar queijos petit suisse durante 28 dias de estocagem. Maruyama *et al.* (2006) encontraram valores de adesividade entre 0,386 e 3,195 Ns (39,36 e 325,7 gfs, respectivamente) para queijos petit suisse durante um período de armazenamento de 21 dias. Os valores encontrados neste estudo (1,099- 1,222 Ns) estão próximos aos valores relatados.

Os valores médios de gomosidade dos iogurtes durante o período de armazenamento estão dispostos na tabela 12.

**Tabela 12** – Valores médios de gomosidade dos iogurtes (N) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	0,738 ± 0,224	0,779 ± 0,077	0,753 ± 0,049	1,069 ± 0,055	0,791 ± 0,137	0,826 ± 0,173 <sup>A</sup>
7	0,716 ± 0,242	0,853 ± 0,125	0,733 ± 0,066	1,024 ± 0,130	0,785 ± 0,071	0,823 ± 0,176 <sup>A</sup>
14	0,781 ± 0,119	1,004 ± 0,055	0,733 ± 0,060	1,077 ± 0,148	0,763 ± 0,063	0,872 ± 0,170 <sup>A</sup>
21	0,756 ± 0,301	0,892 ± 0,063	0,760 ± 0,041	0,932 ± 0,043	0,817 ± 0,067	0,832 ± 0,154 <sup>A</sup>
28	0,808 ± 0,041	0,862 ± 0,160	0,748 ± 0,120	0,960 ± 0,154	0,783 ± 0,042	0,832 ± 0,134 <sup>A</sup>
<b>Média</b>	0,760 ± 0,201 <sup>c</sup>	0,878 ± 0,124 <sup>b</sup>	0,745 ± 0,070 <sup>c</sup>	1,013 ± 0,125 <sup>a</sup>	0,788 ± 0,081 <sup>c</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Quanto à gomosidade as formulações apresentaram diferença ( $p \leq 0,05$ ) entre si, sendo que a formulação probiótica (4) teve o maior valor de gomosidade enquanto as formulações 1, 3 e 5 apresentaram os menores valores. A formulação desnatada (2) apresentou valor intermediário.

A gomosidade é um atributo secundário relacionado aos atributos primários firmeza e coesividade (gomosidade = firmeza x coesividade) e uma vez que os valores de coesividade dos iogurtes foram bastante próximos (0,399 a 0,412) e não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ), os valores de gomosidade foram aproximadamente 40% dos valores de firmeza. O efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico e do

teor de gordura das formulações na firmeza dos produtos foi, portanto, observado na gomosidade dos mesmos. Buriti *et al.* (2008) obtiveram, por sua vez, valores de gomosidade aproximadamente 50% dos valores de firmeza e relataram também que os efeitos mencionados para a firmeza foram observados para a gomosidade dos queijos.

Sendo assim, o teor de gordura e a adição de inulina tiveram efeito sobre a gomosidade dos iogurtes ( $p \leq 0,05$ ) sendo que a formulação integral e aquelas adicionadas de inulina (3 e 5) apresentaram menores valores de gomosidade quando comparadas à formulação desnatada (2). Cardarelli (2006) também observou uma diminuição na gomosidade de queijos petit-suisse quando a inulina era adicionada como único prebiótico aos produtos. Kahyaoglu *et al.* (2005) observaram um aumento da gomosidade de queijos com a diminuição no teor de gordura.

O probiótico teve efeito ( $p \leq 0,05$ ) sobre a gomosidade das formulações, sendo que um aumento desse parâmetro foi observado para a formulação 4. Esse aumento pode estar relacionado à produção de exopolissacarídeos pelos probióticos, tornando o produto mais gomoso. De fato, Khurana e Kanawjia (2007) afirmam que leites fermentados escandinavos apresentam uma consistência gomosa devido a capacidade acidificante e a concomitante produção de EPS pelas culturas mesofílicas utilizadas em sua fabricação. Buriti *et al.* (2005) também constataram um aumento na gomosidade de queijos minas frescal adicionados de *Lactobacillus acidophilus* e ácido láctico.

Não houve alteração da gomosidade dos iogurtes durante o período de estocagem ( $p > 0,05$ ). Maruyama *et al.* (2006) também observaram que uma das formulações de queijo petit-suisse apresentou gomosidade estável durante os 21 dias de armazenamento dos produtos.

#### 5.3.4 Sinérese

Os valores médios de sinérese dos iogurtes durante o período de armazenamento são apresentados na tabela 13.

**Tabela 13** – Valores médios de sinérese dos iogurtes (mL/ 100g de produto) durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	25,245 ± 1,833	23,412 ± 1,672	29,073 ± 3,313	20,757 ± 1,226	24,417 ± 2,441	24,581 ± 3,438 <sup>D</sup>
7	28,845 ± 1,240	23,536 ± 0,279	29,983 ± 2,086	22,378 ± 1,656	27,389 ± 2,862	26,430 ± 3,472 <sup>C</sup>
14	28,472 ± 0,202	25,823 ± 0,737	32,531 ± 2,298	24,336 ± 4,291	28,888 ± 3,009	28,009 ± 3,737 <sup>B</sup>
21	28,908 ± 2,165	26,017 ± 1,705	33,300 ± 3,688	22,988 ± 1,549	31,702 ± 1,681	28,583 ± 4,363 <sup>B</sup>
28	34,481 ± 2,647	26,939 ± 0,526	33,921 ± 3,299	25,871 ± 0,560	31,145 ± 2,206	30,471 ± 4,107 <sup>A</sup>
<b>Média</b>	29,190 ± 3,468 <sup>b</sup>	25,145 ± 1,793 <sup>c</sup>	31,762 ± 3,391 <sup>a</sup>	23,266 ± 2,738 <sup>d</sup>	28,708 ± 3,548 <sup>b</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

A formulação contendo apenas a inulina (formulação 3) apresentou o maior valor de sinérese enquanto a formulação probiótica (4) apresentou o menor valor. As formulações integral (formulação 1) e simbiótica (formulação 5) não apresentaram diferença entre si ( $p > 0,05$ ) tendo valores de sinérese menores ( $p \leq 0,05$ ) do que a formulação 3 e maiores do que as formulações 2 e 4.

A adição de inulina provocou um aumento ( $p \leq 0,05$ ) nos valores de sinérese. Segundo Lucey *et al.* (1998), a presença de uma cadeia longa polissacarídica como a inulina interfere no desenvolvimento de uma estrutura tridimensional de caseína, levando a um gel de menor firmeza e incapaz de reter água. Tolstoguzov (2003) afirma existir uma incompatibilidade entre as proteínas do leite e o polissacarídeo, resultando no efeito mencionado acima. Gee (2005) *apud* Vasiljevic *et al.* (2007) sugere que o prebiótico seja adicionado após o processo fermentativo para que este importante defeito seja prevenido. Guven *et al.* (2005) e Vasiljevic *et al.* (2007) também observaram um aumento da separação de soro de iogurtes adicionados de inulina em relação aos iogurtes controle.

A adição de probiótico provocou uma diminuição nos valores de sinérese ( $p \leq 0,05$ ). Essa diminuição pode estar relacionada à produção de EPS pelos probióticos. De fato, Kailasapathy (2006) afirma que as culturas probióticas produzem exopolissacarídeos (EPS) e que estes atuam como estabilizantes em alimentos, contribuindo para a estrutura de gel dos iogurtes, prevenindo a quebra do gel e a sinérese. Güler-Akin e Akin (2007) também observaram uma redução da

separação de soro em iogurtes formulados com leite de cabra e adicionados de probióticos quando comparados aos iogurtes controles.

A diminuição no conteúdo de gordura provocou uma diminuição nos valores de sinérese ( $p \leq 0,05$ ). Vélez-Ruiz *et al.* (2005) também observaram que os valores de sinérese aumentaram com o aumento no teor de gordura. Uprit e Mishra (2004) afirmam que ocorre um aumento na firmeza com a diminuição do conteúdo de gordura e atribuem isso a uma matriz protéica com menor quantidade de espaços, os quais seriam ocupados por glóbulos de gordura do leite, resultando em menores valores de sinérese.

Além disso, os resultados de textura indicaram a formulação probiótica (4) como sendo a mais firme dentre as formulações estudadas seguida da formulação 2 e isto pode estar relacionado com os menores valores de sinérese encontrados para essas formulações e, portanto, ao efeito do probiótico e do teor de gordura sobre a sinérese dos produtos. Segundo Brennan e Tudorica (2007) uma maior firmeza faz com que os iogurtes sejam menos susceptíveis a rearranjos dentro de sua estrutura e, conseqüentemente, menos susceptíveis à separação de soro.

A sinérese aumentou ( $p \leq 0,05$ ) com o aumento no período de estocagem. Achanta *et al.* (2007) atribuem o aumento da sinérese ao decréscimo do pH durante a estocagem, o que provoca contração na matriz micelar de caseína, aumentando então a expulsão do soro. Resultados semelhantes foram encontrados por Aryana e McGrew (2007), Aryana *et al.* (2007), Aportela-Palacios *et al.* (2005), Vasiljevic *et al.* (2007) e Salvador e Fiszman (2004).

Para Aportela-Palacios *et al.* (2005) valores de sinérese abaixo de 39% podem ser considerados satisfatórios. Os valores médios obtidos nesse experimento (24,58 a 30,47%) se encontraram abaixo do recomendado. Brennan & Tudorica (2007) obtiveram valores de sinérese entre 40 e 50% ao utilizarem inulina como substituto de gordura em iogurtes. Aryana e McGrew (2007) obtiveram valores de sinérese de 18,3 a 26,67% ao avaliarem os atributos de qualidade de iogurtes com *Lactobacillus casei* e vários prebióticos. Vasiljevic *et al.* (2007) obtiveram valores de sinérese para iogurtes adicionados de inulina entre 20 e 50% durante um período de armazenamento de 4 semanas.

### 5.3.5 Microbiologia

#### 5.3.5.1 Contagem de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

As contagens médias de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* dos iogurtes durante o período de armazenamento foram convertidas à escala logarítmica antes que os dados fossem submetidos às análises estatísticas e estão apresentadas na tabela 14.

**Tabela 14** – Contagens médias (log UFC mL<sup>-1</sup>) de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	9,362 ±0,383	9,349 ±0,062	9,306 ±0,250	9,392 ±0,182	9,130 ±0,118	9,310 ±0,232 <sup>A</sup>
7	9,315 ±0,176	9,301 ±0,050	9,328 ±0,114	9,320 ±0,166	9,299 ±0,066	9,313 ±0,117 <sup>A</sup>
14	9,130 ±0,141	9,189 ±0,127	9,144 ±0,268	9,131 ±0,300	9,218±0,174	9,162 ±0,202 <sup>B</sup>
21	9,096 ±0,110	9,272 ±0,189	9,342 ±0,079	9,242 ±0,072	9,218 ±0,0314	9,234 ±0,131 <sup>AB</sup>
28	9,214 ±0,036	9,360 ±0,039	9,381 ±0,288	9,281 ±0,169	9,298 ±0,208	9,307 ±0,176 <sup>A</sup>
<b>Média</b>	9,223 ±0,217 <sup>a</sup>	9,294 ±0,119 <sup>a</sup>	9,300 ±0,219 <sup>a</sup>	9,273 ±0,199 <sup>a</sup>	9,232 ±0,142 <sup>a</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Determinação em ágar M17-lactose, 45 0C/ 24 horas, aerobiose

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*)

**Tabela 15** – Contagens médias (log UFC mL<sup>-1</sup>) de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* em iogurtes\*

Produto**	Tempo Médio de Fabricação (dias)***	Contagem de <i>Streptococcus thermophilus</i> (log UFC mL <sup>-1</sup> )
A	20	8,534 ± 0,062
B	22	8,054 ± 1,283
C	15	7,889 ± 0,513
D	19	7,297 ± 0,259
E	17	7,977 ± 0,458
F	22	7,463 ± 0,008
G	15	8,738 ± 0,346
H	17	8,616 ± 0,154

\* Média de 4 amostras (1 a cada semana por 4 semanas). Determinação em ágar M17-lactose, 45 0C/ 24 horas, aerobiose

\*\* Produto: A (iogurte natural desnatado); B (iogurte natural desnatado); C (iogurte integral adicionado de fibras/ saborizado); D (iogurte integral probiótico/ saborizado); E (iogurte natural desnatado); F (iogurte natural desnatado); G (iogurte natural desnatado); H (iogurte natural desnatado)

\*\*\* Tempo de vida útil (dias) determinado pelo fabricante: A (45), B (45), C (45), D (45), E (35), F (45), G (47), H (35)

Os iogurtes avaliados se encontravam com tempo de fabricação de 15 a 22 dias. As médias de contagens obtidas variaram de 7,297 a 8,738 log UFC mL<sup>-1</sup>. No presente experimento foram obtidos valores superiores aos encontrados comercialmente para todas as formulações (9,22 a 9,30 log UFC mL<sup>-1</sup>).

### 5.3.5.2 Contagem de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*

As contagens médias de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dos iogurtes durante o período de armazenamento foram convertidas à escala logarítmica antes que os dados fossem analisados estatisticamente e estão apresentadas na tabela 16.

**Tabela 16** – Contagens médias (log UFC mL<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**					Média
	1	2	3	4	5	
1	4,883 ±0,049	5,376 ±0,054	5,161 ±0,029	5,424 ±0,065	5,164 ±0,034	5,201 ±0,202 <sup>AB</sup>
7	4,950 ±0,015	5,500 ±0,148	4,892 ±0,363	5,343 ±0,029	4,900 ±0,343	5,117 ±0,333 <sup>B</sup>
14	4,985 ±0,051	5,377 ±0,043	5,193 ±0,093	5,329 ±0,108	5,191 ±0,084	5,215 ±0,157 <sup>A</sup>
21	4,969 ±0,056	5,450 ±0,103	5,247 ±0,251	5,308 ±0,104	5,233 ±0,260	5,241 ±0,224 <sup>A</sup>
28	4,859 ±0,072	5,311 ±0,108	5,051 ±0,129	5,248 ±0,084	5,133 ±0,029	5,121 ±0,173 <sup>B</sup>
<b>Média</b>	4,929 ±0,069 <sup>c</sup>	5,400 ±0,111 <sup>a</sup>	5,109 ±0,227 <sup>b</sup>	5,330 ±0,111 <sup>a</sup>	5,124 ±0,212 <sup>b</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Determinação em ágar MRS acidificado (pH 5,2), 45 OC/ 72 horas, anaerobiose

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*)

Houve diferença na viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* dentre os diferentes tipos de iogurtes, sendo que as formulações 2 e 4 apresentaram a maior contagem e não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. A formulação integral apresentou o menor valor. As formulações 3 e 5 apresentaram valores intermediários e não diferiram entre si ( $p > 0,05$ ).

As diferenças encontradas podem estar relacionadas ao teor de lactose presente nas formulações. Lourens-Hattingh e Viljoen (2001) afirmam que o *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* é o principal responsável pela acidificação de leites fermentados. Decorrente disso é possível prever que naquelas formulações onde existia maior quantidade de lactose, este microorganismo teve melhores condições de se desenvolver e, conseqüentemente, apresentou maior viabilidade.

Özer *et al.* (2005) e Vasiljevic *et al.* (2007) concluíram que a viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* não era afetada pela adição de inulina a iogurtes. Özer *et al.* (2005) obtiveram ainda comportamento semelhante quanto à contagem de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* entre iogurtes probióticos e iogurtes controle. Güller-Akin e Akin (2007) não observaram influência da adição de *Lactobacillus acidophilus* e/ou *Lactobacillus paracasei ssp. casei* sobre a viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* em iogurtes formulados com leite de cabra. Salvador e Fiszman (2004) observaram contagens de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* semelhantes em iogurtes integrais e desnatados.

Houve aumento na viabilidade deste microorganismo durante o tempo de estocagem ( $p \leq 0,05$ ), porém, no 28º dia de armazenamento os valores não diferiram dos iniciais ( $p > 0,05$ ). Davidson *et al.* (2000) também reportaram manutenção da viabilidade deste microorganismo em iogurtes congelados. Vinderola *et al.* (2000) observaram contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* semelhantes ao primeiro e último dia de estocagem em iogurtes argentinos. Lourens-Hattingh e Viljeon (2001) afirmam que os lactobacilos toleram valores de pH na faixa de 3,5-3,8, o que pode explicar a manutenção na viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* neste estudo, pois nenhuma das formulações alcançou valores tão baixos de pH.

Ao contrário, alguns autores relatam declínio na contagem desse microorganismo durante o período de estocagem dos produtos (AKALIN *et al.*, 2004; ÖZER *et al.*, 2005; GÜLER-AKIN; AKIN, 2007, KRISTO *et al.*, 2003).

As contagens médias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* encontradas durante o período de estocagem neste estudo podem ser consideradas baixas (5,117 a 5,241 log UFC por mililitro). No entanto, Akalin *et al.* (2007) encontraram valores similares aos observados neste estudo (5,00 a 6,04 log UFC por mililitro) utilizando a mesma cultura láctica. Portanto, as baixas contagens encontradas não estão relacionadas à baixa sobrevivência deste microorganismo nos iogurtes formulados e sim à sua menor concentração na cultura utilizada como láctica.

Samona e Robinson (1994) afirmam que as culturas tradicionais de iogurtes podem suprimir a sobrevivência de algumas bactérias probióticas durante a estocagem refrigerada. Considerando as informações técnicas cedidas pela Christian Hansen (Anexo C), a cultura selecionada para este estudo protege os probióticos devido à sua baixa pós-acidificação. De fato, Akalin *et al.* (2007) relatam baixo conteúdo de ácido láctico em iogurtes produzidos com a mesma cultura láctica deste estudo e atribuem o fato às baixas contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* encontradas.

Baixas contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* são consideradas vantajosas para a viabilidade de microorganismos probióticos, já que este pode diminuir consideravelmente o pH durante a estocagem, o que é considerado um efeito adverso na viabilidade dos probióticos (SHAH *et al.*, 1995). De acordo com Dave e Shah (1997), o peróxido de hidrogênio produzido pelo

*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* é o principal fator relacionado com a redução na viabilidade de microorganismos probióticos durante estocagem refrigerada.

Kailasapathy e Phillips (2008) relatam que atualmente há a utilização de culturas sem a adição de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, como a cultura ABT, que contém *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus thermophilus*. É importante salientar, no entanto, que na legislação brasileira, para ser considerado iogurte, o produto deve possuir *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* (BRASIL, 2000).

No presente estudo, as contagens médias de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* permaneceram abaixo de 6 log UFC por mililitro do produto, o que se traduz em valores inferiores ao estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2000). No entanto, é importante mencionar que esta legislação não faz distinção entre os microorganismos utilizados na cultura láctica devendo-se apenas obter um total de  $10^7$  UFC de bactérias lácticas por mililitro do produto. Sendo assim, os iogurtes obtidos respeitaram a legislação, pois as contagens de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* foram superiores a  $10^9$  UFC por mililitro do produto.

Foram avaliados iogurtes comerciais quanto a viabilidade de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e os resultados estão dispostos na tabela 17. A intenção foi comparar os resultados obtidos neste estudo com as contagens normalmente encontradas comercialmente e observar se no Brasil há a utilização de menores contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* como forma de evitar uma pós-acidificação excessiva. Foi adquirida uma amostra de cada produto (A a H) por semana, sendo de lotes diferentes, durante 4 semanas, totalizando 4 amostras de cada produto analisadas.

**Tabela 17** – Contagens médias (log UFC mL<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* em iogurtes comerciais\*

Produto**	Tempo Médio de Fabricação (dias)***	Contagem de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (log UFC mL <sup>-1</sup> )
A	20	5,104 ± 0,077
B	22	5,013 ± 0,536
C	15	6,682 ± 0,302
D	19	7,031 ± 0,977
E	17	7,977 ± 0,458
F	22	4,000 ± 0,182
G	15	4,415 ± 0,006
H	17	6,431 ± 0,148

\* Média de 4 amostras (1 a cada semana por 4 semanas). Determinação em ágar MRS acidificado (pH 5,2), 45 °C/ 72 horas, anaerobiose

\*\* Produto: A (iogurte natural desnatado); B (iogurte natural desnatado); C (iogurte integral adicionado de fibras/ saborizado); D (iogurte integral probiótico/ saborizado); E (iogurte natural desnatado); F (iogurte natural desnatado); G (iogurte natural desnatado); H (iogurte natural desnatado)

\*\*\* Tempo de vida útil (dias) determinado pelo fabricante: A (45), B (45), C (45), D (45), E (35), F (45), G (47), H (35)

Os iogurtes avaliados se encontravam na faixa de tempo de fabricação de 15 a 22 dias. As contagens médias obtidas situaram-se entre 4,00 e 7,977 log UFC mL<sup>-1</sup>. Foi possível observar que os iogurtes naturais, no geral, apresentavam menores contagens de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Isso provavelmente porque uma acidificação mais acentuada seria mais facilmente percebida nesse tipo de produto do que naqueles onde houvesse adição de açúcar e/ou saborizantes. De fato, Ordóñez *et al.* (2005) afirmam que o gosto ácido é dissimulado quando são acrescentados frutas ou outros ingredientes. As contagens médias obtidas neste experimento (5,117 a 5,241 log UFC por mililitro) estão dentro dos valores encontrados para 50% dos iogurtes comerciais (saborizados ou naturais) avaliados e 67% dos iogurtes naturais avaliados.

### 5.3.5.3 Contagem de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

As contagens médias de *L. paracasei* ssp. *paracasei* durante o período de armazenamento foram convertidas à escala logarítmica antes que os dados fossem submetidos à análise estatística e estão reportadas na tabela 18.

**Tabela 18** – Contagens médias (log UFC mL<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* dos iogurtes durante o período de armazenamento a 4°C\*

Tempo (dias)	Formulação**		Média
	4	5	
1	8,194 ±0,546	8,371 ±0,795	8,282 ±0,657 <sup>A</sup>
7	8,193 ±0,444	7,948 ±0,131	8,071 ±0,429 <sup>A,B</sup>
14	8,036 ±0,180	7,889 ±0,411	7,962 ±0,312 <sup>B</sup>
21	8,079 ±0,235	7,674 ±0,062	7,877 ±0,267 <sup>B</sup>
28	8,285 ±0,262	7,929 ±0,357	8,107 ±0,352 <sup>A,B</sup>
<b>Média</b>	8,157 ±0,347 <sup>a</sup>	7,962 ±0,466 <sup>a</sup>	

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Determinação em ágar MRS vancomicina, 37 °C/ 72 horas, anaerobiose

\*\* Formulações: 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Comparando-se as formulações 4 e 5 verificou-se que não houve efeito ( $p > 0,05$ ) do prebiótico sobre a viabilidade do probiótico. Cardarelli *et al.* (2008a) observaram que a presença de prebióticos (inulina e oligofrutose) levou a uma pequena ou ausente queda na viabilidade de *B. animalis* ssp. *lactis* e *L. acidophilus* comparado ao produto controle durante a estocagem dos queijos *petit-suisse*. Aragon-Alegro *et al.* (2007) obtiveram populações constantes de *L. paracasei* durante a estocagem refrigerada, tanto em mousses probióticos quanto nos simbióticos, sendo que aos 21 dias de estocagem a população probiótica foi significativamente maior no produto probiótico do que no simbiótico. Akalin *et al.* (2007) não observaram efeito significativo de 1,5% de FOS na viabilidade de *B. animalis* em iogurtes probióticos.

Ao contrário do que foi observado neste estudo, alguns autores reportaram que prebióticos como a inulina são capazes de aumentar a viabilidade de microorganismos probióticos (*Lactobacillus casei*; *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum*; *Lactobacillus acidophilus* LA-5; *Bifidobacterium bifidum* BB-12; *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10; *Lactobacillus casei* LAFTI L26) durante a fermentação e estocagem de iogurtes e outros produtos lácteos (ARYANA; McGREW, 2007; AKALIN *et al.*, 2004; ÖZER *et al.*, 2005; DONKOR *et al.*, 2007;

AKIN *et al.*, 2007). As suposições para o aumento de viabilidade seriam que os prebióticos proveriam os probióticos com nutrientes adicionais (MAKRAS *et al.*, 2005) ou teriam capacidade de diminuir o efeito inibitório do ambiente (DESAI *et al.*, 2004).

A ação do prebiótico sobre as bactérias probióticas está relacionada ao seu grau de polimerização. Hopkins *et al.* (1998) reportaram que galactooligossacarídeos (GOS) e frutooligossacarídeos (FOS) com menor grau de polimerização eram mais eficientes no crescimento de bifidobactérias. Em contraste, carboidratos com maiores graus de polimerização eram substratos pobres para o crescimento dos probióticos. Segundo Bruno *et al.* (2002), não há pesquisa suficiente que demonstre o mecanismo de utilização dos carboidratos pelos probióticos. No entanto, se considera que o sistema de transporte de substratos seja mais eficiente para fontes de carboidratos diméricas ou oligoméricas.

Gibson e Wang (1994) reportaram que oligossacarídeos, que têm grau de polimerização de 4, tiveram maior efeito bifidogênico do que carboidratos de maior peso molecular como a inulina. Segundo Kaplan e Hutkins (2000), a utilização de FOS por bifidobactérias é maior para graus de polimerização menores do que 6.

Shin *et al.* (2000) observaram que a inulina foi a menos efetiva para estimular o crescimento de *Bifidobacterium* Bf-1 e Bf-6 dentre as fontes de carboidratos testadas em leite desnatado e que concentrações de 5% de inulina foram necessárias para observar um aumento ( $p \leq 0,05$ ) no tempo médio de duplicação dos probióticos.

Buriti *et al.* (2007) observaram que a presença de 7% de inulina HP-gel (DP médio 23) em queijos não teve implicações no crescimento e viabilidade de *Lactobacillus paracasei*. Donkor *et al.* (2007), por sua vez, encontraram que a concentração inicial de *L. casei* L26 foi afetada pela adição de prebióticos, sendo que a inulina ST (DP médio 10) promoveu o crescimento dos probióticos em concentrações de 0,5 a 1,5%. Os resultados obtidos nos estudos mencionados demonstram que para os *Lactobacillus* o grau de polimerização do prebiótico é importante para que haja ação deste sobre os probióticos.

A inulina utilizada no presente estudo tinha grau de polimerização médio de 23 e foi utilizada em uma concentração de 2%, o que pode explicar o efeito não significativo desta sobre o probiótico. Além disso, o meio base utilizado na formulação dos iogurtes foi o leite em pó. Fuchs *et al.* (2005) sugerem que a

utilização de leite em pó gera um meio rico em lactose, que é o substrato preferencial das bactérias ácido-láticas, e que esta lactose pode exercer o mesmo efeito protetor que a inulina.

Houve uma diminuição significativa da contagem do microorganismo probiótico com o aumento no tempo de estocagem ( $p \leq 0,05$ ), porém, no 28º dia de armazenamento as contagens não diferiram das iniciais ( $p > 0,05$ ). Donkor *et al.* (2006) observaram comportamento semelhante em iogurtes probióticos adicionados de *Lactobacillus acidophilus* L10, com diminuição significativa da viabilidade do probiótico durante os períodos médios de estocagem e posterior recuperação com concentrações finais semelhantes às iniciais. Os autores ainda relataram contagens constantes de *Lactobacillus paracasei* L26 durante a estocagem de iogurtes e atribuíram esse fato à alta quantidade de aminoácidos livres liberada durante o armazenamento. Cardarelli *et al.* (2008b) obtiveram resultados similares para *Lactobacillus paracasei* em mousses de chocolate. Akalin *et al.* (2004) não observaram diferenças ( $p > 0,05$ ) na viabilidade de *B. animalis* em iogurtes ao final dos 28 dias de estocagem.

Por outro lado, Akalin *et al.* (2007) reportaram declínio nas contagens de *Lactobacillus acidophilus* durante o tempo de estocagem de iogurtes. Declínio nas contagens também foi encontrado por Aryana e McGrew (2007) e Cardarelli *et al.* (2008a) em iogurtes e queijos petit-suisse, respectivamente.

As diferenças estão relacionadas ao tipo de microorganismo utilizado como probiótico e às condições ambientais existentes no produto. Kailasapathy e Phillips (2008) relataram uma maior viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* quando o pH dos produtos se encontrava entre 4,1 e 4,5 durante a estocagem a 4°C. Decorrente disso, os valores de pH encontrados neste estudo, possivelmente não acarretariam alterações na viabilidade do microorganismo probiótico utilizado, fazendo com que os iogurtes formulados apresentassem condições ambientais adequadas.

Muitos estudos têm demonstrado baixa viabilidade de probióticos em iogurtes (DAVE; SHAH, 1997; LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; SHAH, 2000; SHAH *et al.*, 1995; VINDEROLA *et al.*, 2000; BARRETO *et al.*, 2003; GUEIMONDE *et al.*, 2004; IBRAHIM; CARR, 2006). Este estudo encontrou, no entanto, que os probióticos mantiveram um nível satisfatório de viabilidade durante a fabricação e estocagem do produto (7,877-8,282 log UFC mL<sup>-1</sup>). Considera-se como valores

terapêuticos  $6 \log \text{ UFC mL}^{-1}$  (DONKOR *et al.*, 2007), portanto, os iogurtes do presente estudo apresentaram contagens do probiótico acima do valor requerido para considerá-los alimentos probióticos.

A legislação brasileira considera um alimento probiótico aquele que contém uma quantidade mínima viável do probiótico na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na porção diária (BRASIL, 2007). Para as formulações estudadas, uma quantidade de 100 gramas diários já permitiria sua classificação como alimento probiótico.

Outros estudos também relatam contagens semelhantes às apresentadas no presente trabalho. Donkor *et al.* (2006) obtiveram contagens superiores a 8 e 7  $\log \text{ UFC g}^{-1}$  para *Lactobacillus acidophilus* L10 e *Lactobacillus casei* L26, respectivamente, ao formularem iogurtes probióticos. Aragon-Alegro *et al.* (2007) encontraram contagens superiores a 7  $\log \text{ UFC g}^{-1}$  de *Lactobacillus paracasei* em mousses de chocolate probióticos e simbióticos. Aryana e McGrew (2007) relataram contagens entre 6,9 e 7,6  $\log \text{ UFC g}^{-1}$  de *Lactobacillus casei* ao estudarem o efeito de vários prebióticos nos atributos de qualidade de iogurtes probióticos.

Com as contagens obtidas é possível observar que houve uma boa compatibilidade do probiótico com a cultura láctica utilizada e que os iogurtes probióticos obtidos poderiam exercer o efeito benéfico quando consumidos regularmente.

#### 5.3.5.4 Coliformes e bolores e leveduras

Neste estudo, coliformes totais e coliformes a  $45^\circ\text{C}$  não foram encontrados em nenhuma das formulações, nem ao primeiro dia nem no 28º dia de estocagem.

As contagens médias de bolores e leveduras nos iogurtes estão dispostas na tabela 19.

**Tabela 19**– Contagens médias (UFC mL<sup>-1</sup>) de bolores e leveduras nos iogurtes\*

Formulação**	Contagem (Dia 1)	Contagem (Dia 28)
1	12,00 ± 1,5 <sup>Aa</sup>	10,00 ± 1,5 <sup>Aa</sup>
2	10,00 ± 1,5 <sup>Aa</sup>	10,00 ± 1,5 <sup>Aa</sup>
3	10,00 ± 1,5 <sup>Aa</sup>	12,00 ± 1,7 <sup>Aa</sup>
4	12,00 ± 1,3 <sup>Aa</sup>	<1,00 ± 0,0 <sup>Bb</sup>
5	12,00 ± 1,3 <sup>Aa</sup>	<1,00 ± 0,0 <sup>Bb</sup>

\* Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras maiúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Médias ± desvio padrão na mesma linha acompanhadas de letras minúsculas iguais não diferem a  $p \leq 0,05$ . Determinação em ágar batata glicose 2% acidificado (pH 3,5), 250C, 7 dias , aerobiose

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Bolores e leveduras foram encontrados em todas as formulações no primeiro dia de estocagem, porém, em valores inferiores ao máximo permitido pela legislação brasileira (BRASIL, 2000). Em geral, os leites fermentados têm pH e concentração de ácido láctico favoráveis ao crescimento de bolores e leveduras como microorganismos deteriorantes (VARNAM; SUTHERLAND, 1994). Não houve diferença entre as diferentes formulações ( $p > 0,05$ ) quanto à presença de bolores e leveduras, considerando o primeiro dia de armazenamento.

Nas formulações sem adição do probiótico (1,2 e 3) os valores iniciais foram mantidos durante os 28 dias de estocagem. Nos produtos com a adição de probiótico (4 e 5) estes microorganismos não foram encontrados ao final da estocagem. Shah (2000) relata que os microorganismos probióticos podem ser úteis por possuírem atividade inibitória através da criação de um ambiente hostil para os microorganismos patogênicos e deteriorantes presentes.

Aragon-Alegro e colaboradores (2007) estudaram mousses de chocolate e observaram que bolores e leveduras foram encontrados após 14 dias de estocagem nos produtos controle e 21 dias nos produtos adicionados de probióticos. Buriti (2005) encontrou contagens menores de coliformes totais em queijos adicionados de probióticos e concluiu que o *Lactobacillus paracasei* tem um efeito inibitório sobre os coliformes. Pidcock *et al.* (2002) observaram uma diminuição de 2 logs nas populações de *E. coli* de salames, quando cepas de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* foram adicionadas separadamente ou em co-cultura com a cultura láctica. Souza (2006) observou que a adição da bactéria probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5 a queijos minas frescal

evitou a multiplicação de *Staphylococcus* spp., conferindo aos produtos maior proteção.

Cardarelli (2006) encontrou contagens de bolores e leveduras na faixa de 0,95 – 2,19 log UFC g<sup>-1</sup> ao analisarem queijos petit-suisse durante armazenamento refrigerado de 28 dias. Esses resultados se assemelham aos encontrados no presente estudo (1 log UFC mL<sup>-1</sup>).

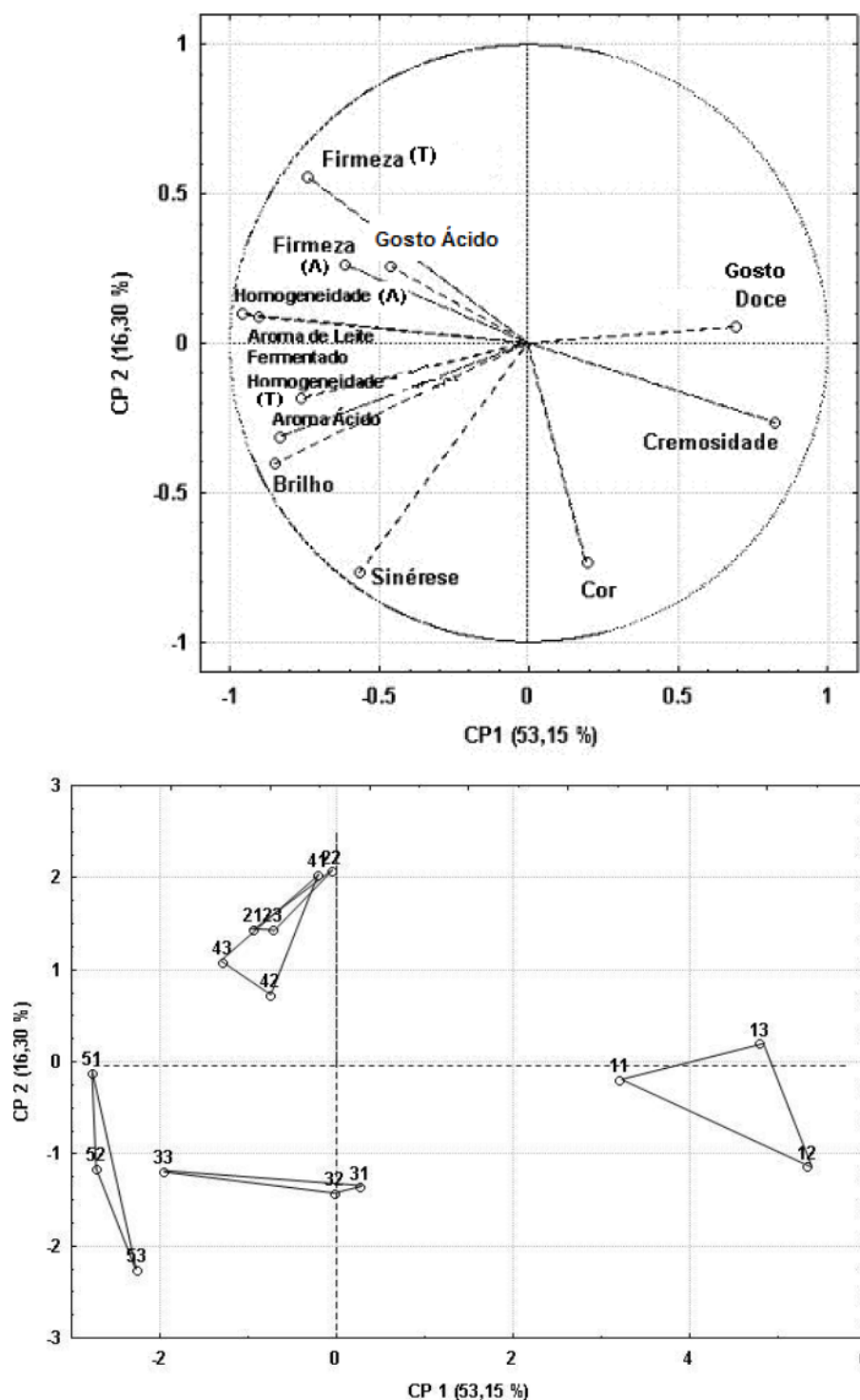
## 5.4 ANÁLISE SENSORIAL

### 5.4.1 Análise Descritiva Quantitativa

Os resultados da ADQ estão representados pelos gráficos de análise dos componentes principais (ACP) (figuras 10 e 11) e aranha (figura 12).

As figuras 10a e 11a mostram as projeções dos atributos sensoriais sobre os planos fatoriais (CP1 x CP2) e (CP1 x CP3), respectivamente, enquanto as figuras 10b e 11b mostram as projeções das formulações de iogurte para os mesmos planos.

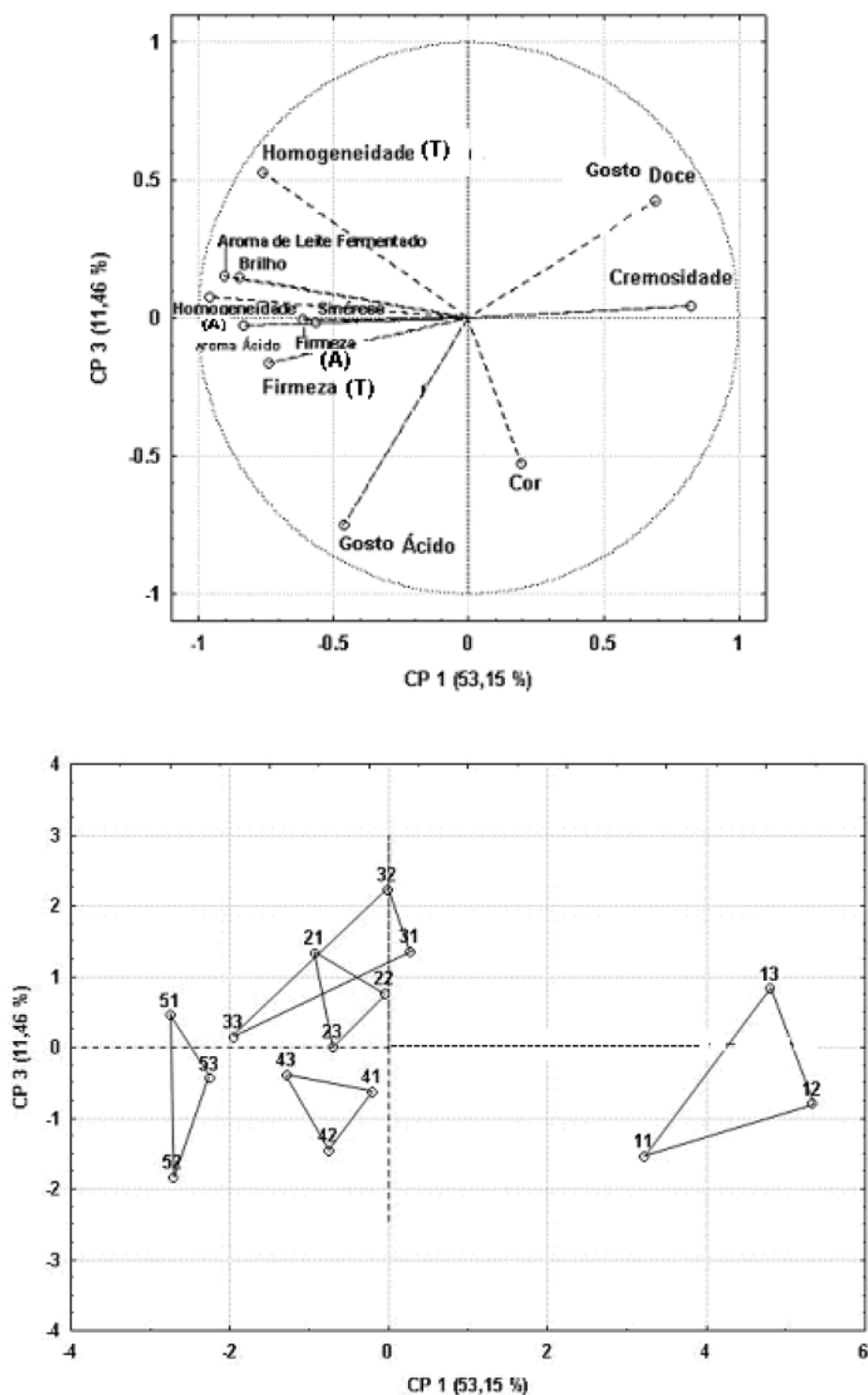
O primeiro componente principal (CP1) explicou 53,15% da variabilidade total contida nas variáveis originais, o segundo componente principal (CP2) explicou 16,30% e o terceiro componente principal (CP3) explicou 11,46%, cujos autovalores foram iguais ou superiores a 1, totalizando 80,91% de explicação. Segundo Lawless e Heymann (1998) é recomendável seguir o critério de Kaiser para determinar o número de dimensões a serem consideradas. Este critério considera que componentes principais com autovalores superiores a 1 devem ser mantidos e interpretados. Já Rosenthal (1999) afirma que um resultado adequado é aquele em que no mínimo 70 a 80% da variação entre as amostras é explicada nos primeiros três componentes principais. O presente estudo está de acordo com o sugerido pelos autores mencionados acima.



**Figura 10** – Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e formulações de iogurte (b) sobre o plano fatorial (CP1 x CP2)\*

\* Formulações e repetições: 11, 12, 13 (iogurte integral); 21, 22, 23 (iogurte desnatado); 31, 32, 33 (iogurte desnatado adicionado de inulina); 41, 42, 43 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 51, 52, 53 (iogurte desnatado adicionado de inulina e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

\*\* (A) corresponde a atributos avaliados na aparência e (T) a atributos avaliados na textura



**Figura 11** – Projeções dos Atributos Sensoriais (a) e formulações de iogurte (b) sobre o plano fatorial (CP1 x CP3)\*

\* Formulações e repetições: 11, 12, 13 (iogurte integral); 21, 22, 23 (iogurte desnatado); 31, 32, 33 (iogurte desnatado adicionado de inulina); 41, 42, 43 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 51, 52, 53 (iogurte desnatado adicionado de inulina e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

\*\* (A) corresponde a atributos avaliados na aparência e (T) a atributos avaliados na textura

Na ACP os atributos são representados por vetores, sendo que os vetores que se apresentam longos, ao serem decompostos em um eixo componente principal (CP), apresentam alta correlação com o eixo, explicando mais a variabilidade entre as formulações mostradas naquele CP. Tais fatos podem ser confirmados pelos valores de correlações dos atributos com os eixos CP (tabela 20) e indicam a importância ou poder de cada atributo em cada componente principal. Foram considerados valores superiores a 0,6 (em módulo) como importantes. Os atributos com correlação negativa localizam-se à esquerda e aqueles com correlação positiva estão à direita no eixo horizontal (CP1) ou mais abaixo e mais acima no eixo vertical (CP2 ou CP3) , respectivamente.

**Tabela 20** – Correlações dos atributos com os eixos componentes principais (CP)\*

Atributos	CP1	CP2	CP3
Cor	0,192	<b>-0,733</b>	-0,526
Brilho	<b>-0,850</b>	-0,404	0,148
Sinérese	-0,566	<b>-0,768</b>	-0,019
Homogeneidade (A)	<b>-0,960</b>	0,101	0,074
Firmeza (A)	<b>-0,612</b>	0,261	-0,006
Aroma Ácido	<b>-0,833</b>	-0,316	-0,029
Aroma de Leite Fermentado	<b>-0,902</b>	0,086	0,152
Gosto Ácido	-0,460	0,255	<b>-0,749</b>
Gosto Doce	<b>0,690</b>	0,055	0,427
Creiosidade	<b>0,824</b>	-0,265	0,046
Homogeneidade (T)	<b>-0,761</b>	-0,187	0,526
Firmeza (T)	<b>-0,742</b>	0,555	-0,162

\* Valores em negrito correspondem a correlações superiores a 0,6 (em módulo)

\*\* (A) corresponde a atributos avaliados na aparência e (T) a atributos avaliados na textura

No primeiro CP, em ordem decrescente de importância (contribuição discriminante) e com correlação negativa encontram-se os atributos homogeneidade (aparência), aroma de leite fermentado, brilho, aroma ácido, homogeneidade (textura), firmeza (textura) e firmeza (aparência) e com correlação positiva cremosidade e gosto doce. No segundo CP, os principais atributos foram sinérese e cor, os quais apresentaram correlação negativa com o eixo. No terceiro CP, gosto ácido foi o único atributo considerado e apresentou correlação negativa com o eixo.

Nas figuras 10b e 11b, cada formulação de iogurte está representada por um triângulo, onde cada vértice corresponde ao valor médio atribuído pela equipe sensorial em cada repetição. Assim, se os vértices estiverem próximos significa que houve repetibilidade da avaliação.

Considerando o plano fatorial CP1 x CP2 (figura 10b) a formulação que apresentou melhor repetibilidade foi a 2, seguida pelas formulações 3, 5, 4 e 1, respectivamente. Considerando o plano fatorial CP1 x CP3 (figura 11b) a formulação que apresentou melhor repetibilidade também foi a 2, seguida pelas formulações 4, 5, 3 e 1, respectivamente. Diferenças na repetibilidade podem estar relacionadas ao treinamento dos provadores. Possivelmente a falta de homogeneização da gordura presente na formulação integral (formulação 1) também tenha ocasionado maiores diferenças entre as repetições, já que não se utilizou um homogeneizador durante a formulação dos iogurtes. A homogeneidade do meio base da formulação 2, desnatada e sem adição de probiótico ou prebiótico, pode ter contribuído para a avaliação da formulação nas diferentes repetições. Contudo, embora diferenças tenham sido encontradas, os triângulos se apresentaram pequenos demonstrando que, no geral, houve boa repetibilidade nos julgamentos.

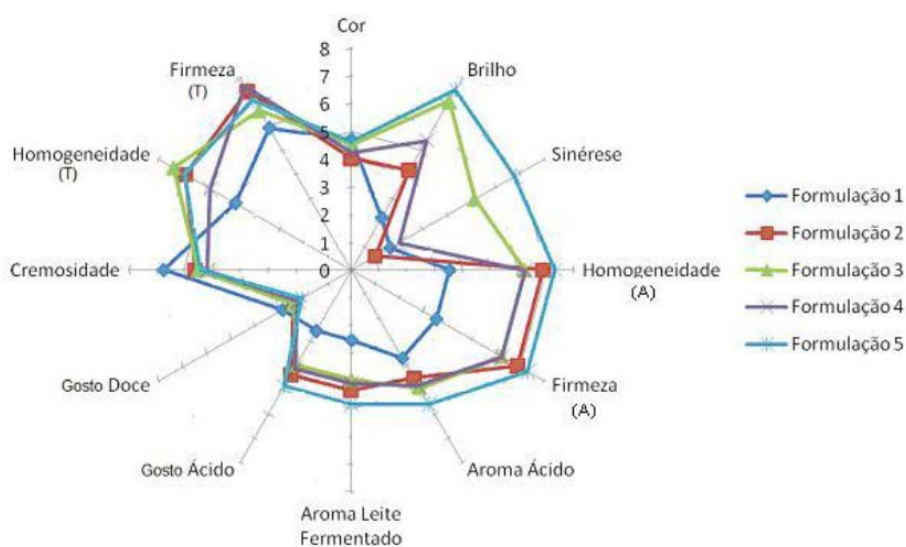
Se as formulações (triângulos) estiverem próximas entre si, significa que são semelhantes em relação aos atributos julgados. O primeiro componente principal separou (discriminou) as formulações quanto ao teor de gordura, sendo que a formulação localizada mais à direita (formulação 1) era integral e as formulações localizadas mais à esquerda (formulações 2,3,4 e 5) eram formulações desnatadas. O segundo componente principal separou as formulações quanto à adição de inulina, sendo que as formulações localizadas mais acima do eixo (2 e 4) não apresentavam inulina em sua composição e as formulações localizadas mais abaixo do eixo (3 e 5) foram adicionadas deste carboidrato. O terceiro componente principal separou as formulações quanto à presença do probiótico, sendo que as formulações localizadas mais acima do eixo (2 e 3) não apresentavam o microorganismo probiótico em sua composição e as formulações localizadas mais abaixo do eixo (4 e 5) o apresentavam.

Na ACP, cada formulação se localiza na região próxima ao vetor (descriptor) que a caracteriza. Dessa forma, analisando-se as figuras 10a e 10b em conjunto, verifica-se que a formulação 1 estava localizada mais à direita ao longo do eixo CP1 e, portanto, foi caracterizada principalmente pela maior intensidade de

gosto doce e cremosidade e menor intensidade de homogeneidade (aparência e textura), aroma de leite fermentado, brilho, aroma ácido e firmeza (aparência e textura). As demais formulações (2, 3, 4 e 5) estavam localizadas mais a esquerda do eixo CP1 e, conseqüentemente, foram caracterizadas pela maior intensidade de homogeneidade (aparência e textura), aroma de leite fermentado, brilho, aroma ácido e firmeza (aparência e textura) e menor intensidade de cremosidade e gosto doce. No segundo CP, as formulações 3 e 5 localizaram-se mais abaixo e, portanto, apresentaram maior intensidade de sinérese e cor amarelada e as formulações 2 e 4 maior firmeza (aparência e textura) e gosto ácido. Analisando-se as figuras 11a e 11b verifica-se que, em relação ao CP3, mostrado no eixo vertical, as formulações 4 e 5 apresentaram maior intensidade de sabor ácido.

Na caracterização das formulações também são considerados os ângulos formados entre os vetores (descritores) e que será discutido no item 5.4.2.

O gráfico aranha obtido (figura 12) também sugere que a formulação 1 apresenta maior intensidade dos atributos cremosidade e gosto doce; a formulação 3 maior homogeneidade (textura) e a formulação 5 maior intensidade de brilho, sinérese, homogeneidade (aparência), firmeza (aparência), aroma ácido, aroma de leite fermentado e gosto ácido. As formulações 2 e 4 não se sobressaíram das demais em nenhum dos atributos avaliados.



**Figura 12** – Gráfico Aranha das amostras de iogurtes\*

\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

\*\* (A) corresponde a atributos da aparência e (T) corresponde a atributos de textura

A Análise dos Componentes Principais (ACP) e o gráfico aranha apenas sugerem semelhanças e diferenças entre as formulações. Desta forma, para se obter resultados com grau de confiança adequado, realizou-se análise de variância (ANOVA) e teste de comparação de médias de Tukey.

A análise de variância demonstrou que o valor de F interação formulação x provador foi significativo ( $p \leq 0,05$ ) e grave para 8 dos 12 atributos avaliados (cor, brilho, aroma ácido, aroma de leite fermentado, gosto ácido, firmeza (textura), cremosidade e homogeneidade (textura)), indicando que apesar da seleção e treinamento dos provadores, para esses atributos havia na equipe pelo menos um provador avaliando as formulações de forma não consensual com os demais. Verificou-se quais provadores estavam provocando a interação por meio de gráficos (formulação x intensidade do atributo) com resultados de todos os provadores (Anexo H). Após identificação desses provadores, seus resultados foram retirados e foi refeita a análise de variância (DAMASIO; COSTELL, 1991). Para os atributos cor, aroma ácido, aroma de leite fermentado, gosto ácido e firmeza (textura) foi retirado 1 provador, para cremosidade 2 provadores, para homogeneidade (textura) 3 provadores e para brilho 4 provadores.

Os valores médios da intensidade dos atributos sensoriais conforme determinação da equipe sensorial estão apresentados na tabela 21.

**Tabela 21** – Média dos atributos sensoriais para cada formulação de iogurte\*

Atributo***	Formulação**				
	1	2	3	4	5
<b>Aparência</b>					
Cor <sup>11</sup>	4,700 <sup>a</sup>	4,036 <sup>a</sup>	4,512 <sup>a</sup>	4,239 <sup>a</sup>	4,612 <sup>a</sup>
Brilho <sup>8</sup>	2,179 <sup>d</sup>	4,154 <sup>c</sup>	7,033 <sup>a</sup>	5,400 <sup>b</sup>	7,513 <sup>a</sup>
Sinérese <sup>12</sup>	1,600 <sup>c</sup>	0,997 <sup>c</sup>	5,119 <sup>b</sup>	1,981 <sup>c</sup>	6,781 <sup>a</sup>
Homogeneidade <sup>12</sup>	3,519 <sup>c</sup>	6,906 <sup>a,b</sup>	6,236 <sup>b</sup>	6,250 <sup>b</sup>	7,322 <sup>a</sup>
Firmeza <sup>12</sup>	3,519 <sup>c</sup>	6,906 <sup>a,b</sup>	6,236 <sup>b</sup>	6,250 <sup>b</sup>	7,322 <sup>a</sup>
<b>Aroma</b>					
Aroma Ácido <sup>11</sup>	3,661 <sup>c</sup>	4,503 <sup>b,c</sup>	4,912 <sup>a,b</sup>	4,794 <sup>a,b</sup>	5,594 <sup>a</sup>
Aroma Leite Fermentado <sup>11</sup>	2,527 <sup>b</sup>	4,342 <sup>a</sup>	3,949 <sup>a</sup>	4,082 <sup>a</sup>	4,836 <sup>a</sup>
<b>Sabor</b>					
Gosto Ácido <sup>11</sup>	2,527 <sup>b</sup>	4,342 <sup>a</sup>	3,949 <sup>a</sup>	4,082 <sup>a</sup>	4,836 <sup>a</sup>
Gosto Doce <sup>12</sup>	2,869 <sup>a</sup>	2,394 <sup>a,b</sup>	2,417 <sup>a,b</sup>	2,217 <sup>a,b</sup>	2,044 <sup>b</sup>
<b>Textura</b>					
Firmeza <sup>11</sup>	5,903 <sup>d</sup>	7,446 <sup>a,b</sup>	6,642 <sup>c</sup>	7,679 <sup>a</sup>	7,103 <sup>b,c</sup>
Homogeneidade <sup>9</sup>	4,815 <sup>c</sup>	6,885 <sup>a</sup>	7,393 <sup>a</sup>	5,870 <sup>b</sup>	6,907 <sup>a</sup>
Creiosidade <sup>11</sup>	6,753 <sup>a</sup>	5,600 <sup>b</sup>	5,533 <sup>b</sup>	5,193 <sup>b</sup>	5,413 <sup>b</sup>

\* Médias na mesma linha acompanhadas de letras iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\* Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

\*\*\* O número sobrescrito à direita do atributo corresponde ao número de provadores

Verificou-se que houve diferença ( $p \leq 0,05$ ) entre as formulações em relação a todos os atributos, exceto para cor, indicando que a adição de inulina e/ou probiótico e o teor de gordura não influenciaram a percepção da cor dos produtos pelos provadores. Brennan e Tudorica (2005), utilizando equipe treinada, também não encontraram diferença ( $p > 0,05$ ) na intensidade da cor de iogurtes adicionados de fibras, dentre elas a inulina; ou entre iogurtes integrais e desnatados. Kailasapathy (2006) afirma que os provadores não foram capazes de identificar diferenças na aparência e cor de iogurtes sem adição de probióticos e aqueles adicionados do microorganismo (na forma livre ou encapsulada). O estudo foi conduzido por 20 provadores e o autor faz a descrição de que o processo utilizado consistia de uma série de linhas horizontais marcadas com os graus de intensidade dos atributos avaliados (escala não estruturada). No entanto, embora houvesse indicação de que o teste sensorial seria descritivo, o autor relata que utilizou uma escala hedônica de 15 cm, sendo 1 cm o menos desejável.

Observou-se que as formulações que continham inulina em sua composição (3 e 5) foram consideradas as mais brilhantes pelos provadores dentre as formulações estudadas. Possivelmente o gel de inulina brilhe mais do que o gel de proteína (caseína). Além disso, a maior presença de soro pode ter influenciado a percepção de brilho, já que maiores quantidades de soro produzem maior reflexão da luz. A formulação 1 (integral) apresentou-se menos brilhante do que as demais. Possivelmente a presença da gordura tenha proporcionado uma menor reflexão da luz, que foi percebida pelos provadores. Elmore *et al.* (1999) também observaram que amostras de pudim com maior teor de gordura foram consideradas pelos provadores treinados como tendo superfície menos brilhante.

As formulações contendo probiótico apresentaram valores de brilho intermediários, porém, a formulação 4 apresentou maior valor do que a formulação 2. O probiótico por si só não teria capacidade de modificar o brilho das formulações, portanto, o aumento encontrado deve estar relacionado a parâmetros de textura observados na aparência, como firmeza ou homogeneidade, que permitiram uma maior reflexão da luz e conseqüentemente, maior percepção de brilho pelos provadores. Lawless e Heymann (1998), de fato, relatam que parâmetros de textura avaliados visualmente têm relação com características da aparência do produto como, por exemplo, o brilho.

A formulação simbiótica (5) apresentou os maiores valores de sinérese seguida da formulação adicionada apenas de inulina (3), portanto, a adição de inulina causou um aumento nos valores de sinérese. Brennan e Tudorica (2007) avaliaram 8 tipos de iogurtes adicionados de diferentes fibras em concentrações diferenciadas e observaram que, dentre as amostras estudadas, a formulação adicionada de 2% de inulina e a formulação controle receberam os maiores valores para separação de soro pelos provadores.

A adição de probiótico e o teor de gordura não tiveram efeito sobre a sinérese ( $p > 0,05$ ) já que as formulações 2 e 4 e 1 e 2 não foram diferentes entre si. Brennan e Tudorica (2007) e Salvador e Fiszman (2004) também observaram que o teor de gordura não teve influência sobre a intensidade de sinérese de iogurtes em testes com julgadores treinados. La Torre *et al.* (2003), em teste descritivo, avaliaram o efeito de diferentes culturas em atributos sensoriais de leites fermentados e iogurtes e observaram que a adição de *Lactobacillus acidophilus*, *B.*

*bifidum* e *B. lactis* (cultura ABT-1) a leites fermentados resultou em valores de sinérese semelhantes aos encontrados para o produto controle.

Com relação à aparência homogênea, a formulação 1 apresentou o menor valor. Possivelmente a presença de gordura tenha afetado a aparência do produto já que uma pequena camada desta foi observada na superfície do iogurte produzido. Não houve efeito da adição de inulina e/ou probiótico na homogeneidade do produto já que as formulações 2 e 3 e 2 e 4 não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. Brennan e Tudorica (2007) também não observaram diferença significativa entre iogurtes adicionados de inulina e iogurtes controle quando avaliaram a homogeneidade observada na aparência. Rönka *et al.* (2003) observaram que os iogurtes adicionados de *Lactobacillus brevis* GRL1 ou GRL2 não apresentaram alterações visuais em relação aos produtos controles. A equipe consistia apenas de 3 julgadores que avaliaram as propriedades reológicas, o sabor e a aparência geral dos produtos.

Com relação à firmeza avaliada pela aparência do produto, não houve efeito da adição de inulina e/ou probiótico já que as formulações 2 e 3 e 2 e 4 não diferiram entre si. Brennan e Tudorica (2007) também não observaram diferença significativa entre iogurtes adicionados de inulina e iogurtes controle quando avaliaram o aspecto da superfície dos produtos. A formulação desnatada (2) mostrou aparência mais firme do que a formulação integral (1). Pasephol *et al.* (2009) afirmam que a firmeza de iogurtes é dependente do teor de sólidos totais, do conteúdo protéico e do tipo de proteína presente, sendo que um maior conteúdo de proteína resulta em um gel de estrutura mais densa e rígida. O maior conteúdo de proteína na formulação desnatada (2) e, conseqüentemente, a estrutura mais densa e rígida pode ter sido percebida na aparência dos iogurtes fazendo com que esta formulação fosse considerada mais firme do que a integral (1).

Não houve efeito da adição de inulina e/ou probiótico e do teor de gordura ( $p > 0,05$ ) em relação ao aroma ácido. La Torre *et al.* (2003) observaram que a adição de *Lactobacillus acidophilus*, *B. bifidum* e *B. lactis* (cultura ABT-1) a leites fermentados não resultou em alterações do aroma ácido, quando avaliaram o efeito de diferentes culturas sobre os atributos sensoriais de leites fermentados e iogurtes. Os gráficos aranha apresentados por Jaworska *et al.* (2005) sugerem que o teor de gordura não exerce influência sobre o aroma ácido de iogurtes, comparando-se iogurtes comerciais com 1,5 e 3% de gordura. Spiegel *et al.* (1994) também não

observaram influência da inulina no aroma ácido de iogurtes probióticos. Os autores utilizaram, no entanto, 30 provadores não treinados, os quais foram instruídos a avaliar a intensidade dos atributos em uma escala de 10 pontos.

Com relação ao aroma de leite fermentado e gosto ácido, a formulação integral (1) apresentou o menor valor. Jaworska *et al.* (2005), por meio da ADQ, também observaram que iogurtes comerciais com maior teor de gordura apresentavam menor intensidade de aroma de leite fermentado do que os produtos com menor teor de gordura. As demais formulações (2, 3, 4 e 5) não apresentaram diferença entre si ( $p > 0,05$ ) indicando ausência de efeito da inulina e/ou probiótico no aroma de leite fermentado e gosto ácido dos produtos. Jaworska *et al.* (2005) não relataram influência de culturas probióticas no gosto ácido de iogurtes. Robinson (1995) não encontrou diferenças no sabor entre formulações de iogurte que incluíam inulina, ao utilizar um teste triangular com provadores não treinados. Ao contrário de Robinson, no presente estudo foi utilizada a análise descritiva quantitativa para avaliar as formulações, portanto, comparações são difíceis de serem realizadas. Contudo, similarmente, neste estudo não foram encontradas diferenças no gosto ácido entre iogurte desnatado sem adição de inulina e aqueles adicionados de 2% do carboidrato.

Não foi observado efeito da adição de inulina e/ou probiótico e do teor de gordura na doçura dos produtos ( $p > 0,05$ ) já que as formulações 3, 4 e 1 não diferiram da formulação 2, respectivamente. De fato, Franck (2002) afirma que a inulina apresenta sabor neutro e aquela de alta performance (HP), que foi utilizada neste estudo, não apresenta doçura. Salvador e Fiszman (2004) também não encontraram diferenças no gosto doce de iogurtes integrais e desnatados. Davidson *et al.* (2000), por meio da análise descritiva, também observaram que iogurtes congelados probióticos não apresentaram diferença quanto ao gosto doce quando comparados aos produtos controles.

Com relação à firmeza na colher, não houve efeito da adição de probiótico já que as formulações 2 e 4 não diferiram ( $p > 0,05$ ) entre si. Jaworska *et al.* (2005) também obtiveram valores semelhantes para iogurtes comerciais probióticos e controle, ao avaliarem a firmeza dos produtos. No entanto, essa firmeza foi avaliada na boca e não na colher, como no presente estudo.

A formulação integral (1) apresentou-se menos firme do que a desnatada (2). Possivelmente a maior cremosidade da formulação integral tenha

resultado em menor valor de firmeza na colher. Salvador e Fiszman (2004) afirmam haver uma dificuldade em se avaliar a firmeza de iogurtes integrais porque esses são mais macios do que os produtos desnatados. El-Nagar *et al.* (2002) também observaram que sorvetes desnatados apresentavam maior firmeza do que sorvetes integrais. No estudo houve a participação de 9 julgadores semi-treinados e utilizou-se uma variação da Análise Descritiva Quantitativa para avaliar a intensidade dos atributos.

A adição de inulina causou uma diminuição na firmeza dos produtos ( $p \leq 0,05$ ) nos quais foi adicionada (formulações 3 e 5) quando comparados ao produto desnatado (formulação 2), fazendo com que os valores de firmeza destes se aproximassem dos observados para o produto integral (formulação 1). El-Nagar *et al.* (2002) também observaram comportamento semelhante em sorvetes adicionados de 5,7 ou 9% de inulina. Lucey *et al.* (1998) relatam que a presença de inulina interfere no desenvolvimento de uma estrutura de caseína levando a um gel de menor firmeza. Burity *et al.* (2008) obtiveram menores valores de firmeza para queijos adicionados de inulina, porém, os autores utilizaram 44 provadores não treinados, os quais foram instruídos a relatar os atributos sensoriais dos produtos, a fim de que se pudessem obter informações das características sensoriais das diferentes formulações de queijo. Por outro lado, Guggisberg *et al.* (2009) não observaram efeito significativo da inulina na firmeza de iogurtes em avaliação realizada por julgadores treinados. Neste caso, a firmeza foi definida como a força requerida para elevar o produto com uma colher e medida pela inserção da colher no iogurte e elevação da mesma.

Com relação à homogeneidade sentida na boca, a formulação 1 apresentou o menor valor. Possivelmente a presença de gordura tenha afetado a sensação tátil do produto. Isso porque, como não se dispunha de um homogeneizador, os glóbulos de gordura podem ter ficado dispersos no iogurte, sendo percebidos durante a avaliação pelos provadores e resultando em uma menor homogeneidade no produto integral. Não houve efeito da adição de inulina na homogeneidade do produto já que as formulações 2 e 3 não diferiram entre si. Em contraste, El-Nagar *et al.* (2002) observaram que sorvetes adicionados de inulina apresentavam maior homogeneidade do que os produtos desnatados. Possivelmente a influência da inulina na homogeneidade não seja facilmente

identificada em iogurtes e, portanto, não pôde ser observada pelos provadores no presente estudo.

Houve efeito da adição de probiótico sobre a homogeneidade, sendo que a formulação 4 foi considerada menos homogênea do que a formulação controle (2).

Davidson *et al.* (2000) também observaram que iogurtes congelados controle apresentavam maior homogeneidade do que os iogurtes probióticos. A homogeneidade foi definida pela equipe sensorial como sendo a ausência de textura granular e de ruído quando a amostra é mastigada ao invés de ser deixada na boca até dissolver.

Comparando-se os atributos firmeza e homogeneidade, referentes às características aparência e textura, é possível observar se as avaliações realizadas na aparência são comprovadas nas determinações da textura. De fato, a formulação integral (1) foi considerada menos firme e homogênea do que as demais formulações, tanto na aparência quanto na textura dos produtos. Não foi observado efeito do probiótico na firmeza e da inulina na homogeneidade, tanto na aparência quanto na textura dos iogurtes. No entanto, a redução da firmeza proporcionada pela inulina foi observada apenas na determinação utilizando a colher. Além disso, os iogurtes probióticos foram considerados menos homogêneos quando avaliada a textura, não havendo diferença na aparência.

A formulação integral (1) apresentou maior cremosidade do que as demais (2, 3, 4 e 5). Guggisberg *et al.* (2009) também verificaram que a cremosidade aumentava com o aumento no teor de gordura. A definição de cremosidade utilizada pela equipe sensorial foi semelhante a do presente estudo: —percepção de um filme de gordura quando o produto é pressionado entre a língua e o palatoll.

As demais formulações não apresentaram diferença entre si ( $p > 0,05$ ) indicando ausência de efeito da inulina e/ou probiótico na cremosidade dos produtos. Guggisberg *et al.* (2009) observaram que para iogurtes com teores de 1 a 3,5% de gordura, um aumento na concentração de inulina gerava um aumento na percepção da cremosidade. No entanto, para iogurtes contendo apenas 0,1% de gordura nenhuma influência foi observada. Brennan e Tudorica (2007) também não observaram efeito da inulina na cremosidade de iogurtes quando adicionada no teor utilizado em nosso experimento (2%). Para adições de 6% de inulina um aumento na

cremosidade foi observado. La Torre *et al.* (2003) observaram que a adição de *Lactobacillus acidophilus*, *B. bifidum* e *B. lactis* (cultura ABT-3) a leites fermentados não alterava a cremosidade dos produtos, quando avaliavam o efeito de diferentes culturas sobre os atributos sensoriais de leites fermentados e iogurtes.

Pelos resultados obtidos, pode-se observar que a ANOVA confirmou o que foi sugerido pela Análise de Componentes Principais e Gráfico Aranha. De fato, a formulação 1 apresentou maior intensidade do gosto doce (diferindo apenas da formulação 5) e maior cremosidade. Conforme sugerido pelo gráfico Aranha, a formulação 5 foi caracterizada como tendo maior brilho (não diferindo da formulação 3), sinérese, homogeneidade (aparência) (não diferindo da formulação 2), firmeza (aparência) (não diferindo da formulação 2), aroma ácido (não diferindo das formulações 3 e 4) e aroma de leite fermentado (diferindo apenas da formulação 1). O gráfico aranha sugeria ainda que a formulação 3 apresentava maior homogeneidade (textura) o que foi comprovado pela ANOVA (não diferindo das formulações 2 e 5). A ACP sugeria que as formulações 4 e 5 apresentavam maior intensidade de gosto ácido e que as formulações 3 e 5 apresentavam maior sinérese, o que foi comprovado na análise de variância (não havendo diferença para as formulações 2 e 3 no gosto ácido). No entanto, a ACP indicava que as formulações 3 e 5 apresentavam maior intensidade de cor, o que não pôde ser confirmado na análise de variância.

#### 5.4.2 Correlações entre os Atributos Gerados na ADQ

Foram determinadas as correlações entre os atributos sensoriais obtidos na Análise Descritiva Quantitativa e os resultados estão dispostos na tabela 22.

**Tabela 22** – Coeficientes de correlação de Pearson dos atributos sensoriais obtidos na ADQ\*

Var.**	Cor	Brilho	Sin.	Hom. (A)	Firm. (A)	Ar. Ác.	Ar. L. F.	G. Ác.	G. Doce	Crem.	Hom. (T)	Firm. (T)
Cor	1											
Brilho	0,012	1										
Sin.	0,391	<b>0,828</b>	1									
Hom. (A)	-0,255	<b>0,763</b>	0,454	1								
Firm. (A)	-0,157	0,249	0,091	<b>0,629</b>	1							
Ar. Ác.	0,054	<b>0,789</b>	<b>0,662</b>	<b>0,749</b>	0,446	1						
Ar.L. F.	-0,322	<b>0,732</b>	0,447	<b>0,872</b>	<b>0,604</b>	<b>0,803</b>	1					
G. Ác.	0,054	0,209	0,159	0,405	0,308	0,308	0,395	1				
G. Doce	-0,109	-0,500	-0,371	<b>-0,604</b>	-0,393	<b>-0,599</b>	-0,423	-0,457	1			
Crem.	0,313	<b>-0,656</b>	-0,299	<b>-0,786</b>	-0,495	-0,464	<b>-0,655</b>	-0,412	<b>0,624</b>	1		
Hom. (T)	-0,238	<b>0,773</b>	<b>0,537</b>	<b>0,772</b>	0,461	<b>0,605</b>	<b>0,694</b>	-0,094	-0,374	<b>-0,544</b>	1	
Firm. (T)	-0,457	0,448	-0,019	<b>0,775</b>	0,412	0,448	<b>0,672</b>	<b>0,596</b>	<b>-0,525</b>	<b>-0,776</b>	0,369	1

\* Resultados em negrito apresentam correlação significativa a  $p \leq 0,05$  (teste t)

\*\* Var. (Variáveis): Cor, Brilho, Sin. (Sinérese), Hom. (A) (Homogeneidade [aparência]), Firm. (A) (Firmeza [aparência]), Ar. Ác. (Aroma Ácido), Ar. L. F. (Aroma de Leite Fermentado), G. Ác. (Gosto Ácido), G. Doce (Gosto Doce), Crem. (Cremosidade), Hom. (T) (Homogeneidade [textura]), Firm. (T) (Firmeza [textura])

Houve correlações significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os atributos brilho e: sinérese (+), homogeneidade (aparência) (+), aroma ácido (+), aroma de leite fermentado (+), cremosidade (-) e homogeneidade (textura) (+); sinérese e: aroma ácido (+) e homogeneidade (textura) (+); homogeneidade (aparência) e: firmeza (aparência) (+), aroma ácido (+), aroma de leite fermentado (+), gosto doce (-), cremosidade (-), homogeneidade (textura) (+) e firmeza (textura) (+); firmeza (aparência) e aroma de leite fermentado (+); aroma ácido e: aroma de leite fermentado (+), gosto doce (-) e homogeneidade (textura) (+); aroma de leite fermentado e: cremosidade (-), homogeneidade (textura) (+) e firmeza (textura) (+); gosto ácido e firmeza (textura) (+); gosto doce e: cremosidade (+) e firmeza (textura) (-); cremosidade e: homogeneidade (textura) (-) e firmeza (textura) (-).

Algumas correlações possuem pouca importância prática como aquelas relacionadas ao aroma dos produtos e ao brilho: brilho e aroma ácido e brilho e aroma de leite fermentado.

Pôde-se observar que o aumento da sinérese e da homogeneidade fez com que os provadores considerassem as formulações mais brilhantes. Possivelmente a maior quantidade de soro e a superfície lisa apresentada pelas formulações com maior teor de sinérese e mais homogêneas tenha proporcionado maior reflexão da luz e, conseqüentemente, maior visualização do brilho pelos

provadores. Elmore *et al.* (1999) também observaram correlação positiva entre homogeneidade e brilho ao analisarem pudins.

O brilho foi inversamente relacionado com a cremosidade, indicando que as formulações menos cremosas foram consideradas mais brilhantes. Possivelmente a presença de gordura tenha influenciado na percepção de brilho pelos provadores. De fato, Elmore *et al.* (1999) observaram correlação negativa entre recobrimento da boca (cremosidade) e brilho ao estudarem pudins.

A sinérese esteve diretamente relacionada ao aroma ácido e à homogeneidade (textura). Possivelmente a presença de soro aumente a percepção de homogeneidade na boca e de acidez no aroma dos produtos. Além disso, nas formulações mais ácidas, ou seja, com menores pHs, há maior contração da matriz micelar de caseína e, conseqüentemente, maior expulsão de soro. Chammas *et al.* (2006) também observaram a mesma correlação entre a sinérese e a homogeneidade em leites fermentados.

A homogeneidade dos produtos (aparência e textura) foi diretamente relacionada ao aroma ácido e ao aroma de leite fermentado. Ao mesmo tempo, a firmeza (aparência e textura) e a cremosidade apresentaram correlação positiva e negativa, respectivamente, com o aroma de leite fermentado. Alterações em parâmetros de textura como homogeneidade, firmeza ou cremosidade podem ser consequência da maior acidez em produtos com maior intensidade de aroma ácido e aroma de leite fermentado. Além disso, González-Tomás *et al.* (2008) afirmam que a quantidade de gordura afeta a liberação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma dos produtos, o que pode explicar a correlação negativa entre cremosidade e aroma de leite fermentado. Os autores ainda relatam que a percepção de aroma pode ser influenciada por parâmetros de textura.

A homogeneidade dos iogurtes foi diretamente relacionada à firmeza dos mesmos, tanto para a aparência quanto para a textura. É possível que a maior firmeza dos produtos tenha feito com que os provadores também os considerassem mais homogêneos. Chammas *et al.* (2006) também observaram uma correlação positiva significativa a 5% entre a homogeneidade e a firmeza de leites fermentados. Liou (2006) também observou correlação positiva entre homogeneidade e firmeza quando estudou sorvetes.

As formulações consideradas menos cremosas apresentaram maior homogeneidade (aparência e textura) e firmeza (textura) (correlação negativa). A

gordura pode estar relacionada aos resultados encontrados. Isso porque, com a homogeneização do leite durante a fabricação do iogurte, a gordura do leite e as micelas de caseína se combinam e, então, os glóbulos de gordura não ficam dispersos no iogurte e sim embebidos dentro da matriz protéica, contribuindo para a homogeneidade dos produtos (JANHOJ *et al.*, 2006). Como não se dispunha de um homogeneizador no presente estudo; os glóbulos de gordura podem ter ficado dispersos no iogurte e os provadores consideraram a formulação integral (1) como menos homogênea. Elmore *et al.* (1999) e Janhoj *et al.* (2008) também observaram correlação negativa entre homogeneidade e recobrimento na boca ao avaliarem pudins e leites acidificados, respectivamente. É possível ainda, que a menor firmeza do iogurte integral tenha sido percebida como maior cremosidade pelos provadores, fazendo com que houvesse correlação negativa entre cremosidade e firmeza. Ong (2007) também observou correlação negativa entre firmeza e cremosidade.

A homogeneidade (aparência) e a firmeza (textura) estiveram inversamente correlacionadas com o gosto doce, enquanto a cremosidade apresentou correlação positiva. Chammas *et al.* (2006) também observaram correlação negativa entre doçura e homogeneidade. Janhoj *et al.* (2006), por sua vez, também observaram correlação positiva entre cremosidade e gosto doce em iogurtes batidos de baixo teor de gordura. González-Tomás *et al.* (2008) afirmam que a percepção de sabor ocorre através de um complexo sistema onde o gosto, o aroma e a textura interagem para formar a percepção. Isso pode explicar as correlações do gosto doce com os parâmetros de textura: homogeneidade, firmeza e cremosidade.

Os atributos aroma ácido e aroma de leite fermentado demonstraram ter uma forte correlação positiva ( $r > 0,8$ ,  $p \leq 0,05$ ). Essa relação pode ser explicada pelo fato de ambas as sensações serem baseadas em percepções olfativas. Segundo Rohm *et al.* (1994) o aroma é resultado de compostos voláteis provenientes do alimento, que atravessam as narinas e são detectados por células receptoras olfativas. Ordóñez *et al.* (2005) afirmam que o catabolismo da lactose leva a formação de compostos que participam do aroma e do sabor de leites fermentados como ácido láctico, diacetil, acetaldeído, peptídeos, acetato, dióxido de carbono, etanol e outros. Uma maior fermentação resulta em maior acidez no aroma dos produtos e, concomitantemente, em maior formação de compostos voláteis responsáveis pelo aroma de leite fermentado dos iogurtes.

O aroma ácido e o gosto doce se correlacionaram negativamente. Chammas *et al.* (2006) observaram que os atributos associados com a acidez (gosto ácido e gosto ácido residual) estavam negativamente correlacionados com aqueles relacionados à doçura (gosto doce e gosto doce residual) das amostras. Ott *et al.* (2000) por sua vez, relatam que a percepção de acidez pode mascarar a percepção de outros atributos relacionados ao sabor. Os resultados acima mencionados podem explicar a correlação negativa obtida no presente trabalho.

O gosto ácido se correlacionou positivamente com a firmeza (textura). Uma maior acidificação seria responsável por alterações no gel de caseína, gerando então iogurtes mais firmes, o que pode explicar a correlação entre gosto ácido e firmeza.

Observou-se coerência entre os dados da ACP (figuras 10a, 11a e tabela 20) e a significância das correlações. Na ACP, quando os vetores estão próximos uns dos outros, há a indicação de que os atributos possivelmente apresentem alta correlação positiva entre si. Assim, analisando-se as figuras 10a e 11a, existia grande possibilidade de haver correlação positiva e significativa entre os atributos firmeza (textura), gosto ácido, firmeza (aparência), homogeneidade (aparência), aroma de leite fermentado, homogeneidade (textura), aroma ácido, brilho e sinérese. Além desses, cremosidade e gosto doce. De fato, a análise de correlação e teste t, para determinar a significância dessas correlações, confirmaram o previsto pela ACP.

Se os vetores formam um ângulo de  $180^\circ$  entre si, possivelmente apresentam correlação linear negativa. Assim, existia grande possibilidade de haver correlação negativa e significativa entre os atributos: gosto doce e homogeneidade (aparência), gosto doce e aroma ácido, cremosidade e homogeneidade (aparência), cremosidade e firmeza (textura), aroma de leite fermentado e cremosidade, brilho e cremosidade, entre outros. De fato essas correlações foram encontradas ao se fazer a análise de correlações e teste t. Dessa forma, formulações posicionadas em um ângulo de  $180^\circ$  são caracterizadas por atributos conforme essa correlação. Quando os vetores são ortogonais entre si (formam ângulo de  $90^\circ$ ), possivelmente não apresentam correlação linear significativa (cor e brilho, cor e aroma ácido, cor e gosto ácido, sinérese e firmeza (textura), sinérese e firmeza (aparência) e gosto ácido e homogeneidade (textura)). De fato, essas correlações foram baixas e não significativas.

### 5.4.3 Correlações entre Medidas Físico-Químicas e Instrumentais e Atributos Sensoriais

Os resultados das correlações entre as medidas físico-químicas e instrumentais e os atributos sensoriais avaliados se encontram na tabela 23.

**Tabela 23** – Coeficientes de correlação de Pearson entre as medidas físico-químicas e instrumentais e os atributos sensoriais gerados na ADQ\*

Atributos Sensoriais	Medidas Físico-Químicas e Instrumentais													
	Sin.	pH	Ac.	Lac.	Prot.	Gord.	L*	a*	b*	Firm.	Coes.	Elast.	Ades.	Gom.
Cor	-0,050	0,416	-0,422	-0,463	-0,367	0,354	0,144	-0,118	-0,077	-0,364	-0,026	0,392	-0,382	-0,408
Brilho	-0,053	-0,406	0,164	0,361	0,157	<b>-0,797</b>	<b>0,738</b>	-0,412	<b>-0,856</b>	0,131	-0,248	<b>0,642</b>	-0,269	0,095
Sin.	0,032	0,049	-0,290	-0,073	-0,318	-0,373	<b>0,699</b>	-0,444	<b>-0,754</b>	-0,083	-0,315	<b>0,765</b>	-0,318	-0,162
Hom.(A)	-0,209	<b>-0,776</b>	<b>0,624</b>	<b>0,765</b>	<b>0,515</b>	<b>-0,919</b>	0,264	-0,265	<b>-0,600</b>	0,214	0,131	0,465	-0,115	0,228
Firm.(A)	-0,267	<b>-0,521</b>	<b>0,599</b>	<b>0,553</b>	0,363	-0,499	-0,082	-0,355	-0,120	-0,072	<b>0,587</b>	0,292	-0,177	0,003
Ar. Ác.	-0,297	-0,361	0,246	0,435	0,212	<b>-0,661</b>	<b>0,517</b>	-0,364	<b>-0,790</b>	0,285	0,004	<b>0,704</b>	-0,050	0,174
Ar. L. F.	-0,356	<b>-0,637</b>	0,502	<b>0,712</b>	0,487	<b>-0,814</b>	0,264	-0,232	<b>-0,649</b>	0,153	0,051	<b>0,532</b>	-0,071	0,124
G. Ác.	-0,281	-0,417	0,460	0,204	0,509	-0,259	0,056	-0,101	-0,109	0,247	0,148	0,440	0,051	0,308
G. D.	-0,297	0,498	-0,442	-0,305	-0,407	<b>0,533</b>	-0,345	0,410	<b>0,582</b>	-0,083	-0,304	<b>-0,602</b>	0,348	-0,119
Crem.	-0,157	<b>0,786</b>	<b>-0,686</b>	<b>-0,531</b>	<b>-0,541</b>	<b>0,848</b>	-0,395	0,438	<b>0,531</b>	-0,230	-0,222	-0,476	0,082	-0,356
Hom.(T)	-0,059	<b>-0,545</b>	0,294	<b>0,651</b>	0,215	<b>-0,811</b>	0,304	-0,222	<b>-0,667</b>	-0,065	0,124	0,309	-0,351	-0,081
F. (T)	-0,241	<b>-0,864</b>	<b>0,824</b>	<b>0,750</b>	<b>0,855</b>	<b>-0,786</b>	0,094	-0,095	-0,277	0,409	0,238	0,190	0,097	0,483

\* Resultados em negrito apresentam correlação significativa a  $p \leq 0,05$  (teste t) .

\*\* Atributos Sensoriais e Medidas Físico-Químicas e Instrumentais : Cor, Brilho, Sin. (Sinérese), Hom. (A) (Homogeneidade [aparência]), Firm. (A) (Firmeza [aparência]), Ar. Ác. (Aroma Ácido), Ar. L. F. (Aroma de Leite Fermentado), G. Ác. (Gosto Ácido), G. D. (Gosto Doce), Crem. (Cremosidade), Hom. (T) (Homogeneidade [textura]), Firm. (T) (Firmeza [textura]), Ac. (Acidez), Lac. (teor de lactose), Prot. (teor de proteína), Gord. (teor de gordura), Firm. (Firmeza), Coes. (Coesividade), Elast. (Elasticidade), Ades. (Adesividade) e Gom. (Gomosidade)

Correlações significativas foram encontradas para pH e: homogeneidade (aparência) (-), firmeza (aparência) (-), aroma de leite fermentado (-), cremosidade (+), homogeneidade (textura) (-) e firmeza (textura) (-); acidez e: homogeneidade (aparência) (+), firmeza (aparência) (+), cremosidade (-) e firmeza (textura) (+); teor de lactose e: homogeneidade (aparência) (+), firmeza (aparência) (+), aroma de leite fermentado (+), cremosidade (-), homogeneidade (textura) (+) e firmeza (textura) (+); teor de proteína e: homogeneidade (aparência) (+), cremosidade (-) e firmeza (textura) (+); teor de gordura e: brilho (-), homogeneidade (aparência) (-), aroma ácido (-), aroma de leite fermentado (-), gosto doce (+), cremosidade (+), homogeneidade (textura) (-), e firmeza (textura) (-); L\* e: sinérese

(+), brilho (+) e aroma ácido (+);  $b^*$  e: brilho (-), sinérese (-), homogeneidade (aparência) (-), aroma ácido (-), aroma de leite fermentado (-), gosto doce (+), cremosidade (+) e homogeneidade (textura) (-); coesividade e firmeza (aparência) (+); elasticidade e: brilho (+), sinérese (+), aroma ácido (+), aroma de leite fermentado (+) e gosto doce (-).

Algumas correlações encontradas têm pouca importância prática, como algumas relacionadas aos parâmetros de cor instrumental e ao brilho com outras características dos iogurtes ( $L^*$  e aroma ácido;  $b^*$  e gosto doce,  $b^*$  e aroma ácido,  $b^*$  e aroma de leite fermentado, brilho e elasticidade) ou ao aroma (elasticidade e aroma ácido e elasticidade e aroma de leite fermentado) além de elasticidade e sinérese e elasticidade e gosto doce.

A correlação entre pH e firmeza sensorial (tanto na aparência quanto na textura) foi negativa, indicando que quanto menor o pH maior a firmeza das formulações. Ao mesmo tempo, a correlação entre a acidez e a firmeza foi positiva, indicando que quanto maior a acidez, maior a firmeza das formulações. Aliste e Kindstedt (2005) também encontraram uma relação inversa entre pH e firmeza quando estudaram o efeito do pH na textura de queijo cremoso. Segundo Fox *et al.* (2000) uma maior acidificação resulta em maiores concentrações de íons  $H^+$ , fazendo com que as forças repulsivas existentes entre as micelas de caseína diminuam, provocando a sua agregação. A agregação das micelas de caseína, portanto, resultaria em produtos mais firmes.

A correlação entre o pH e a homogeneidade (tanto na aparência quanto na textura) foi negativa, indicando que formulações com menores valores de pH foram consideradas mais homogêneas. Ao mesmo tempo a correlação entre a acidez e a homogeneidade foi positiva. Os iogurtes com menor pH, como visto anteriormente, eram mais firmes. Pereira *et al.* (2003) relatam que géis mais firmes são resultado do maior número de ligações entre partículas protéicas e também da força dessas ligações, o que faz com que se tenham géis mais coesos. É possível que a maior coesividade dos iogurtes com menor pH tenha sido percebida pelos provadores como maior homogeneidade. De fato, a correlação entre coesividade e firmeza sensorial foi significativa e positiva.

A correlação entre o pH e a cremosidade foi positiva, indicando que as formulações com maiores valores de pH, foram consideradas pelos provadores como sendo mais cremosas. Ao mesmo tempo, a correlação entre a acidez e a

cremosidade foi negativa, indicando que quanto maior a acidez, menor a cremosidade das formulações. Possivelmente a menor firmeza dos produtos de maior pH (menos ácidos) tenha sido percebida como maior cremosidade pelos provadores. Ott *et al.* (2000) também observaram correlação positiva entre o pH e a cremosidade ao estudarem a influência da acidez no sabor de iogurtes.

A correlação entre pH e aroma de leite fermentado foi negativa, indicando que quanto menor o pH, maior a percepção de aroma de leite fermentado. Ott *et al.* (2000) observaram que o pH e o aroma de iogurte não se correlacionaram bem. No entanto, os autores mostram uma tendência de aumento no aroma de iogurte com a diminuição do pH, para valores de pH na faixa de 4,5. Isso decorre do fato de que a diminuição no pH é resultado de um maior consumo de lactose e, conseqüentemente, maior formação de ácido láctico e outros compostos voláteis responsáveis pelo aroma de leite fermentado.

A quantidade de atributos sensoriais correlacionados com os parâmetros pH e acidez titulável demonstra a importância da acidez nas características sensoriais de iogurtes. De fato, Ott *et al.* (2000) afirmam que a acidez influencia muitos atributos sensoriais.

Foram encontradas algumas correlações significativas entre o teor de lactose ou teor de proteína e atributos sensoriais dos iogurtes avaliados na ADQ. É importante relatar que as formulações em estudo (1, 2, 3, 4 e 5) apresentavam teores de lactose e proteína diferentes. Nas análises físico-químicas (pH e acidez titulável) foi observado que aquelas formulações com maior teor de lactose e proteína apresentavam menor pH e maior acidez titulável, resultado de uma maior concentração de substrato (lactose) para a fermentação pelas bactérias ácido-láticas, além do efeito tamponante das proteínas.

As correlações entre lactose e firmeza ou homogeneidade (na aparência ou na textura) foram positivas, indicando que as formulações com maior teor de lactose inicial foram consideradas mais firmes e homogêneas. Ao mesmo tempo, as correlações entre teor de proteína e homogeneidade (aparência) e firmeza (textura) foram positivas. Como as formulações com maior teor de lactose e proteína apresentavam menor valor de pH, e menores valores de pH foram relacionados a maiores valores de firmeza sensorial e homogeneidade, as correlações positivas entre lactose/proteína e firmeza e lactose/proteína e homogeneidade são coerentes. Segundo Cheftel *et al.* (1985) o gel formado é mais firme em concentrações maiores

de proteína devido à maior probabilidade de ligações intermoleculares. Essas relações foram percebidas pelos provadores, indicando uma boa sensibilidade da equipe sensorial.

A correlação entre lactose e aroma de leite fermentado foi positiva, indicando que as formulações com maiores teores de lactose foram avaliadas como tendo maior intensidade de aroma de leite fermentado. De fato, Nahon *et al.* (1996) afirmam que a liberação de compostos voláteis é aumentada com o aumento na concentração de açúcares inicialmente presente nos produtos. Além disso, aquelas formulações com maiores teores de lactose apresentavam menores valores de pH e, conseqüentemente, maiores concentrações de ácido láctico e outros componentes voláteis responsáveis pelo aroma de leite fermentado.

As correlações entre lactose ou proteína e cremosidade foram negativas, indicando que quanto maior o teor de lactose ou proteína das formulações, menos cremosa estas eram percebidas. Possivelmente haja relação com a firmeza, já que as formulações com maior teor de lactose inicial e maior conteúdo protéico eram mais ácidas e, conseqüentemente, mais firmes, o que pode ter feito com que os provadores as considerassem menos cremosas.

O teor de gordura e os atributos firmeza sensorial (textura) e homogeneidade (aparência e textura) dos iogurtes estiveram inversamente relacionados (correlação negativa). Salvador e Fiszman (2004) atribuem esse fato à menor quantidade de gordura e ao maior teor de proteína dos produtos desnatados, já que maiores quantidades de proteína geram maiores valores de firmeza. Ong (2007) também obteve correlação negativa entre firmeza e teor de gordura. Como relatado anteriormente, a presença de partículas de gordura no iogurte, devido à não utilização de homogeneizador, fez com que a formulação integral fosse considerada menos homogênea.

O teor de gordura e o gosto doce estiveram diretamente correlacionados, indicando que quanto maior o teor de gordura, mais doce era considerada a formulação pelos provadores. Possivelmente a presença de gordura tenha influenciado na percepção de doçura. Folkenberg e Martens (2003) também observaram correlação positiva entre teor de gordura e gosto doce, ao avaliarem o efeito do teor de gordura nas propriedades sensoriais de iogurtes de baixo teor de gordura.

O teor de gordura e a cremosidade estiveram positivamente correlacionados. Guggisberg *et al.* (2009) e Folkenberg e Martens (2003) também observaram que um aumento no teor de gordura aumentava a cremosidade de iogurtes.

O teor de gordura e o brilho estiveram negativamente correlacionados, indicando que quanto maior o teor de gordura menos brilhante a formulação era considerada pelos provadores. Possivelmente a presença da gordura tenha influenciado a percepção do brilho. Elmore *et al.* (1999) também observaram que pudins com maior teor de gordura eram considerados menos brilhantes pelos provadores.

O teor de gordura e os aromas ácido e de leite fermentado estiveram negativamente correlacionados, indicando que quanto maior o teor de gordura, menor intensidade nos aromas ácido e de leite fermentado era percebida nos produtos. De fato, Nahon *et al.* (1996) afirmam que a liberação de compostos voláteis é diminuída com o aumento na concentração de lipídios dos produtos. Folkenberg e Martens (2003) também observaram correlação negativa entre teor de gordura e aroma de acetaldeído. Além disso, a formulação integral possuía menor concentração de lactose inicial e proteína, conseqüentemente, apresentou menor acidez titulável, o que pode ter favorecido a menor percepção de acidez no aroma desse produto.

Apesar dos parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) não terem sido diferentes entre as formulações, algumas correlações significativas destes parâmetros com atributos sensoriais avaliados na ADQ foram encontradas. A correlação entre o parâmetro de cor  $L^*$  e o brilho foi positiva, mostrando uma tendência de que formulações com maior luminosidade instrumental (mais claras), fossem consideradas mais brilhantes pelos provadores. Concomitantemente, a correlação entre o parâmetro de cor  $b^*$  e o brilho foi negativa, indicando que as formulações de maior coloração amarela, medida instrumentalmente, foram consideradas com menor intensidade de brilho pelos provadores.

A correlação entre o parâmetro de cor  $L^*$  e a sinérese foi positiva, indicando que as formulações com maior quantidade de separação de soro apresentavam maior luminosidade. Ao mesmo tempo, apresentavam menores valores de  $b^*$  (correlação negativa).

O parâmetro de cor  $b^*$  esteve inversamente correlacionado com a homogeneidade e positivamente correlacionado com a cremosidade. Isso porque a formulação de maior teor de gordura apresentava uma textura menos homogênea, devido à presença da gordura.

A coesividade e a firmeza sensorial estiveram positivamente correlacionadas, indicando que quanto mais coesa era a estrutura dos produtos, os provadores percebiam maior firmeza. Fox *et al.* (2000) também observaram correlação positiva entre coesividade medida instrumentalmente e firmeza avaliada sensorialmente ao estudarem queijos com diferentes texturas.

A firmeza e a sinérese medidas por método físico não se correlacionaram ( $p > 0,05$ ) com os respectivos parâmetros quando medidos sensorialmente. A sinérese medida por método físico referia-se ao líquido expelido do produto após período de 2 horas de drenagem enquanto a sinérese sensorial era avaliada como uma separação espontânea, após a retirada dos produtos do refrigerador (no tempo 1), o que pode ter contribuído para a correlação não significativa. Pereira *et al.* (2003) também não observaram correlação significativa entre conteúdo de líquido superficial (sinérese) medido instrumentalmente e sensorialmente em géis e afirmam que a não linearidade dos resultados sensoriais e a variabilidade das medidas instrumentais podem ter contribuído para isso. Os autores ainda relatam que técnicas mais confiáveis e reprodutíveis para medir a separação de soro espontânea são necessárias antes que qualquer conclusão possa ser realizada sobre a influência desse parâmetro no modo como os provadores percebem a separação de soro nos produtos.

Szczesniak (2002) afirma que a textura é uma propriedade sensorial e, portanto, apenas humanos (ou animais no caso de alimentos destinados a eles) podem percebê-la e descrevê-la. Os instrumentos utilizados para a medida de textura simulam a percepção sensorial e podem detectar e quantificar apenas alguns parâmetros físicos, que podem ser interpretados em termos sensoriais. A firmeza sensorial foi definida como a facilidade ou não do corte do produto quando manipulado com uma colher, o que pode ter favorecido a correlação não significativa desta com a firmeza instrumental, medida no texturômetro. Isso porque, teoricamente, a firmeza medida no texturômetro é interpretada, em termos da percepção sensorial, como a força requerida para compressão do alimento entre a língua e o palato, considerando alimentos semi-sólidos.

Ao contrário do observado neste estudo, Salvador e Fiszman (2004) obtiveram correlações significativas entre sinérese instrumental e sinérese sensorial, assim como, entre firmeza instrumental e firmeza sensorial. No entanto, os autores correlacionaram os parâmetros de iogurtes integrais e desnatados separadamente e, nos iogurtes de maior teor de gordura os parâmetros de firmeza instrumental e sensorial não tiveram correlação significativa.

Os parâmetros pH / acidez e gosto ácido / aroma ácido não apresentaram correlações ( $p > 0,05$ ) entre si. Isso demonstra que as diferenças no pH e acidez encontradas instrumentalmente entre as formulações não foram percebidas pelos sentidos do gosto e olfato, possivelmente porque as medidas químicas ou instrumentais são mais sensíveis que a avaliação humana, mesmo quando os provadores são treinados. Moraes (2004) também não observou correlação ( $p > 0,05$ ) entre acidez titulável e aroma ácido, entre pH e gosto ácido e entre acidez titulável e gosto ácido. Ong (2007) observou que, embora o pH de queijos probióticos fosse menor do que o pH dos queijos controle, não houve influência na intensidade do gosto ácido dos produtos. No presente estudo, observou-se correlação do pH com o aroma de leite fermentado, como visto anteriormente, o que demonstra a importância dos compostos voláteis em iogurtes.

A correlação entre teor de lactose e gosto doce não foi significativa. Possivelmente a maior acidez dos produtos com maior teor de lactose inicial tenha mascarado o gosto doce. Além disso, a lactose possui um baixo poder de doçura. Segundo Yalpani (1993) a lactose possui doçura de 20 em relação a 100 da sacarose. Ordóñez *et al.* (2005) relatam, ainda, que o sabor da lactose pode ser mascarado pela caseína do leite.

As correlações entre os parâmetros de cor obtidos instrumentalmente ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) e a intensidade de cor avaliada pelos provadores foram baixas e não significativas. Pereira *et al.* (2003) afirmam que uma correlação não significativa não indica que os parâmetros instrumentais disponíveis não se relacionam com os atributos sensoriais e pode ser causada por variações nos dados sensoriais para esses atributos. Os autores ainda afirmam que, para atributos que não discriminam as amostras, uma correlação se torna mais difícil. De fato, as formulações apresentaram cor semelhante tanto na avaliação instrumental quanto na sensorial e, portanto, a cor não discriminou as formulações. Liou (2006) afirma que a análise de cor instrumental pode não corresponder à intensidade de cor

avaliada sensorialmente. Apenas o brilho das formulações apresentou correlação com os parâmetros de cor instrumental, como visto anteriormente.

Com os resultados obtidos pode-se observar a dificuldade em se obter correlações entre medidas sensoriais e parâmetros medidos instrumentalmente. Rosenthal (1999) relata que a textura, por exemplo, é determinada por vários estímulos e que os métodos instrumentais tendem a se concentrar em uma propriedade do alimento, sendo que não é possível assumir que haverá necessariamente uma correlação entre a medida instrumental e a experiência sensorial.

A maior dificuldade reside no fato de que os métodos instrumentais não produzem a mesma mudança no alimento que é obtida durante a experiência sensorial, fazendo com que muitas vezes, os resultados obtidos nos diferentes métodos não sejam correlacionados. Além disso, o sistema motor sensorial humano cria e processa sinais em uma maneira qualitativamente diferente daquela produzida por instrumentos e a resposta sensorial a estímulos mecânicos não é linear e pode ser afetada pela adaptação ou pela fadiga (PELEG, 2006).

Moraes (2004) concluiu em seu trabalho que a análise sensorial não pode ser substituída por determinações físico-químicas, já que o alimento é complexo e suas características são percebidas como um todo e não como um estímulo único e específico. Anzádua-Morales (1994) afirma que não se pode esquecer que os instrumentos são apenas auxiliares da avaliação sensorial e, portanto, não podem substituir o ser humano.

#### 5.4.4 Aceitação

A aceitação dos iogurtes foi determinada por meio do teste de escala hedônica, desenvolvido com a participação de 75 consumidores potenciais, sendo 66,67% de mulheres e 33,33% de homens, com idade variando de 15 a mais de 50 anos, prevalecendo a faixa etária de 15 a 25 anos (55,13%).

A maioria dos julgadores (58,9%) apresentava o terceiro grau (completo ou em andamento); 24,36% possuíam pós-graduação; 15,39% tinham o segundo grau completo e apenas 1,28% possuía o primeiro grau completo.

A equipe era composta por 51,28% de alunos de graduação, 26,93% de alunos de pós-graduação, 11,54% de funcionários, 5,13% de professores e 5,12% de pessoas que exerciam outra função dentro da instituição.

Todas as pessoas (100%) relataram que gostavam de iogurte. Com relação a frequência de consumo de iogurtes naturais, 38,46% consumiam moderadamente (algumas vezes por mês), 28,21% frequentemente (algumas vezes por semana) e 26,92% ocasionalmente (algumas vezes por ano). Apenas 6,41% dos avaliadores relataram nunca consumir este tipo de iogurte.

Com relação a frequência de consumo de iogurtes de baixo teor de gordura, 30,77% consumiam ocasionalmente (algumas vezes por ano); 23,08% frequentemente (algumas vezes por semana) e 23,08% moderadamente (algumas vezes por mês). 23,07% dos avaliadores relataram nunca consumir este tipo de iogurte.

Com relação a frequência de consumo de iogurtes com fibras, 33,33% consumiam ocasionalmente (algumas vezes por ano), 23,08% frequentemente (algumas vezes por semana) e 21,79% moderadamente (algumas vezes por mês). 21,8% dos avaliadores relataram nunca consumir este tipo de iogurte.

Na tabela 25 estão os valores hedônicos médios das cinco formulações e as porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição dos produtos.

**Tabela 24 – Aceitação dos iogurtes\***

Formulação**	Aceitabilidade Geral	% Aprovação	% Indiferença	% Rejeição
1	6,8 ± 1,6 <sup>A</sup>	80,00%	5,33%	14,67%
2	6,0 ± 1,8 <sup>B</sup>	65,33%	10,67%	24,00%
3	6,2 ± 1,7 <sup>A,B</sup>	73,34%	9,33%	17,33%
4	6,0 ± 1,6 <sup>B</sup>	68,00%	13,33%	18,67%
5	6,1 ± 1,7 <sup>A,B</sup>	66,67%	12,0%	21,33%

\*Médias ± desvio padrão na mesma coluna acompanhadas de letras iguais não diferem a  $p \leq 0,05$

\*\*Formulações: 1 (iogurte integral); 2 (iogurte desnatado); 3 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP); 4 (iogurte desnatado adicionado de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*); 5 (iogurte desnatado adicionado de inulina Raftiline HP e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*)

Valor Hedônico 1-desgostei muitíssimo 9- gostei muitíssimo

% de aprovação = porcentagem de notas de 6 a 9

% de indiferença = porcentagem de notas 5

% de rejeição = porcentagem de notas de 1 a 4

A aceitabilidade geral foi bastante semelhante para todas as formulações já que, embora diferenças tenham sido encontradas, os resultados

estavam na mesma faixa da escala hedônica (entre 6 e 7), indicando que os consumidores gostaram ligeiramente dos iogurtes. Hekmat e Reid (2006) observaram comportamento semelhante ao estudarem as propriedades sensoriais de iogurtes probióticos.

A retirada da gordura interferiu negativamente na aceitação, pois a formulação integral (1) foi mais aceita do que as formulações desnatada (2) e probiótica (4). Jaworska *et al.* (2005) também obtiveram maior aceitação para iogurtes comerciais integrais quando comparados a iogurtes probióticos e/ou de baixo teor de gordura. Porém, a adição de inulina contribuiu para melhorar a aceitação de iogurtes desnatados contendo ou não probióticos, isto é, a aceitação das formulações 3 (desnatada com inulina) e 5 (desnatada com inulina e probiótico) foi semelhante à aceitação da formulação integral (1). Guven *et al.* (2005) também não obtiveram diferença na aceitação geral de iogurtes integrais e iogurtes desnatados adicionados de 1% de inulina. El-Nagar *et al.* (2002) obtiveram melhores características sensoriais de sorvetes com a adição de inulina, não obtendo diferença na aceitação em relação aos sorvetes integrais. Spiegel *et al.* (1994) relatam que houve uma melhor aceitação de iogurtes adicionados de FOS em relação aos iogurtes controle, sendo que o prebiótico promoveu a aparência e a textura dos produtos, tornando-as mais cremosas.

Comparando-se as formulações desnatadas (2, 3, 4 e 5) verificou-se que não houve diferença de aceitação entre elas e que a adição do probiótico não alterou a aceitação, apesar da porcentagem de rejeição ter sido maior para a formulação desnatada (2) do que para a probiótica (4). Kristo *et al.* (2003) e Kailasapathy (2006) também não observaram diferença na aceitabilidade de iogurtes controle e adicionados de *L. paracasei* e *L. acidophilus* / *B. lactis*, respectivamente. Porém, quando a inulina esteve presente na formulação contendo probiótico (5) a aceitação foi semelhante a da formulação integral (1), provavelmente devido ao papel da inulina. De acordo com Buriti (2005), *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* pode produzir um sabor residual nos produtos. A presença de inulina pode ter diminuído a percepção desse sabor residual, pois não foi citado na ADQ, e melhorado a textura do produto fazendo com que houvesse uma melhor aceitação do produto simbiótico (formulação 5), aproximando-o do produto integral (formulação 1).

Ao contrário do que foi observado no presente experimento, Brennan e Tudorica (2007) não observaram efeito da adição de inulina na aceitabilidade geral de iogurtes. Akin *et al.* (2007) também não observaram efeito da adição de inulina nas propriedades sensoriais (cor e aparência, —corpoll e textura e sabor) de sorvetes probióticos. Aragon-alegro *et al.* (2007), por sua vez, reportaram ausência de influência da inulina na aceitabilidade de mousses de chocolate adicionados de *L. paracasei*.

Comentários realizados por 20% dos provadores estavam relacionados ao maior teor de exsudato nas formulações que continham inulina, indicando que uma diminuição na sinérese dos produtos resultaria em um aumento no índice de aceitação destes iogurtes. Outros comentários como falta de cremosidade (6,41%); consistência acentuada (5,13%) e falta de doçura (2,56%) também foram apresentados. De fato, Moraes (2004) observaram que 70% dos avaliadores consumiam iogurte saborizado e mais de 40% na forma líquida, o que pode ter gerado os dois últimos comentários.

## 6 CONCLUSÕES

- O tipo de leite em pó (integral ou desnatado) e a quantidade de leite em pó desnatado utilizados no meio base para a formulação interferem na composição química e nas características físicas, químicas, microbiológicas e sensoriais dos iogurtes;
- a adição de 2% de inulina Raftiline HP não resulta em alteração da cor das formulações de iogurte medida por colorímetro e não exerce influência sobre a viabilidade de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*. Por outro lado, altera os perfis sensorial (aparência, aroma, sabor e textura) e de textura instrumental e aumenta a sinérese dos iogurtes. A inulina torna o produto desnatado igualmente aceito ao integral;
- a adição de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* não resulta em alteração da cor das formulações de iogurte medida por colorímetro e da aceitabilidade em relação ao produto desnatado e não exerce influência sobre a viabilidade de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*. Por outro lado, altera os perfis sensorial (aparência, aroma, sabor e textura) e de textura instrumental. Adicionalmente, diminui a sinérese dos iogurtes e tem um possível efeito antagônico sobre bolores e leveduras;
- o teor de gordura não resulta em alteração da cor das formulações de iogurte medida por colorímetro e não exerce influência sobre a viabilidade de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*. Por outro lado, altera os perfis sensorial (aparência, aroma, sabor e textura) e de textura instrumental e aumenta a sinérese de produtos integrais;

- a estocagem a 4°C por 28 dias resulta em diminuição no conteúdo médio de inulina e lactose e no pH e aumento da acidez titulável e sinérese dos produtos. O perfil de textura instrumental, exceto a coesividade, e as contagens de *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* são semelhantes no primeiro e no 28º dia de armazenamento;
- o *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* manteve um nível satisfatório de viabilidade durante a fabricação e estocagem dos iogurtes (7,877 – 8,282 log UFC mL<sup>-1</sup>) fazendo com que os iogurtes formulados (formulações 4 e 5) possam ser considerados produtos probióticos;
- a fim de se utilizar a alegação de propriedade funcional da inulina permitida pela legislação brasileira, a porção diária do produto pronto para o consumo (formulações 3 e 5) deve ser de no mínimo 100 gramas.

## 7 PERSPECTIVAS

O desenvolvimento de alimentos funcionais envolve não somente as partes tecnológica e sensorial, mas também a avaliação da eficácia dos ingredientes utilizados. Trabalhos futuros poderão dar continuidade a este estudo enfocando ensaios biológicos, a fim de estudar os benefícios à saúde associados a inulina e ao probiótico quando adicionados a iogurtes separadamente ou em conjunto.

A utilização de inulina como substituto de gordura em iogurtes pode ser estudada, ainda, avaliando diferentes concentrações deste carboidrato a fim de se encontrar uma concentração ótima, na qual o produto desnatado seja o mais semelhante possível ao seu análogo integral.

O desenvolvimento de produtos probióticos, prebióticos e simbióticos tem um grande mercado na indústria láctea. Seria de interesse das indústrias e dos consumidores que houvesse uma expansão na categoria de produtos com esses ingredientes, com especial atenção aos produtos cárneos.

## REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S.A; GRIFFIN, I.J; HAWTHORNE, K.M; LIANG, L; GUNN, S.K; DARLINGTON,G; ELLIS, K.J. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 82, n. 2, p. 471– 476, 2005.
- ABREU, L.R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras: UFLA/ FAEPE, 2000. 205p.
- ACHANTA, K.; ARYANA, K.J.; BOENEKE, C.A. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. **LWT**, v. 40, n. 3, p.424-429, 2007.
- AKALIN, A.S; FENDERYA, S.; AKBULUT, N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, n. 6, p.613-621, 2004.
- AKALIN, A.S.; GÖNÇ, G.; ÜNAL, G.; FENDERYA, S. Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of lática culture in reduced-fat probiotic yogurt during storage. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 7, p.222-227, 2007.
- AKIN, M.P.; AKIN, M.S.; KIRMACI, Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p.93-99, 2007.
- ALIMENTOS FUNCIONAIS. IMPORTÂNCIA DO MERCADO. In: **Congresso Internacional sobre alimentos funcionais. Ciência, Inovação e Regulamentação**. FIESP, SESI, SENAI, IRS. Comitê da Cadeia Produtiva de Alimentos. São Paulo. Abril. 2006. Disponível em: <<http://www.fiesp.com.br/alimentosfuncionais/telas/alimentos.asp?Area=alimentos>>. Acesso em: 15 jan. 2008.
- ALISTE, M.A.; KINDSTEDT, S. Effect of increasing pH on texture of full and reduced-fat cream cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 3, p. 225-230, 2005.
- ALTSCHUL, A.M. Adult obesity, In: ALTSCHUL, A.M, **Low-calorie Foods Handbook**. New York, Marcel Dekker, INC, 1993, p.13-20.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. ADA. 2005. **Functional Foods: What are they?** American Dietetic Association Public Relations Team. Agosto/12. Disponível em: < <http://www.eatright.org/cps/rde/xchg/ada/hs.xsl/index.html> >. Acesso: 15 jan. 2008.

ANZÁLDUA-MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Editora Acribia, 1994. 198 p.

APORTELA-PALACIOS, A.; SOSA-MORALES, M.E.; VÉLEZ-RUIZ, J.F. Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. **Journal of Texture Studies**, v. 36, n. 3, p. 333-349, 2005.

ARAGON-ALEGRO, L.C. et al. Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. **LWT**, v. 40, n. 4, p.669-675, 2007.

ARES, G. et al. Influence of gelatin and starch on the instrumental and sensory texture of stirred yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n.4, p.263-269, 2007.

ARYANA, K.J. Folic acid fortified fat-free plain set yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 56, n. 4, p.219-222, 2003.

ARYANA, K.J; MCGREW. P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. **LWT**, v. 40, n. 10, p.1808-1814, 2007.

ARYANA, K.J. et al. Fat-free plain yogurt manufactured with inulins of various chain lengths and *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Food Science**, v.72, n.3, p.79-84, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY (AOAC). **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed; Arlington, v.2, 1995.

AZIZPOUR, K. et al. History and basic of probiotics. **Research Journal of Biological Sciences**, v.4, n. 4, p. 409-426, 2009.

BACUS, J. Update: meat fermentation. **Food Technology**, v. 38, n. 6, p. 59-69, 1984.

BALCÁZAR-MUÑOZ, B.R.; MARTÍNEZ-ABUNDIS, E.; GONZÁLEZ-ORTIZ, M. Efecto de la administración oral de inulina sobre el perfil de lipídios y la sensibilidad a la insulina em indivíduos con obesidad y dislipidemia. **Revista Médica de Chile**, v.131, n.6, p. 597-604, 2003.

BARRETO, G.P.M. et al. Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.6, n.1, p.119-126, 2003.

BOUHNİK, Y. et al. Prolonged administration of low-dose inulin stimulates the growth of bifidobacteria in humans. **Nutrition Research**, v. 27, n. 4, p.187-193, 2007.

BOURNE, M.C. Texture Profile of Ripening Pears. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 2, p. 223-226, 1968.

BRANDAO, S.C.C. Tecnologia da produção de iogurte. **Revista Leite e Derivados**, n. 25, v.5, p.24-38, 1995.

BRANDT, M.A.; SKINNER, E.Z.; COLEMAN, J.A. Texture profile method. **Journal of Food Science**, v. 28,n. 4, p. 404-409, 1963.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução nº18 de 30 de abril de 1999. Aprova o 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 República Federativa do Brasil**. Disponível em : <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=109>>. Acesso em: 29 jan. 08. 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Resolução nº5 de 13 de novembro de 2000. Oficializa os —Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC nº02 de 07 de janeiro de 2002. Aprova Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional ou de saúde. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. 9 jan. 2002. Disponível em : < <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=1567&word=>>. Acesso em: 29 jan. 08. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Reforma Agrária, Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Anexo I- Métodos Analíticos Oficiais para análises microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e água. Disponível em: < <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>> . Acesso em: 20 fev. 08. 2003

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em alimentos funcionais e novos alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **Atualizado em 11 de janeiro de 2005**. VIII – Lista das Alegações aprovadas. Disponível em : < <http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>>. Acesso em 29 jan. 08. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **Atualizado em agosto de 2007**. IX – Lista das alegações de propriedades funcionais aprovadas. Disponível em : < [http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em 18 fev. 08. 2007.

BRENNAN, C.S.; TUDORICA, C.M. Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: comparative study of the utilisation of barley beta-glucan, guar gum and inulin. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, n. 5, p.824-833, 2007.

BRUNO, F.A; LANKAPUTHRA, W.E.V; SHAH, N.P. Growth, viability and activity of *Bifidobacterium spp.* in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, v. 67, n.7, p.2740-2744, 2002.

BURITI, F.C.A. et al. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p.1605-1610, 2007.

BURITI, F.C.A. **Viabilidade de obtenção de queijo fresco cremoso simbiótico**. São Paulo, 2005, 75 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas- Universidade de São Paulo.

BURITI, F.C.A. et al. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT**, v.38, n.2, p.173-180, 2005.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.1, p.75-84, 2008.

CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. Alimentos funcionais – uma revisão. **Boletim da SBCTA**, v. 29, n.2, p. 193-203, jul/dez 1995a.

\_\_\_\_\_. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Livraria Varela, 1995b, p. 86-110.

CARABIN, I.G.; FLAMM, W.G. Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 3, p.268-282, 1999.

CARDARELLI, H.R. et al. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. **LWT**, v. 41, n. 6, p.1037-1046, 2008a.

CARDARELLI, H.R. **Desenvolvimento de queijo petit-suisse simbiótico**. 2006. 133p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo.

CARDARELLI, H.R. et al. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. **Journal of Food Science and Agriculture**, v.88, n.8, p.1318-1324, 2008b.

CASTELLUCCI, C.M.N.; SAMPAIO, G.R. Avaliação crítica do uso de substitutos de gordura e seu papel na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis. In: **Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde**. São Paulo: Sigmus Editora, 2002. 94p.

CHANDAN, R.C.; O'RELL, K.R. Principles of yogurt processing. In: **Manufacturing yogurt and fermented milks**. Blackwell Publishing, 2006. p.195-209.

CHAMMAS, I.G.; SALIBA, R.; BÉAL, C. Characterization of the fermented milk —labanll with sensory analysis and instrumental measurements. **Journal of Food Science**, v.71, n.2, p.156-162, 2006.

CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENT, D. Amino acids, peptides, and proteins. In: FENNEMA, R.O. (ed.). **Food Chemistry**, New York: Marcel Dekker, 1985. 991p.

CIVILLE A.V; SZCZESNIAK, A.S. Guidelines to training a texture profile painel. **Journal of Texture Studies**, Trumbull, v.4, n.2, p.204, 1973.

COUSSEMENT, P.A.A. Inulin and oligofructose: safe intakes and legal status. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7, p. 1412-1417, 1999.

CRITTENDEN, R.G. et al. Selection of a *Bifidobacterium* strain to complement resistant starch in a synbiotic yoghurt. **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, n. 2, p.268-278, 2001.

CUMMINGS, J.H; MACFARLANE, G.T; ENGLYST, H.N. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 415-420, 2001.

DAMASIO, M.H; COSTELL, E. Análisis sensorial descriptivo: generation de descriptors y selección de catadores. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v.31, n.2, p.165-178, 1991.

DAMIÃO, A.O.M.C. Prebióticos, probióticos e simbióticos: aplicações clínicas. **Nestlé.Bio**, p. 18-24, 2007.

DAVE, R.I.; SHAH, N.P. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial lática cultures. **International Dairy Journal**, v. 7, n. 1, p. 31-41, 1997.

DAVIDSON, R.H. et al. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.4, p.666-673, 2000.

DELLO STAFOLLO, M. et al. Influence of dietary fibre addition on sensory and rheological properties of yogurt. **International Dairy Journal**, v.14, n. 3, p.263-268, 2004.

DEN HOND, E.; GEYPENS, B.; GHOOS, Y. Effect of high performance chicory inulin on constipation. **Nutrition Research**, v.20, n.5, p.731-736, 2000.

DESAI, A.R.; POWELL, I.B.; SHAH, N.P. Survival and activity of probiotic *Lactobacilli* in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, v.69, n.3, p. 57-60, 2004.

DOMAGALA, J. et al. Rheological properties and texture of yoghurts when oat-maldextrin is used as fat substitute. **International Journal of Food Properties**, v. 9, n. 1, p. 1-11, 2006.

DONKOR, O.N. et al. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 6, p. 657-665, 2007.

DONKOR, O.N. et al. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 10, p.1181-1189, 2006.

DUBOC, P.; MOLLET, B. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. **International Dairy Journal**, v.11, n. 9, p. 759-768, 2001.

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 2. ed, Curitiba: Ed. Champagnat, 2007. 239 p.

EARLY, R. **Tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 1998. 459p.

ELMORE, J.R. et al. Preference mapping: relating acceptance of —creaminessll to a descriptive sensory map of a semi-solid. **Food Quality and Preference**, v. 20, p. 465-475, 1999.

EL-NAGAR, CLOWES, G. et al. Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 2, p.89-93, 2002.

FAO / WHO. 2001. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2008.

FAO / AGNS. **FAO Technical Meeting Report on Prebiotics**. 2007. Disponível em: <[http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics\\_Tech\\_Meeting\\_Report.pdf](http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotics_Tech_Meeting_Report.pdf)>. Acesso em: 30 jan. 2008.

FDA / CFSAN. **Agency response letter GRAS notice nº GRN 000118**. 2003. Disponível em: < <http://vm.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g118.html> > . Acesso em: 30 jan. 2008.

FOLKENBERG, D.M.; MARTENS, M. Sensory properties of low fat yogurts. Part A: effect of fat content, fermentation culture and addition of non-fat dry milk on the sensory properties of plain yogurts. **Milchwissenschaft**, Milk. Sci. Int., v. 58, n. 1-2, p. 48-51, 2003.

FOOD STANDARDS AGENCY. **Mc Cance and Widdowson's the Composition of Foods, Sixty Summary Edition**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002.

FOOKS, L.J; FULLER,R.; GIBSON, G.R. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 1, p.53-61, 1999.

FOX, P.F. et al. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p.287-291, 2002.

FRIEDMAN, H.H.; WHITNEY, J.E.; SCZCESNIAK, A.S. The texturometer- a new instrument of objective texture measurement. **Journal of Food Science**, v. 28, n. 4, p. 390-396, 1963.

FUCHS, R.H.B. **logurte de soja suplementado com oligofrutose e inulina**. ). 2004. 100 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

FUCHS, R.H.B. et al. logurtell de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.1, p.175-181, 2005.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, n. 5, p.365-378, 1989. 147

GALVAO, L.C.; FERNANDES, M.I.M.; SAWAMURA, R. Conteúdo de lactose e atividade de  $\beta$ -galactosidase em iogurtes, queijos e coalhadas produzidas no Brasil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v.32, n.1, p.8-14, 1995.

GANINA, V.I.; SEMENOV, G.V.; ANANIEVA, N.V. The biological potential increasing of probiotic bacteria in functional products. In: **International Dairy Federation Symposium "Lactose and its derivatives"**. Moscou, p.287, 2007. Disponível em: <[http://www.mlekoland.com/pl/filidf/IDF\\_Moskwa\\_2007\\_Abstrakty.pdf](http://www.mlekoland.com/pl/filidf/IDF_Moskwa_2007_Abstrakty.pdf)> . Acesso em: 24 set. 09.

GBA. **Functional foods and drinks market to reach U.S. \$109 billion by 2010**. Global Industry Analystis, San Jose, Calif., 2007.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M. Dietary Modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; WANG, X. Inhibitory effects of bifidobacteria on other colonic bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 77, n. 4, p. 412-420, 1994.

GIBSON, G.R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**; v. 17, p. 259-275, 2004.

GIBSON, G.R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, n. 2, p. 25-31, 2004.

\_\_\_\_\_. Functional Foods: Probiotics and Prebiotics. **Culture**, v. 28, n.2, p. 1-7, set. 2007.

GONZÁLEZ, V.; GIOIELLI, L.A.; OLIVEIRA, M.N. Influência do tamanho da amostra e da lubrificação na determinação da textura instrumental de queijo tipo minas frescal. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, v. 34, n. 2, p. 109-113, 1998.

GONZÁLEZ-TOMÁS, L. et al. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 858-866, 2008.

GUARNER, F. Inulin and oligofructose: impact on intestinal diseases and disorders. **British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 1, p.61-65, 2005.

GUEIMONDE, M. et al. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, n.37, p.839-850, 2004.

GUÉRIN-DANAN, C. et al. Food supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* DN-114 011 protects suckling rats from rota-virus associated diarrhea. **Journal of Nutrition**; Bethesda, v.131, n. 1, p.111-117, 2001.

GUGGISBERG, D. et al. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 2, p.107-115, 2009.

GULLER-AKIN, M.B.; AKIN, M.S. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. **Food Chemistry**, v.100, n. 2, p.788-793, 2007.

GUNASERAKAN, S.; AK, M.M. Cheese texture. In: GUNASERAKAN, S.; AK, M.M. **Cheese Rheology and Texture**. CRC Press: Boca Raton, p.299-329, 2003.

GUVEN, M. et al. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. **International Journal of Dairy Technology**, v. 58, n.3, p.180-184, 2005.

GRIFFIN, I.J. et al. Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. **Nutrition Research**, v. 23, n. 7, p.901-909, 2003.

HAQUE, Z.U.; JI, T. Cheddar whey processing and source: II. Effect on non-fat ice cream and yoghurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 4, p. 463–473, 2003.

HAULY, M.C; FUCHS, R.H; PRUDENCIO-FERREIRA, S.H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista da Nutrição**, v.18, n.5, p. 613-622, 2005.

HASSAN, A.N.; AWAD, S.; MISTRY, V.V. Reduced fat process cheese made from young reduced fat cheddar cheese manufactured with exopolysaccharide-producing cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 8, p. 3604-3612, 2007.

HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, J.H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B. J. **The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease, The Lactic acid Bacteria**. New York: Chapman and Hall, 1992. v.1 pp.209-224.

HEALTH CANADA. 1998. **Policy paper: nutraceuticals/ functional foods and health claim on foods**. Ottawa, Ontario, Canada. Health Canada, Health Protection Branch, Therapeutic Products Programme and Food Directorate. Disponível em: <<http://www.hc-sc.gc.ca>>. Acesso em: 15 jan. 2008.

HEKMAT, S.; REID, G. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. **Nutrition Research**, v.26, n. 4, p.163-166, 2006.

HEYMANN, H.; LAWLESS, H.T. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. Springer, 1999. 848p.

HLIVAK, P. et al. One-year application of probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 decreases serum cholesterol levels. **Bratisl Lek Listy**, v.106, n.2, p.67-72, 2005.

HOEBREGS, H. Fructans in foods and food products, ion-exchange chromatographic method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.80, n. 5, p.1029-1037, 1997.

HOLZAPFEL, W.H. et al. Overview of gut flora and probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 2, p.85–101, 1998.

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

HOPKINS, M.J.; CUMMINGS, J.H.; MCFARLANE, G.T. Inter-species differences in maximum specific growth rates and cell yields of bifidobacteria cultured on oligosaccharides and other simple carbohydrate sources. **Journal of Applied Microbiology**, v. 85, n. 2, p.381-386, 1998.

HORT, J.; Le GRYS, G. Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4-7, p. 475-481, 2001.

IBRAHIM, S.A., CARR, J.P. Viability of bifidobacteria in commercial yogurt products in North Carolina during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v.59, p.272-277, 2006.

IMM, J.Y. et al. Functionality and physico-chemical characteristics of bovine and caprine mozzarella cheeses during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2790-2798, 2003.

INGRASSIA, I.; LEPLINGARD, A.; DARFEUILLE-MICHAUD, A. *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the ability of adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from Crohn's disease patients to adhere to and to invade intestinal epithelial cells. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 6, p.2880-2887, 2005.

INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION. IFIC. **Alimentos funcionales**. 2004. Disponível em: <<http://www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm?renderforprint=1>>. Acesso em: 15 jan. 2008.

IRUDAYARAJ, J.; CHEN, M.; McMAHON, D.I. Texture development in Cheddar cheese during ripening. **Canadian Agricultural Engineering**, v. 41, p. 253-258, 1999.

ISLETEN, M. KARAGUL-YUCEER, Y. Effects of dried dairy ingredients on physical and sensory properties of nonfat yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 8, p.2865-2872, 2006.

ITSARANUWAT,P; AL-HADDAD,K & ROBINSON, R.K. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. **International Journal of Dairy Technology**, v. 56, n.4, p.203-210, 2003.

IZZO, M; NINESS,K. Formulating nutrition bars with inulin and oligofructose. **Cereal Foods World**, v.46, n.3, p.102-106, 2001.

JANHOJ, T. et al. Sensory and rheological characterization of low-fat stirred yogurt. **Journal of Texture Studies**, v. 37, n. 3, p. 276-299, 2006.

JANHOJ, T.; FROST. M.B.; IPSEN, R. Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 5, p. 798-806, 2008.

JAWORSKA, D. et al. Relative importance of texture properties in the sensory quality and acceptance of natural yoghurts. **International Journal of Dairy Techonoly**, v. 58, n. 1, p.39-46, 2005.

JONES, L.V.; PERYAM, D.R.; THURSTONE, L.L. Development of a scale for measuring soldier's food preferences. **Food Research**, v. 20, n. 5, p. 512-520, 1955.

KAHYAOGLU, T.; KAYA, S.; KAYA, A. Effects of fat reduction and curd dipping temperature on viscoelasticity, texture and appearance of Gaziantep cheese. **Food Science and Technology International**, v. 11, n. 3, p.191-198, 2005.

KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. **LWT**, v. 39, n. 10, p.1221–1227, 2006.

KAILASAPATHY, K.; PHILLIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. lactis in stirred fruit yogurts. **LWT**, v. 41, n.7, p. 1317-1322, 2008.

KAPLAN, H.; HUTKINS, R.W. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, n. 6, p.2682-2684, 2000.

KARDEL, G.; ANTUNES, L. A. F. Culturas lácticas e probióticas empregadas na fabricação de leites fermentados. In: LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G. **Leites fermentados e bebidas lácteas: tecnologia e mercado**. Campinas:ITAL, 1997. p. 26-33.

KHURANA, H.K.; KANAWJIA, S.K. Recent trends in development of fermented milks. **Current Nutrition and Food Science**, v. 3, p. 91-108, 2007.

KIM, Y.; FAQI, M.N.; WANG, S.S. Factors affecting gel formation of inulin. **Carbohydrate Polymers**, v.46, n.2, p.135-145, 2001.

KIP, P.; MEYER, D.; JELLEMA, R.H. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. **International Dairy Journal**, v.16, n. 9, p.1098-1103, 2005.

KOLIDA, S.; MEYER, D.; GIBSON, G.R. A double-blind placebo: controlled study to establish the bifidogenic dose of inulin in healthy humans. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 10, p. 1189-1195, 2007.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C.G.; TZANETAKIS, N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. **International Dairy Journal**, v.13, n. 7, p.517-528, 2003.

KURMANN, J.A. Os fatores biológicos e técnicos da fabricação de iogurte. In: CONGRESSO DE LATICÍNIOS, 4., 1977, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, 1977.

KROGER, M. Quality of yoghurt. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.59, n.2, p.344-350, 1976.

KWAK, N. S; JUKES, D.J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**, v. 12, n. 2, p.99-107, 2001.

LA TORRE, L.; TAMIME, A.Y.; MUIR, D.D. Rheology and sensory profiling of set-style fermented milks made with different commercial probiotic and yoghurt lática cultures. **International Journal of Dairy Technology**, v.56, n. 3, p.163-170, 2003.

LAJOLO, F.M. Alimentos funcionais. Uma visão geral. In: **A importância dos alimentos vegetais na proteção da saúde: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidade degenerativa**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. p.175-181.

LAURENZO, K.S; NAVIA, J.L.; NEIDICH, D.S. Preparation of inulin products. **USA Patent number 5,968,365**; October 19, 1999.

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. New York: Chapman & Hall, 1998. 819p.

LEE, W.J.; LUCEY, J.A. Structure and physical properties of yogurt gels: effect of inoculation rate and incubation temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 10, p. 3153-3164, 2004.

LETEXIER, D; DIRAISON, F.; BEYLOT, M. Addition of inulin to a moderately high-carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentrations in humans. **Journal of Clinical Nutrition**; v. 77, n. 3, p.559–564, 2003.

LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, n. 3659, p. 747-748, 1965.

LIONG, M.T.; SHAH, N.P. Optimization of growth of *Lactobacillus casei* ASCC 292 and production of organic acids in the presence of fructooligosaccharide and maltodextrin. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 2, p. 113-120, 2005.

LIYOU, B-K. **Sensory analysis of low fat strawberry ice creams prepared with different flavor chemicals and fat mimetics**. 2006. 306p. Tese (Doutorado em Filosofia) – Universidade de Missouri, Columbia. Disponível em:

<<http://edt.missouri.edu/Fall2006/Dissertation/LiouB-120806-D5639/research.pdf>>. Acesso em: 09 jun.09.

LIVESEY, G. Tolerance of low-digestible carbohydrates: a general view. **British Journal of Nutrition**; v. 85, n. 1, p.7-16, 2001.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, v.1/2, p. 11-17, 2001.

LUCEY, J.A. et al. A comparison of formation, rheological properties and microstructure of acid skim milk gels made with a bacterial culture or glucono-d-lactone. **Food Research International**, v.31, n.2, p.147-155, 1998.

MAKRAS, L.; VAN ACKER, G.; DE VUYST, L. *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 8700:2 degradaes inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n. 11, p.6531-6537, 2005.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.18, n.2, p.287-298, 2004.

MARUYAMA, L.W. et al. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 2006.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 2/3, p.173-182, 2002. 154

MEGAZYME. Disponível em: [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com). Acesso em : 05 abr. 2009.

MEILGAARD, M; CIVILLE, G.V; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. 3. ed. London: CRC Press, 1998. 281p.

MENDOZA, E. et al. Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. **Meat Science**, v.57, n. 4, p. 387-393, 2001.

MILLER, G.D.; GROZIAK, S.M. Impact of fat substitutes on fat intake. **Lipids**, v. 31, n. 1, p. 293-296, 1996.

MINELLI, E.B. et al. Assesment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. **International Dairy Journal**; Amsterdam, v.14, n.8, p.723-736, 2004.

MODLER, H.W. et al. Physical and sensory properties of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 3, p. 422-429, 1983.

MORAES, P.C.B.T. **Avaliação de iogurtes líquidos comerciais sabor morango: estudo de consumidor e perfil sensorial**. 2004. 128p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

MORTAZAVIAN, A.M. et al. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 2, p. 123-127, 2007.

MORTENSEN, A.; POULSEN, M.; FRANDBSEN, H. Effect of a long-chained fructan Raftiline HP on blood lipids and spontaneous atherosclerosis in low density receptor knockout mice. **Nutrition Research**, v. 22, n. 4, p.473-480, 2002.

MOSKOWITZ, H.R. **Product Testing and Sensory Evaluation of food-marketing and R&D Approaches**. Westport: Food and Nutrition Press, 1983. 605p.

MUSSATTO, S.I.; & MANCILHA, I.M. Non-digestible oligosaccharides: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 3, p.587-597, 2007.

NAHON, D.F.; ROOZEN, J.P; GRAAF, C.D. Sweetness flavor interactions in soft drinks. **Food Chemistry**, v. 56, n. 3, p. 283-289, 1996.

NEUMANN, A.I; ABREU, E.S; TORRES, E.A.F.S. Alimentos saudáveis, alimentos funcionais, fármaco alimentos, nutracêuticos... Você já ouviu falar? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.71, p.19-23, 2000.

NIGHSWONGER, B.D.; BRASHEARS, M.M.; GILLILAND, S.E. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.79, n.2, p.212-219, 1996.

NINESS, K.R. Inulin and Oligofructose: what are they? **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.129. n.7, p. 1402-1406,1999.

ONG, L. **Influence of probiotic organism on proteolytic pattern release of bioactive compounds and sensory attributes of Cheddar cheese**. 2007. 281p. Tese (Doutorado em Filosofia) – Faculdade de Engenharia e Ciência da Saúde, Universidade de Victoria, Werribee, Victoria, Australia. Disponível em: <<http://eprints.vu.edu.au/1428/1/ong.pdf>>. Acesso em: 04 jun. 09.

**ORAFTI – ACTIVE FOOD INGREDIENTS**. Application File: Fermented Dairy Products. Doc A8-90\*01/99. Belgium, 1999. 10p.

ORDÓÑEZ, J.A. et al. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre: Artmed, v. 2, 2005. 279p.

OTT, A. et al. Sensory investigation of yoghurt flavor perception: mutual influence of volatiles and acidity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 2, p. 441-450, 2000.

ÖZER, D.; AKIN, S.; OZER, B. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in acidophilus-bifidus yoghurt. **Food Science and Technology**, v.11, n.1, p.19-26, 2005.

PAGLIARI, E.; BEATRICE, N. Sensory and rheological properties of low-fat filled —pasta filata cheese. **Journal of Dairy Research**, v. 61, n. 2, p. 299-304, 1994.

PARRA, R.G.C.; DUAILIBI, S.R. Uso de alimentos funcionais: os principais e as quantidades necessárias para se obter o apelo de saudabilidade. In: **Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde**. São Paulo: Sigmus Editora, 2002. 94p.

PASEEPHOL, T.; SMALL, D.M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, v. 39, p. 617-634, 2008.

PELEG, M. On fundamental issues in texture evaluation and texturization – a view. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 4, p. 405-414, 2006.

PENNA, E.W. **Evaluacion sensorial: uma metodologia actual para tecnologia de alimentos**. Santiago: Universidade do Chile, 1980, 134p.

PEREIRA, R.B. et al. Sensory and instrumental textural characteristics of acid milk gels. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 8, p. 655-667, 2003.

PIDCOCK, K.; HEARD, G.M.; HENRIKSSIN, A. Application of nontraditional meat lática cultures in production of Hungarian salami. **Internationa Journal of Food Microbiology**, v.76, n.1/2, p.75-81, 2002.

PINEIRO, M.; STANTON, C. Probiotic bacteria: legislative framework: requirements to evidence basis. **Journal of Nutrition**, v.137, n.3, p.850-853, 2007.

PINHEIRO, M.V.S. et al. The effect of different sweeteners in low-calorie yogurts: a review. **International Journal of Dairy Technology**, v.58, n.4, p.193-199, 2005.

POOL-ZOBEL, B. Inulin-type fructans and reduction in colon cancer risk: review of experimental and human data. **British Journal of Nutrition**; v. 93, n. 1, p.73-90, 2005.

QUEMENER, B; THIBAUT, J.F.; COUSSEMENT, P. Integration of inulin determination in the AOAC method for measurement of total dietary fiber. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.21, n. 1/2, p.175-178, 1997.

RASIC, J.L; KURMANN, J.A. **Yoghurt: scientific grounds, technology, manufacture and preparations**. Copenhagen: Technical Dairy Publishing House, 1978. 465p.

\_\_\_\_\_. **Bifidobacteria and their role**. Basel: Birkhauser Verlag, 1983, 6p.

RASTALL, R.A.; MAITIN, V. Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 5, 490-496, 2002.

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.

ROBERFROID, M. B. Caloric value of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 7, p. 1436-1437, 1999.

\_\_\_\_\_. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.6, p.1682-1687, 2000.

\_\_\_\_\_. **Inulin-type fructans: functional food ingredients**. London: CRC Press, Boca Raton, 2005a. p. 39-60.

\_\_\_\_\_. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 1, p.13-25, 2005b.

ROBINSON, R.K. The potential of inulin as a functional ingredient. **British Food Journal**, v. 97, n. 4, p. 30-32, 1995.

ROHM, H.; KOVAC, A.; KNEIFEL, W. Effects of lática cultures on sensory properties of set-style yoghurt determined by quantitative descriptive analysis. **Journal of Sensory Studies**, v. 9, n. 2, p. 171-186, 1994.

RÖNKA, E. et al. Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 83, n. 1, p. 63-74, 2003.

ROSENTHAL, A.J. **Food Texture: measurement and perception**. Aspen Publishers, 1999. 311p.

SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**; v. 84, n.3, p. 197-215, 2000.

SALVADOR, A.; FISZMAN, M. Textural and sensory characteristics of whole and skimmed flavored set-type yogurt during long storage. **Journal of Dairy Science**, v.87, n. 12, p.4033-4041, 2004.

SAMARZIJA, D. et al. Characteristics and role of mesophilic lactic cultures. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 66, n. 2, p. 113-120, 2001.

SAMONA, A.; ROBINSON, R.K. Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. **International Journal of Dairy Technology**, v.47, n. 2, p.58-60, 1994.

SANDERS, M.E. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 2, p. 384-390, 2000.

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

SANZ, Y. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1284-1289, 2007.

SCHIAVÃO-SOUZA, T.D. et al. Produção de exopolissacarídeos por bactérias probióticas: otimização do meio de cultura. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n. 1, p. 27-34, 2007.

SCHOLZ-AHRENS, K.E.; SCHEREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism: the evidence from animals trials. **Journal of Nutrition**; v. 137, n. 11, p. 2513-2523, 2007.

SCHEREZENMEIR, J.; VRESE, M. Probiotics, prebiotics and synbiotics – approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p.361-364, 2001.

SGOURAS, D. et al. In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain Shirota. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.1, p. 518-526, 2004.

SHAH, N.P. et al. Survival of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v.5, n.5, p.515-521, 1995.

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

\_\_\_\_\_. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SHEIL, B.; SHANAHAN, F.; O'MAHONY, L. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. **Journal of Nutrition**, v. 137, n.3, p. 819-824, 2007.

SHIHATA, A.; SHAH, N.P. Proteolytic profile of yoghurt and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 5-6, p. 401-408, 2000.

SHIN, H.-S. et al. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in skim milk containing oligosaccharides and inulin. **Journal of Food Science**, v.65, n.5, p. 884-887, 2000.

SILVA, S.V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 106p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

SIMONOVSKA, B. Determination of inulin in foods. **Journal of AOAC International**, v.83, n.3, p.675-678, 2000.

SOUZA, C.H.B. **Influência de uma cultura láctica termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas frescal probiótico**. 2006. 110p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

SPIEGEL, J.E. et al. Safety and benefits of Fructooligosaccharides as food ingredients. **Food Technology**, v. 48 , n. 1, p. 85-89, 1994. 160

SPREER ,E.; MIXA, A. **Milk and dairy product technology**. New York: Marcell Dekker, 1998. p. 342-359.

**STABLEMICROSYSTEMS**. Disponível em: <[www.stablemicrosystems.com.br](http://www.stablemicrosystems.com.br)>. Acesso em: 29 jan. 08.

STONE, H. et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. **Food Technology**, v. 28, n. 11, 1974.

STONE, H ; SIDEL, J. L **Sensory Evaluation Practices**. London: Academic Press, 1993. 310p.

STRINGHETA, P.C. et al. **Alimentos “Funcionais”**: conceitos, contextualização e regulamentação. Juiz de Fora: Templo, 2007. 246p.

SZCZESNIAK, A.S. Classification of textural characteristics. **Journal of Food Science**, v.28, n. 4, p.385-389, 1963.

\_\_\_\_\_. General Foods texture profile revisited: ten years perspective. **Journal of Texture Studies**, v.6, n. 1, p.5-17, 1975.

\_\_\_\_\_. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v.13, n. 4, p.215-225, 2002.

TABASCO, R. et al. Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 9, p. 1107-1114, 2007.

TAMIME, A.Y; ROBINSON, R.K. **Yogurt: ciencia y tecnologia**. Oxford, Pergamon Press, p. 1-43, 1991.

TAMIME, A.Y. Fermented milks: a historical food with modern applications – a review. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 4, p.2-15, 2002a.

\_\_\_\_\_. Microbiology of lática cultures. In: **Dairy Microbiology Handbook**. Robinson R. K.; New York: John Wiley & Sons. 2002b. p. 261-366.

THARMARAJ, N.; SHAH, N.P. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 7, p.2288-2296, 2003.

TOLSTOGUZOV, V. Some thermodynamic considerations in food formulations. **Food Hydrocolloids**, v.17, n.1, p.1-23, 2003.

TOMA, M.M.; POKROTNIEKS, J. Probiotics as functional food: microbiological and medical aspects. **Acta Universitatis Latvienses**, v. 710, Biology, p.117-129, 2006.

TUNGLAND, C. **Inulin**: a comprehensive scientific review. 2000. Disponível em : < [http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin\\_review.html](http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin_review.html) > . Acesso em: 29 jan. 2008.

TUNICK, M.H. et al. Effects of skim milk homogenization on proteolysis and rheology of mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, v. 5, n. 5, p. 483-491, 1995.

TUNICK, M.H. Rheology of dairy foods that gel, stretch and fracture. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 8, p. 1892-1898, 2000.

UPRIT, S.; MISHRA, N.H. Instrumental texture profile analysis of soy fortified pressed chilled acid coagulated curd (paneer). **International Journal of Food Properties**, v. 7, n. 3, p. 367-378, 2004.

USDA SPECIFICATIONS FOR YOGURT, NONFAT YOGURT AND LOWFAT YOGURT. 2001. Disponível em: [www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELDEV3004551](http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/getfile?dDocName=STELDEV3004551). Acesso em 05 abr. 2009.

VAN DE WIELE, T. et al. Inulin-type fructans of longer degree of polymerization exert more pronounced *in vitro* prebiotic effects. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n.2, p. 452-460, 2006.

VAN HEKKEN, D.L.; TUNICK, M.H.; PARKS, Y.W. Rheological and proteolytic properties of Monterey jack goat's milk cheese during aging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 17, p. 5372-5377, 2004.

VAN LOO, J. et al. On 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.

VARNAM, A.H.; SUTHERLAND, J.P. **Milk and milk products**, London: Chapman and Hall, 1994, p.347-380.

VASILJEVIC, T.; KEALY, T.; MISHRA, V.K. Effects of  $\beta$ -glucan addition to a probiotic containing yogurt. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 7, p.405-411, 2007.

VEDAMUTHU, C. R. The yogurt story: past, present and future. Part I. **Dairy, Food and Environmental Fermentation**, v. 11, n. 4, p. 202-203, 1991.

VÉLEZ-RUIZ, J.F.; SOSA-MORALES, M.E.; HERNANDEZ-CARRANZA, P. Physico-chemical and rheological characterization of a yogurt with low level of fat added with fiber and calcium. In: **IFT Annual Meeting**, New Orleans, Louisiana, 2005.  
Disponível em: <[http://ift.confex.com/ift/2005/techprogram/paper\\_29846.htm](http://ift.confex.com/ift/2005/techprogram/paper_29846.htm)>.  
Acesso em: 04 maio 2009.

VINDEROLA, C.G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J.A. Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurts during refrigerated storage. **Food Research International**, v.33, n.2, p.97-102, 2000.

VORAGEN, A.G.J. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. **Trends in Food Science & Technology**, v.9, n. 8/9, p.328-335, 1998.

YALPANI, M. **Carbohydrates and carbohydrate polymers: analysis, biotechnology, modifications, antiviral, biomedical and other applications**. ATL Press, Mount Prospect, USA, 1993. 320 p.

YAZICI, F.; AKGUN, A. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt. **Journal of Food Engineering**, v. 62, n.3, p.245-254, 2004.

ZOURARI, A.; ACCOLAS, J.P; DESMAZEAUD, M.J. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. **Le lait**, v.72, n. 1, p.1-34, 1992.

## **ANEXOS**

## ANEXO A – Composição química dos leites em pó utilizados.

**Tabela 25** – Composição química do leite em pó integral (porção de 100g)

Componente	Quantidade	% VD*
Carboidratos	38,08g	11,54
Proteínas	26,15g	76,92
Gorduras Totais	27,31g	50,00
Gorduras Saturadas	17,7g	80,77
Gorduras Trans	Não contém	-
Fibra Alimentar	0g	0
Cálcio	1011,54 mg	146,15
Sódio	353,85 mg	15,38
Vitamina A	719,23 µg RE	142,31
Vitamina D	7,31 µg	146,15
Vitamina C	50 mg	142,31

\*Valor para uma dieta de 2000kcal

**Fonte:** Embalagem do leite em pó Ninho (Nestlé)

**Tabela 26** – Composição química do leite em pó desnatado (porção de 100g)

Componente	Quantidade	% VD*
Carboidratos	50 g	15
Proteínas	35 g	45
Gorduras Totais	0g	0
Gorduras Saturadas	0g	0
Gorduras Trans	Não contém	-
Fibra Alimentar	0g	0
Cálcio	1315 mg	130
Sódio	425,00 mg	20
Vitamina A	565 µg RE	95
Vitamina D	4,7 µg	95

\*Valor para uma dieta de 2000kcal

**Fonte:** Embalagem do leite em pó Molico (Nestlé)

## ANEXO B – Informações técnicas da Inulina HP, ORAFTI

# Product Sheet

## Beneo™ HP

DOC.A4-05\*01/06

### Description

**Beneo™ HP** is a High Performance Inulin. It is a food ingredient consisting of chicory inulin, from which the smaller molecules were removed (patent pending).

**chicory inulin** is a mixture of oligo- and polysaccharides which are composed of fructose units linked together by  $\beta(2-1)$  linkages. Almost every molecule is terminated by a glucose unit. The total number of fructose or glucose units (= Degree of Polymerisation or DP) of chicory inulin ranges mainly between 2 and 60.

### Compositional Specifications

All values expressed on dry matter.

Analytical Methods : see our Technical Brochures.

Inulin	> 99.5 %
Inulin DP $\geq 5$	$\geq 99$ %
Glucose + fructose + sucrose	$\leq 0.5$ %
Dry Matter (d.m.)	97 $\pm$ 1.5 %
Carbohydrate content	> 99.5 %
Average DP of the inulin	$\geq 23$
Ash (sulphated)	< 0.2 %
Conductivity (15 Brix)	< 250 $\mu$ S
Heavy Metals	Pb, As each < 0.1 mg/kg Cd, Hg each < 0.01mg/kg
pH (10°Brix)	5.0 - 7.0

### Microbiological Specifications

All values expressed on dry matter.

Analytical Methods : see our Technical Brochures.

Mesophilic bacteria - total count	max. 1000/g
Yeasts	max. 20/g
Moulds	max. 20/g
Thermophilic aerobic spores	max. 1000/g
Anaerobic H <sub>2</sub> S producing thermophilic spores	max. 25/g
Enterobacteriaceae	absent in 1 g
Bacillus cereus	max. 100/g
Staphylococcus aureus	absent in 1 g
Escherichia coli	absent in 1 g
Clostridium perfringens	absent in 1 g
Clostridium botulinum	absent in 1 g
Salmonella	absent in 100 g
Listeria	Absent in 25 g



## Labelling

All values are average values expressed per 100 g commercial product.

Carbohydrates	0 (97 <sup>1)</sup> )	Gluten	absent
Sugars	0	Lactose	absent
Dietary Fibre <sup>2)</sup>	97	Milk/meat/egg components	absent
Protein	absent	Seed/soy components	absent
Fat	absent	Insecticides, pesticides	absent
Vitamins and Minerals	Negligeable	Nuts, nut components	absent
Caloric value <sup>3)</sup>	97 kcal/407 kJ	Colza	absent
Broteinheite <sup>4)</sup>	0	Other allergens	absent
		Enzymatic activity	absent
		Folate	absent

N.D. = Not Detectable N/A = Not Applicable

1) including dietary fibre

2) measured by AOAC Method 997.08

3) based on a caloric value of 1 kcal/g for pure inulin. To be adapted to local regulations.

4) in accordance with German regulations.

## Other Information

*see also our Technical Brochures*


Aspect	Fine white granulated powder
Behaviour	Hygroscopic
Taste	Neutral, not sweet, without aftertaste
Solubility in water	20 g/l at 25°C - 300 g/l at 90°C
Wettability in water	Good.
Dispersability in water	Requires stirring.
Properties and Applications	See our Technical Brochures.
Particle Sizes	See document " Particle Sizes".
Density	Approx. 490 ± 40 g/l
Labelling - Ingredients List	Inulin
Safety	Safe. Not toxic. Not dangerous. Excessive consumption may cause laxative effects. Is, like other fine powders, when mixed with air and ignited, capable of causing an explosion.
Packaging	Paper bags on pallets, see 'Packaging Sheet Powders'
Optimal storage conditions	Cool and dry, in its original airtight packaging.
Maximum durability	See packaging (minimum 18 months upon delivery)
Transport conditions	According to document 'Transport Conditions'
Irradiation	Not irradiated
GMO	Not containing GMOs or GMO-derived components. Not produced using GMO-based technology.
Kosher	Certified, Orthodox Union
Halal	Certified, Halal Feed and Food Inspection Authority
Plant origin	Suitable for vegetarians & vegans
Produced by	ORAFTI - address below

Represented by :

To the best of our knowledge, this information is reliable but should not be considered as a warranty of any kind.  
Specifications might be subject to change without notice



## ANEXO C – Informações técnicas da cultura lática FD DVS YC-X11, CHR. HANSEN

		<b>FERM FD DVS YC-X11</b> Especificação de Produto								
<b>Descrição:</b>	Cultura lática termofílica, liofilizada, de cepas mistas que contém: <i>Streptococcus salivarius</i> subesp. <i>thermophilus</i> e <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subesp. <i>bulgaricus</i> .									
<b>Aplicação:</b>	Na elaboração de iogurtes com um corpo de alta viscosidade e firmeza do gel e sabor muito suave com uma pós-acidificação mínima.									
<b>Apresentação:</b>	<table border="0"> <tr> <td>Tamanho do Envelope</td> <td>Número do Produto</td> </tr> <tr> <td>10 X 50 U</td> <td>600869</td> </tr> <tr> <td>25 X 200 U</td> <td>612772</td> </tr> <tr> <td>20 X 500 U</td> <td>600870</td> </tr> </table>	Tamanho do Envelope	Número do Produto	10 X 50 U	600869	25 X 200 U	612772	20 X 500 U	600870	
Tamanho do Envelope	Número do Produto									
10 X 50 U	600869									
25 X 200 U	612772									
20 X 500 U	600870									
<b>Conservação e Validade:</b>	Liofilizado. Sob congelamento a temperatura mínima de - 18°C. Nestas condições o produto mantém suas especificações por um período de 24 meses.									
<b>Instruções de uso:</b>	Retirar as culturas do freezer apenas antes de sua utilização. <b>NÃO DESCONGELAR.</b> Limpar a parte superior do envelope com álcool 70%GL. Abrir os envelopes e misturar os grânulos liofilizados diretamente ao produto pasteurizado, agitando lentamente. Agitar por 10-15 minutos até completa dissolução da cultura.									
<b>Dosagem:</b>	1 Envelope de 50 U para 500 litros 1 Envelope de 200 U para 2.000 litros 1 Envelope de 500 U para 5.000 litros									
<b>Temperatura de Incubação:</b>	A temperatura recomendada de incubação é de 35-45°C. Para mais informações, favor contactar a Chr. Hansen.									
<b>Serviços Técnicos:</b>	A Chr.Hansen está à disposição de seus clientes para oferecer informações e assistência técnica de forma gratuita.									

ELABORADO POR:	APROVADO POR:	REVISÃO:
Gislaine Gerolin	Paulo Burity	3

## ANEXO D – Informações técnicas da cultura probiótica FD DVS L. Casei 01, CHR. HANSEN



### FERM FD DVS L. casei - 01 Especificação de Produto

**Descrição:** Cultura lática mesofílica, liofilizada, de cepa pura, que contém: *Lactobacillus paracasei* subesp. *paracasei*.

**Aplicação:** Na elaboração de Leites Fermentados com aroma suavemente ácido e com baixa viscosidade.

Observação: De um modo geral, o seu uso deve ser associado com outras culturas como as do tipo *Streptococcus salivarius* subesp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.*

Apresentação:	Tamanho do Envelope	Número do Produto
	5 x 25g	100088
	10 x 250g	100231

**Dados técnicos:** pH < 4,80 após 24 horas de incubação à 37°C, com inóculo de 25g em 1.000 litros.  
pH < 4,20 após 48 horas de incubação à 37°C, com inóculo de 25g em 1.000 litros.

**Conservação e Validade:** **Liofilizado.**  
Sob congelamento a temperatura mínima de - 18°C.  
Nestas condições o produto mantém suas especificações por um período de 24 meses.

**Instruções de uso:** Retirar as culturas do freezer apenas antes de sua utilização. **NÃO DESCONGELAR.** Limpar a parte superior do envelope com álcool 70°GL. Abrir os envelopes e misturar os grânulos liofilizados diretamente ao produto pasteurizado, agitando lentamente. Agitar por 10-15 minutos até completa dissolução da cultura.

**Dosagem:** 1 envelope de 25g para 250 litros.

**Serviços Técnicos:** A Chr.Hansen está à disposição de seus clientes para oferecer informações e assistência técnica de forma gratuita.

ELABORADO POR:	APROVADO POR:	REVISÃO:
Gislaine Gerolin	Paulo Burity	3

## ANEXO E – Aprovação do projeto pelo Comitê de Ética



### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná  
Registro CONEP 268

<b>PARECER CEP/UEL Nº 230/07</b> <b>CAAE Nº 0250.0.268.000-07</b> <b>FOLHA DE ROSTO Nº 161847</b>	<b>Londrina, 21 de novembro de 2007.</b>
<b>PESQUISADOR(A): SANDRA HELENA PRUDENCIO</b>	
Ilmo(a) Sr(a),  <p style="text-align: center;">O “Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina/ Hospital Universitário Regional Norte do Paraná” (Registro CONEP 268)– de acordo com as orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, <b>APROVA</b> a realização do projeto:</p> <p style="text-align: center;"><b>“CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, SENSORIAL E REOLÓGICA DE IOGURTE NATURAL PROBIÓTICO DE BAIXO TEOR DE GORDURA ADICIONADO DE INULINA.”.</b></p> <p style="text-align: center;">Informamos que o senhor deverá comunicar, por escrito, qualquer modificação que ocorra no desenvolvimento do projeto e deverá apresentar ao CEP/UEL relatório final da pesquisa.</p>	
<b>Situação do Projeto: APROVADO</b>	
Atenciosamente,    <b>Prof.ª. Dra. Nilza Maria Diniz</b> Coordenadora Comitê de Ética em Pesquisa-CEP/UEL	

**ANEXO F – Ficha de recrutamento de julgadores para teste descritivo e termo de consentimento livre e esclarecido**

---

**QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE JULGADORES (Teste descritivo)**

Você já deve ter ouvido falar de julgadores profissionais de vinhos que diferenciam vinhos de safras diferentes apenas pelo odor. O que torna esses julgadores capazes de tal façanha é, principalmente, o treinamento que eles recebem.

Neste momento, desejamos formar uma equipe treinada de julgadores, capacitada para medir a intensidade das características sensoriais (aparência, sabor, aroma e textura) de *iogurtes*. Ser um julgador não tomará muito de seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A equipe de julgadores se reunirá semanalmente, por um período de 30 minutos, no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA. Esperamos que os julgadores tenham disponibilidade para participar da equipe por cerca de 6 (seis) meses.

**Se você deseja participar da equipe de julgadores, por favor, preencha este formulário.**

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Tatiana (tel: 3301-5116, e-mail: tatipimentel@hotmail.com) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome \_\_\_\_\_

Telefone trabalho \_\_\_\_\_ Telefone casa \_\_\_\_\_

E-mail \_\_\_\_\_

Horários e dias da semana disponíveis para participar do treinamento:

\_\_\_\_\_

Indique o período em que você pretende tirar férias este ano:

\_\_\_\_\_

1. Faixa etária:

- 15-25  
 25-35  
 35-50  
 acima de 50 anos

2. Sexo:

- masculino  
 feminino

3. Ocupação:

- aluno \_\_\_\_\_  
 funcionário  
 professor

4. Escolaridade:

- 1º grau  
 2º grau  
 3º grau

( ) outro \_\_\_\_\_

( ) outro \_\_\_\_\_

5. Indique o quanto você aprecia cada um destes produtos:

	Gosto	Nem gosto/Nem desgosto	Não gosto	Nunca provei
iogurte natural				
iogurte com fibras				
iogurte probiótico				
iogurte com baixo teor de gordura				

6. Já participou de algum teste sensorial? ( ) Não ( ) Sim De que tipo ?

Aceitação ( )

Discriminativo ( )

Descritivo ( )

---

---

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(Teste Descritivo)

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa “Caracterização Físico-Química, Sensorial e Reológica de Iogurte Natural Probiótico de Baixo Teor de Gordura Adicionado de Inulina”, na qualidade de provador ou julgador do produto. Sei que a função da equipe de julgadores é, durante as sessões de avaliação previamente agendadas, medir a intensidade das características sensoriais de aroma, sabor e textura em amostras de *iogurte*. Para tanto, antes da etapa de avaliação, os julgadores serão selecionados e treinados em avaliar tais amostras. Fui informado de que os *iogurtes* serão produzidos a partir de leite em pó integral ou desnatado e adicionados de inulina e/ou cultura probiótica (*Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*) tendo inteira consciência de que a ingestão de tais produtos não trará nenhum risco à minha saúde. Estou ciente de que minha participação na equipe será por um período aproximado de seis meses, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, que respondi por desejar participar desta equipe sensorial.

Entendo que poderei, a qualquer momento, entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab.: 3371-4080, tel. res.: 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (tel: 3371-4417), caso haja algum efeito inesperado que possa prejudicar meu estado de saúde físico e/ou mental. Entendo também que poderei deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, que minha participação não envolverá quaisquer custos, e que, ao participar, estarei colaborando para o desenvolvimento de uma dissertação de mestrado e o aperfeiçoamento de um profissional. Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expresso meu total consentimento em participar do projeto.

Londrina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_.

Assinatura do Participante

Telefone/e-mail:

Assinatura do Pesquisador

(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)

telefone/e-mail: 3371-4080 / sandrah@uel.br

Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UUEL

---

## ANEXO G – Ficha de recrutamento de julgadores para teste de aceitação e termo de consentimento livre e esclarecido

### QUESTIONÁRIO PARA RECRUTAMENTO DE JULGADORES (Teste de Aceitação)

Desejamos formar uma equipe de julgadores para avaliar a aceitação de *iogurtes*. As amostras serão produzidas a partir de leite em pó integral ou desnatado e adicionadas de inulina e/ou cultura probiótica (*Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*). Ser um julgador não tomará muito seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. A prova será realizada no Laboratório de Análise Sensorial do DCTA, leva em torno de 15 minutos e você poderá fazê-la no horário em que tiver maior disponibilidade.

**Se você deseja participar do teste, por favor, preencha este formulário.**

Se você tiver alguma dúvida, ou necessitar de informações adicionais, não hesite em entrar em contato com Tatiana (tel: 3301-5116, e-mail: tatipimentel@hotmail.com) ou Profa. Sandra Helena (tel: 3371-4080, e-mail: sandrah@uel.br).

Dados Pessoais:

Nome \_\_\_\_\_

Telefone trabalho \_\_\_\_\_ Telefone casa \_\_\_\_\_

E-mail \_\_\_\_\_

1. Faixa etária:

( ) 15-25

( ) 25-35

( ) 35-50

( ) acima de 50 anos

2. Sexo:

( ) masculino

( ) feminino

3. Ocupação:

( ) aluno \_\_\_\_\_

( ) funcionário

( ) professor

( ) outro \_\_\_\_\_

4. Escolaridade:

( ) 1º grau

( ) 2º grau

( ) 3º grau

( ) outro \_\_\_\_\_

5. Gosta de *iogurte* ? ( ) Sim ( ) Não

7. Frequência de consumo de *iogurte* natural:

( ) Nunca

( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano

( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês

( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

8. Frequência de consumo de iogurte com baixo teor de gordura:

( ) Nunca

( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano

( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês

( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

9. Frequência de consumo de iogurte com fibras:

( ) Nunca

( ) Ocasionalmente - \_\_\_\_\_ vezes por ano

( ) Moderadamente - \_\_\_\_\_ vezes por mês

( ) Frequentemente - \_\_\_\_\_ vezes por semana

---

---

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****(Teste de Aceitação)**

Eu, \_\_\_\_\_, declaro que fui satisfatoriamente esclarecido pelo pesquisador, em relação à minha participação no projeto de pesquisa "Caracterização Físico-Química, Sensorial e Reológica de Iogurte Natural Probiótico de Baixo Teor de Gordura Adicionado de Inulina", na qualidade de provador ou julgador do produto. Sei que a função dos julgadores é avaliar o quanto gostou das amostras de *iogurtes* fornecidas durante a sessão de avaliação previamente agendada. Fui informado de que os *iogurtes* serão produzidos a partir de leite em pó integral ou desnatado e adicionados de inulina e/ou cultura probiótica (*Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*), tendo inteira consciência de que a ingestão de tais produtos não trará nenhum risco à minha saúde. Estou ciente de que minha participação no teste irá requerer apenas 15-20 minutos, conforme descrito no **Questionário para Recrutamento de Julgadores**, que respondi por desejar participar desta equipe sensorial.

Entendo que poderei, a qualquer momento, entrar em contato com o pesquisador responsável (tel. trab: 3371-4080, tel. res. 3321-1856) e/ou com o Comitê de Ética (fone 3371-4417), caso haja algum efeito inesperado que possa prejudicar meu estado de saúde físico e/ou mental. Entendo também que poderei deixar de participar da pesquisa em qualquer fase, que minha participação não envolverá quaisquer custos, e que, ao participar, estarei colaborando para o desenvolvimento de uma dissertação de mestrado e o aperfeiçoamento de um profissional. Além disso, não coloco qualquer objeção quanto ao uso dos dados originados neste projeto para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas brasileiras ou estrangeiras.

Desta forma, sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão ou coação, concordo voluntariamente e expreso meu total consentimento em participar do projeto.

Londrina, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_.

Assinatura do Participante

Telefone/e-mail:

Assinatura do Pesquisador

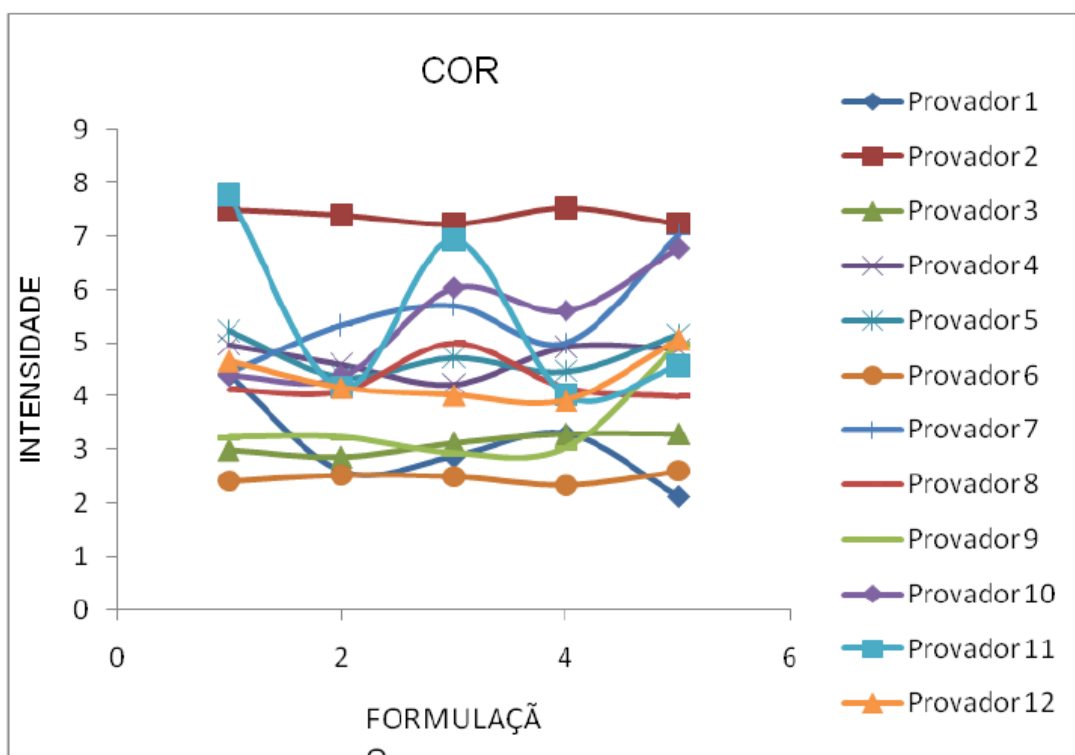
(Profa. Dra. Sandra Helena Prudêncio)

telefone/e-mail: 3371-4080 /sandrah@uel.br

Lab. Análise Sensorial do DCTA/CCA/UUEL

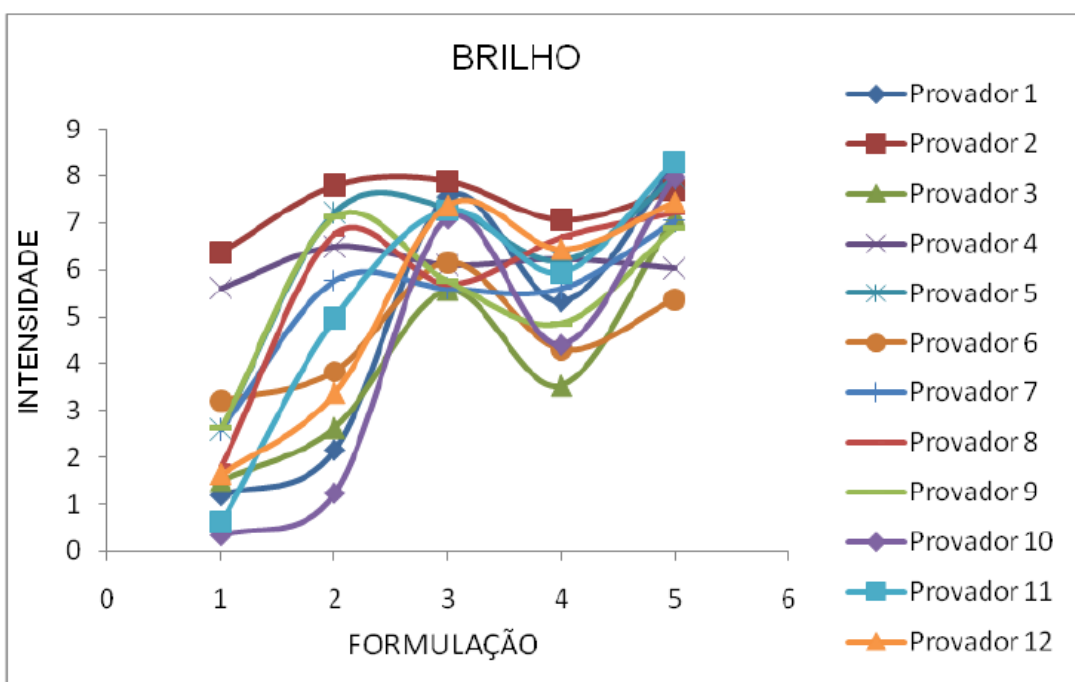
---

## ANEXO H – Gráfico Formulação x Intensidade dos atributos gerados na ADQ



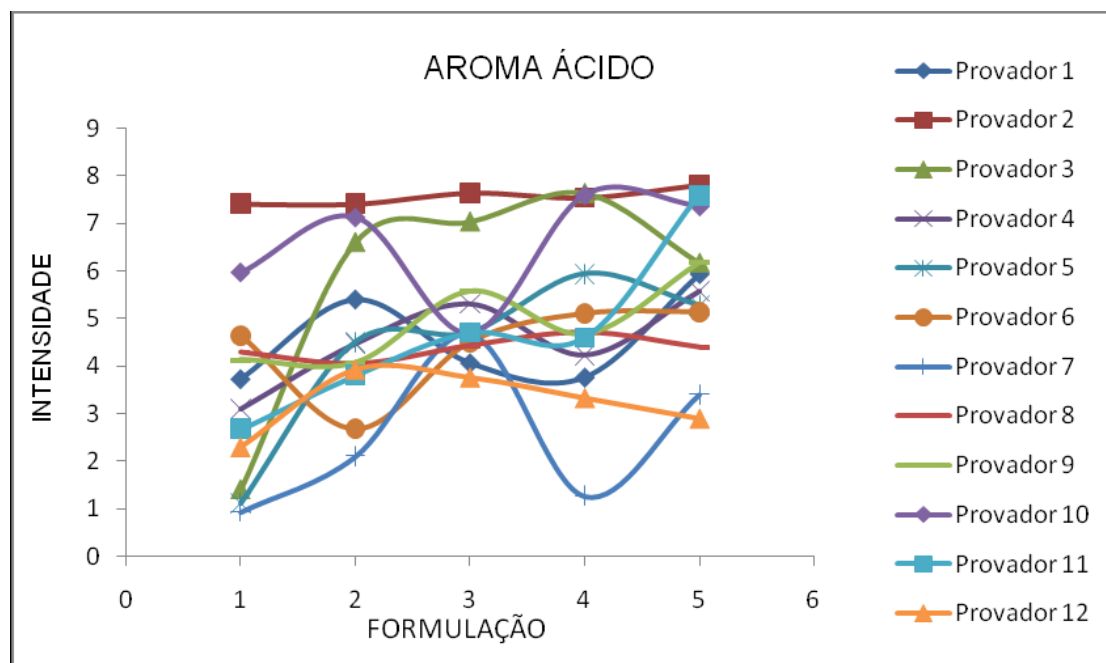
**Figura 13a** – Gráfico formulação x intensidade do atributo cor\*

\*Provador com interação significativa : 7



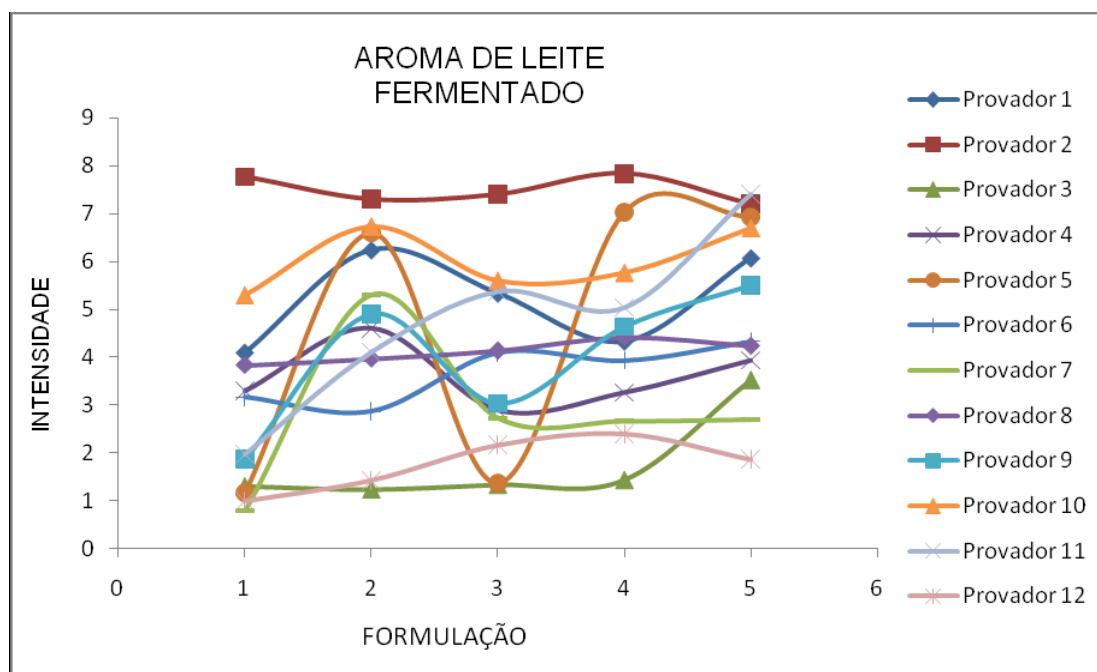
**Figura 13b** – Gráfico formulação x intensidade do atributo brilho\*

\*Provedores com interação significativa : 4, 7, 8 e 9



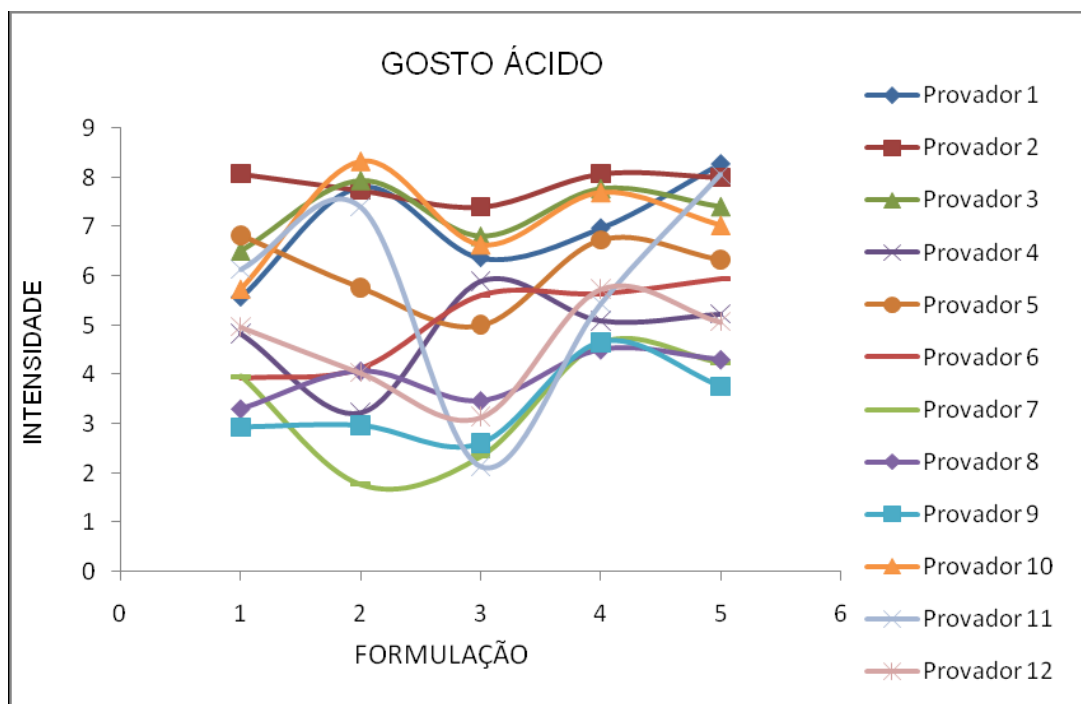
**Figura 13c** – Gráfico formulação x intensidade do atributo aroma ácido\*

\*Provador com interação significativa : 3



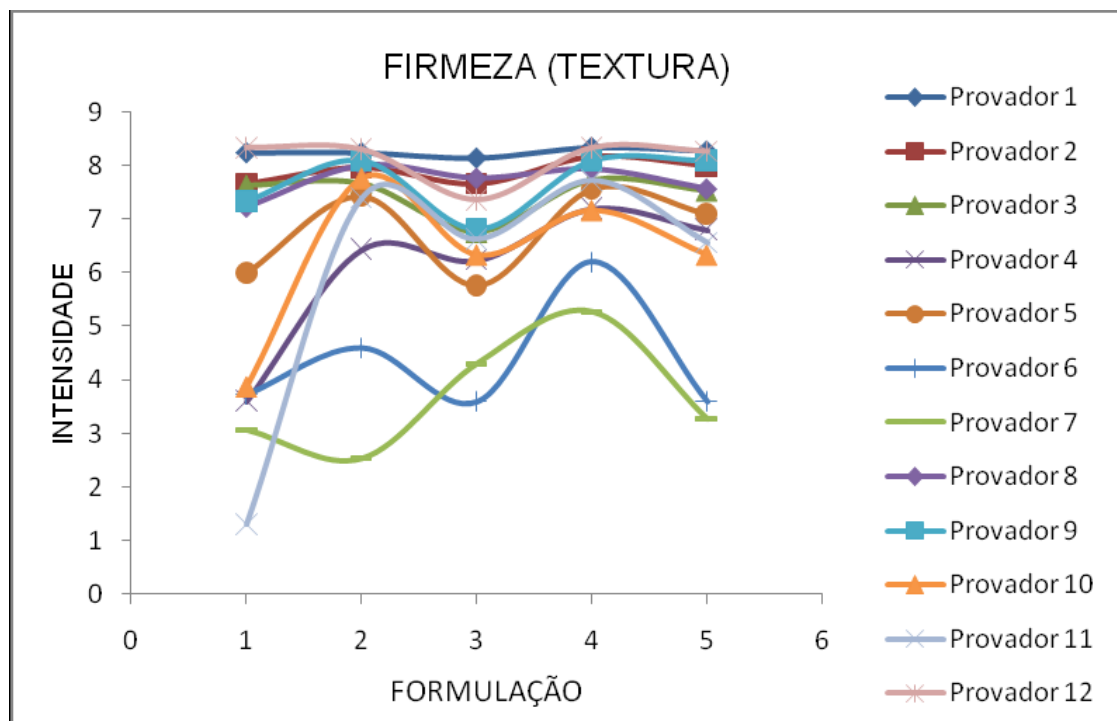
**Figura 13d** – Gráfico formulação x intensidade do atributo aroma de leite fermentado\*

\*Provador com interação significativa : 2



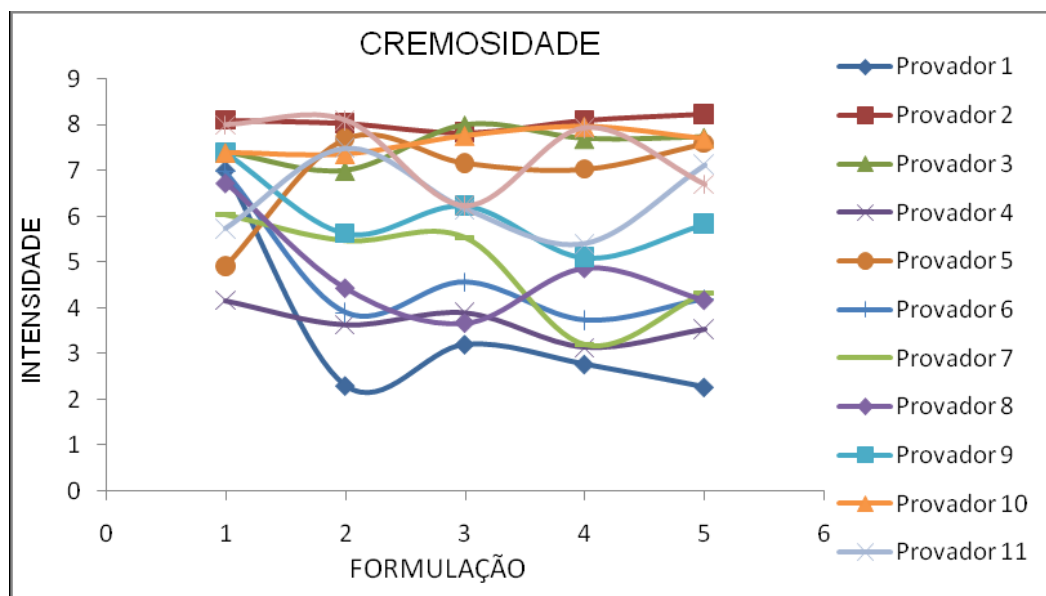
**Figura 13e** – Gráfico formulação x intensidade do atributo gosto ácido\*

\*Provador com interação significativa : 2



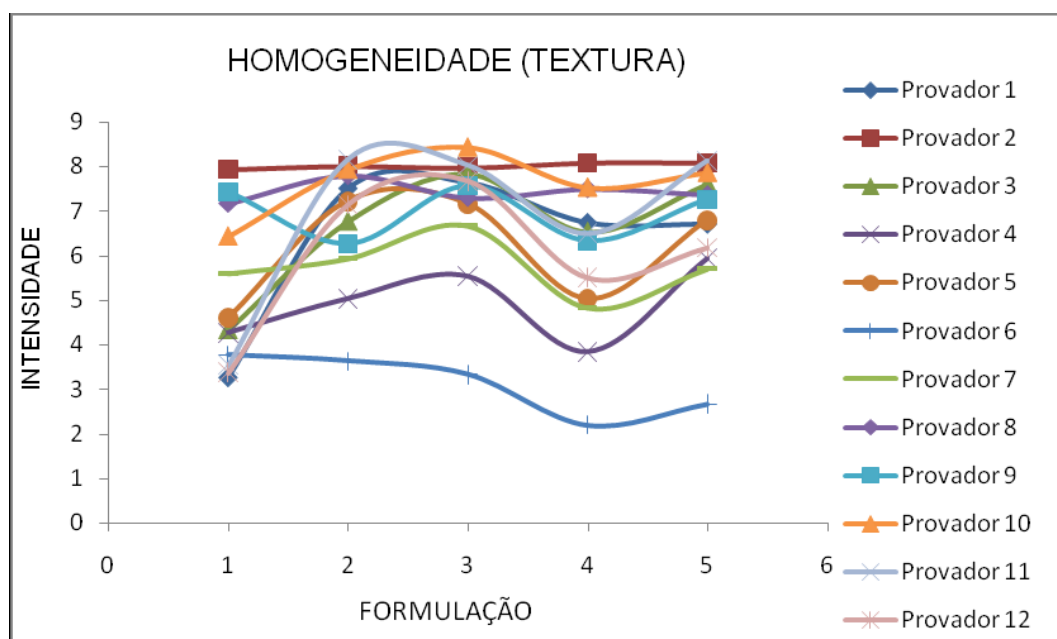
**Figura 13f** – Gráfico formulação x intensidade do atributo firmeza (textura)\*

\*Provador com interação significativa : 7



**Figura 13g** – Gráfico formulação x intensidade do atributo cremosidade\*

\*Provadores com interação significativa : 5 e 10



**Figura 13h** – Gráfico formulação x intensidade do atributo homogeneidade (textura)\*

\*Provadores com interação significativa : 2, 6 e 8