

Perfil microbiológico e potencial simbiótico de gelados comestíveis light adicionados de farinha de mandioca cozida**Microbiological profile and symbiotic potential of added light edible ice from cooked cassava flour**

DOI:10.34117/bjdv6n2-239

Recebimento dos originais: 30/12/2019

Aceitação para publicação: 20/02/2020

Fernando Jünges

Tecnólogo em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: junges@hotmail.com

Gabrieli Beatriz Ferronato

Tecnólogo em Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: gabrieliferronato@alunos.utfpr.edu.br

Marinês Paula Carso

Doutora em Ciência dos Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: corso@utfpr.edu.br

Carla Adriana Pizzarro Schmidt

Doutora em Agronomia pela Universidade Estadual de Londrina
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: carlaschmidt@utfpr.edu.br

Valdemar Padilha Feltrin

Doutor em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: feltrin@utfpr.edu.br

Elciane Regina Zanatta

Doutora em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Maringá
Instituição: Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus de Medianeira - PR
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: elcianezanatta@utfpr.edu.br

Celeide Pereira

Doutora em Ciência dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina
Endereço: Avenida Brasil, 4232 Parque Independência, Medianeira - PR, Brasil
Cep: 85884-000
E-mail: celeide@utfpr.edu.br

RESUMO

A fissura labial com ou sem fenda palatina (CL / P) é a anomalia craniofacial mais frequente. Os avanços na análise molecular e quantitativa sugerem que a etiologia é multifatorial da CL / P não sindrômica (NSCL / P) e oferece novas oportunidades para identificar genes e interações gene-ambiente relevantes para a etiologia desse defeito de nascimento comum e representativo. O presente estudo teve como objetivo detectar variantes genéticas nos genes IRF6 e GRHL3 e suscetibilidade ao NSCL / P em populações da região centro-oeste e norte do Brasil. Analisamos um conjunto de 80 indivíduos com NSCL / P da Associação de Combate como Deformidades Faciais, recrutados no Centro-Oeste e Norte do Brasil. Realizamos a amplificação da sonda multiplexada dependente da ligação (P304-B1-IRF6 / GRHL3 (lote B1-0116)) e análise de PCR para confirmação. No estudo MPLA, o éxon 4 de GRHL3, mostra uma possível alteração. Portanto, realizamos uma validação por PCR dessas alterações. Os resultados não mostraram alteração nesses genes (IRF6 e GRHL3), corroborando com estudos anteriores. Até onde sabemos, este estudo de ambos os genes é o primeiro nessas áreas específicas do Brasil, analisando indivíduos com NSCL / P. Estudos identificaram uma variante missense no gene grainyhead-like-3 (GRHL3) em indivíduos com fissura palatina. A contribuição dessas variantes genéticas para a suscetibilidade ao NSCL / P deve ser investigada em diferentes populações e coortes. Assim, as causas genéticas subjacentes da NSCL / P permanecem amplamente desconhecidas.

Palavras-chave: fenda labial, fenda palatina, mutação missense, fendas orofaciais, polimorfismo.

ABSTRACT

Cleft lip with or without cleft palate (CL/P) is the most frequent craniofacial anomaly. Advances in molecular and quantitative analysis suggests that the etiology is multifactorial of nonsyndromic CL/P (NSCL/P), and provide new opportunities to identify genes and gene-environment interactions relevant to the etiology of this common and representative birth defect. The present study aimed at detecting genetic variants in IRF6 and GRHL3 genes and susceptibility to NSCL/P in West Central and Northern Brazilian populations. We analyzed a set of 80 individuals with NSCL/P from Associação de Combate as Deformidades Faciais, recruited from Midwest and Northern Brazil. We performed Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (P304-B1-IRF6/GRHL3 (Lot B1-0116)) and PCR analysis for confirmation. In the MPLA study exon 4 of GRHL3, show possible alteration. Therefore, we performed a PCR validation of these alterations. The results showed no alteration on these genes (IRF6 and GRHL3) corroborating with previous studies. To our knowledge, this study of both genes is the first in these specific areas of Brazil, analyzing individuals with NSCL/P. Studies have identified a missense variant in the gene grainyhead-like-3 (GRHL3) in cleft palate individuals. The contribution of these genetic variants to NSCL/P susceptibility should be further investigated in different populations and cohorts. Thus, the underlying genetic causes of NSCL/P remain largely unknown.

Keywords: cleft lip, cleft palate, missense mutation, orofacial clefts, polymorphism.

1 INTRODUÇÃO

Diante do crescente interesse da população por alimentos saudáveis, o mercado vem estimulando o aumento da produção de alimentos funcionais, sendo que promovem benefícios à saúde humana por estarem relacionados à presença de bactérias lácticas (OLIVEIRA; SILVA, 2011). Os probióticos são descritos como microrganismos vivos que quando administrados em quantidade adequada conferem benefícios aos seus consumidores (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2001).

A quantidade mínima viável de probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante (BRASIL, 2008). A quantidade mínima diária de microrganismos probióticos viáveis que devem ser ingeridos para efeitos terapêuticos é de 100 gramas (BRASIL, 2002). As espécies mais utilizadas para a obtenção de produtos probióticos com alegação de propriedades funcionais são os lactobacilos e bifidobactérias (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

Os prebióticos são considerados fibras que não são digeríveis nem absorvidas pelo intestino delgado, pois são resistentes a ação das enzimas salivares e intestinais (SANTOS et al., 2011).

Os simbióticos podem promover aumento do número de bifidobactérias, controle glicêmico, redução da taxa de colesterol sanguíneo, balanceamento da microbiota intestinal saudável que auxilia na redução da obstipação e/ou diarreia, melhora da permeabilidade intestinal e estimulação do sistema imunológico (MANZANARES et al., 2006).

Os consumidores também estão de olho em produtos que evitem o uso excessivo de açúcares e que possam aumentar a possibilidade de doenças, além da expectativa de melhorar qualidade de vida, e com isso temos a competição entre o desenvolvimento de produtos que atendam essas demandas (SIRÓ et al., 2008). Os diversos estudos sobre o consumo de fibras alimentares indicam que as mesmas possuem um grande papel em muitos processos fisiológicos e na prevenção de algumas doenças, além de atuar na melhora dos níveis de lipídeos séricos, reduzir a pressão arterial, e atuar no melhoramento do sistema imunológico, atuando na inovação no desenvolvimento de sorvetes e que atendam as demandas do mercado (BERNAUD; RODRIGUES, 2013).

A mandioca é um alimento básico da população brasileira, devido seu baixo custo, e seu público ser de baixa renda, além disso, a indústria de beneficiamento do tubérculo tem produzido diferentes produtos, dentre eles estão a mandioca minimamente processada, mandioca pré-cozida e congelada, mandioca chips, farinhas, farofas, fécula, polvilho azedo, sagu, até produtos de maior valor agregado como os amidos modificados, com diversas aplicações industriais (FERNANDES, 2016). Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAOSTAT,

2015) a produção mundial de mandioca tem crescido, com aumento na produção de 2,8% em 2013 em relação ao ano de 2012.

A utilização dos edulcorantes representa uma alternativa para melhorar a palatabilidade de alguns produtos em relação ao dulçor dos sorvetes, os edulcorantes tornam-se uma alternativa viável, pois são substâncias diferentes dos açúcares que conferem sabor doce ao alimento, resolução MERCOSUR / GMC nº 83/93. A sucralose é um adoçante não calórico e possui alto poder adoçante (GRICE; GOLDSMITH, 2000). Ela é 600 vezes mais doce que a sacarose, sendo que sua doçura pode variar de 400 a 800 vezes em relação á da sacarose e duas vezes a da sacarina (CÂNDIDO; CAMPOS, 2000). O acessulfame-k é um sal de potássio do 6-metil-1,2,3-oxatiazina-4-ona-2,2-dióxido, trata-se de edulcorante não calórico, sendo aproximadamente 200 vezes mais doce que a sacarose, e não apresenta gosto residual (MENDONÇA et al., 2005).

O soro é um líquido resultante da separação das caseínas e da gordura do leite no processo de elaboração do queijo. Atualmente o conhecimento da sua composição e os avanços tecnológicos tornou-o uma fonte importante de componentes lácteos de grande valor para a indústria alimentícia e farmacêutica (ORDÓÑEZ et al., 2005). O soro é composto basicamente de 94% a 95% de água, 3,8% a 4,2% de lactose, 0,8% a 1,0% de proteínas e 0,7% a 0,8% de minerais. É um subproduto de relevante importância na indústria de laticínios, tendo em vista o volume produzido e sua composição nutricional (HUFFMAN, 1996).

Os concentrados proteicos de soro (CPS) de leite têm sido incluídos nas formulações de sorvetes devido a sua contribuição favorável para as qualidades sensoriais e de textura do produto, sendo ainda fonte alternativa de sólidos não gordurosos do leite (SNGL) de mais baixo custo (PARSONS; DYBING; CODER, 1985; TIRUMALESHA; JAYAPRAKASHA, 1998). As excelentes propriedades funcionais, nutricionais e seu considerável potencial para mistura com vários produtos alimentícios, tem viabilizado a aplicação do CPS em diversos produtos nas indústrias de laticínios, como por exemplo, iogurtes, bebidas lácteas, cremes, queijos, além de sorvetes (HUFFMAN, 1996; JAYAPRAKASHA; BRUECKENER, 1999; VOORBERGEN; ZWANENBERG, 2002).

Mundialmente, o sorvete é um produto de boa aceitação sensorial. No Brasil, o sorvete é um dos derivados lácteos mais apreciados pela população em geral, a melhora do poder aquisitivo da população brasileira aumentou muito a demanda pelo seu consumo, tornando-se uma ótima perspectiva para seu crescimento comercial. De 2003 a 2013, o consumo de sorvetes no Brasil passou dos 685 milhões de litros para 1,244 bilhões de litros, um aumento de 86,1% (DAROIT, 2014).

Considerado um alimento completo, de alto valor do ponto de vista nutricional, rico em vitaminas A, B1, B2, B6, C, D, E e K, cálcio, fósforo e outros minerais, o sorvete é também uma

alternativa para o aproveitamento de subprodutos da indústria láctea como o soro de leite e seus derivados, por serem nutritivos e de baixo custo.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um sorvete funcional *light* com adição de bactérias probióticas, soro de queijo, concentrado proteico de soro, farinha de mandioca cozida, edulcorante sucralose/acessulfame-k, obtendo-se um produto com propriedades nutritivas, energéticas e funcionais, obtendo uma alternativa tecnológica viável.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O soro de queijo utilizado para a elaboração das formulações dos gelados comestíveis foi doado por laticínios localizado na região oeste do Paraná, em, sendo transportado em caixa de isopor sob condições de refrigeração até as dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná-UTFPR, campus Medianeira. A cultura mista de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius subsp. termophilus* e a cultura láctica probiótica *Bifidobacterium bifidum*, foi obtida por doação da empresa DANISCO-FERMENTEC®, o concentrado proteico de soro foi doado pela empresa ALIBRA®. A mandioca foi adquirida de um produtor rural da cidade de Medianeira, sendo devidamente higienizada, descascada, congelada e transportada em caixas de isopor até as dependências da universidade. Os demais ingredientes tais como: estabilizante, emulsificante, edulcorante e aroma foram adquiridos no comércio local da cidade de Medianeira Paraná, estando todos dentro do prazo de validade e em condições adequadas para seu uso. Foram utilizados os laboratórios Laboratório de Industrialização de Laticínios (J-16), Laboratório de Microbiologia (L-39), Laboratório de Análise Sensorial (L24B) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus de Medianeira.

2.2 OBTENÇÃO DA FARINHA DE MANDIOCA COZIDA

Para a obtenção da farinha de mandioca cozida, foram utilizados aproximadamente 30 kg de mandioca. As mandiocas já descascadas foram devidamente higienizadas e postas em solução de hipoclorito de sódio a 2% por tempo de 15 minutos para a eliminação de contaminantes, foram cortadas em tamanhos de 2 cm, sendo submetidas à cocção a 75 °C/20 minutos. Após a cocção foram acondicionadas em geladeiras para resfriarem, sendo em seguida fatiadas com auxílio de um ralador e congeladas a -18 °C em freezer horizontal, modelo: cha31bbana - marca Consul.

A secagem foi realizada utilizando forno elétrico modelo 1.9 Vipão-Panictech®, com circulação forçada de ar, sendo realizada em temperatura de 50, 55 e 60 °C, com acompanhamento

da perda de peso em balança eletrônica, modelo UDI20000/2 marca Urano. A Figura 1 apresenta o fluxograma de preparo da farinha de mandioca cozida.

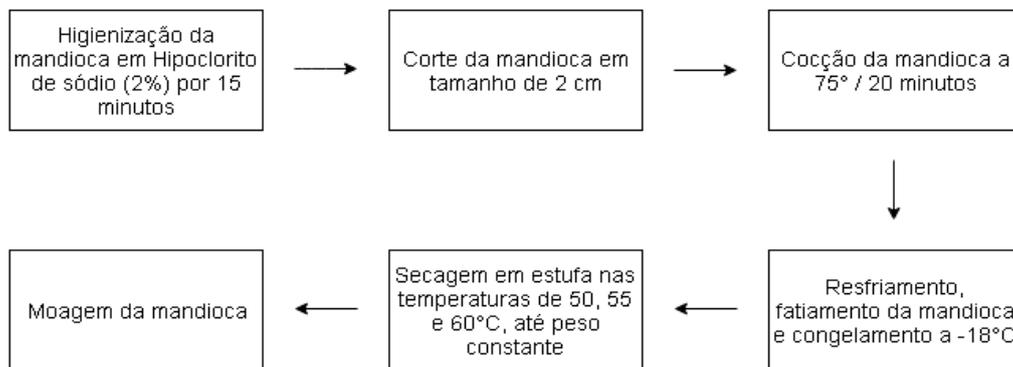


Figura 1. Fluxograma do preparo da farinha de mandioca cozida

2.3 PREPARO DO INOCULO

A cultura iniciadora liofilizada comercial YO-MIX 499 LYO (DVS – DANISCO® - C, Horsholm, Denmark) foi utilizada contendo as bactérias termofílicas *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* com proporção variando entre 80 – 90% de *S. thermophilus* e 10 – 20% de *L. bulgaricus* (informação do fabricante). A cultura comercial é de uso direto, seguindo a metodologia de Thamer e Penna (2006), onde foi dissolvida asépticamente em um litro de leite (12% m/v) previamente tratado a 100 °C por 25 minutos e resfriado a 5 °C, sendo em seguida distribuída em frascos estéreis. Os frascos foram mantidos em freezer, à temperatura de -18 °C, e na ocasião de uso foram descongelados, sendo as culturas inoculadas diretamente na mistura dos ingredientes para iniciar a fermentação láctea. Foi utilizada a proporção de 2 % (v/v) de inóculo.

2.4 ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DOS GELADOS COMESTÍVEIS

Após pesagem dos ingredientes secos, efetuou-se a filtragem do soro e adição sob agitação dos ingredientes secos, efetuando a pasteurização da calda a 65°C por 15 minutos, sendo a seguir resfriada a 43°C. Inocularam-se as culturas de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e cultura probiótica *Bifidobacterium bifidum*, e foram levadas para incubação a 43°C até atingir a acidez 0,85% de ácido láctico e pH 4,2. A calda foi resfriada a temperatura de 10°C por 24 horas para a maturação. Após a maturação foi adicionado o estabilizante, o sabor leite condensado e a farinha de mandioca nas proporções estipuladas para cada formulação, submetendo a calda a bateção em sorveteira industrial modelo (Skysem®), a temperatura de – 17°C até obtenção de consistência, aspecto e cremosidade adequada. A seguir, todas as

formulações de sorvete foram acondicionadas em baldes devidamente higienizados, sendo codificados e submetidos a congelamento e endurecimento em freezer com temperatura de -18°C . A obtenção dos gelados comestíveis foi elaborada de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 2.

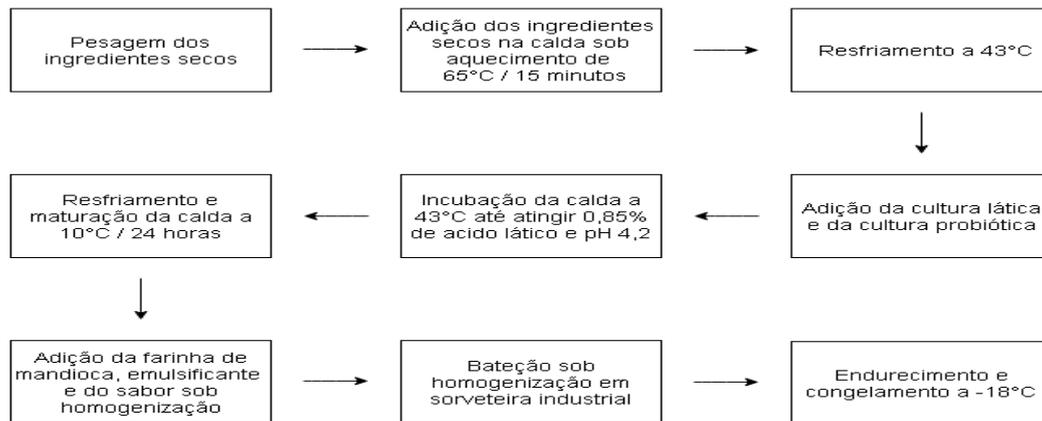


Figura 2. Fluxograma do processo de preparo do sorvete

Para o preparo do sorvete, os ingredientes foram pesados e calculados com base no volume total (9 litros), conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Porcentagem dos ingredientes utilizados nas formulações F1, F2, F3 e F4 (Padrão) dos sorvetes.

Ingredientes	F1	F2	F3	F4 (Padrão)
Soro	78,65%	73,65%	63,65%	83,65%
Concentrado protéico de soro	10%	10%	10%	10%
Estabilizante	0,50%	0,50%	0,50%	0,50%
Edulcorante	0,65%	0,65%	0,65%	0,65%
Emulsificante	0,20%	0,20%	0,20%	0,20%
Fermento acidificante	1,50%	1,50%	1,50%	1,50%
Fermento probiótico	1,50%	1,50%	1,50%	1,50%
Aroma (leite condensado)	2%	2%	2%	2%
Farinha de mandioca	5%	10%	20%	-
Total	100%	100%	100%	100%

2.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO SORVETE

As análises microbiológicas do sorvete foram realizadas segundo metodologia descrita segundo a Instrução Normativa n° 62 de 2003, que oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Os resultados obtidos foram comparados com os definidos pela Resolução RDC n° 12 (BRASIL, 2001). Foram empregadas

as análises de coliformes (NMP/mL) a 35 °C e 45 °C; de *Salmonella ssp* por 25 mL; Staphylococcus Coagulase Positiva; Bolores e Leveduras. Análise de bactérias probióticas e lácticas foram realizadas segundo metodologia descrita no manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água (SILVA, JUNQUEIRA, SILVEIRA, 2010).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados das análises microbiológicas do soro estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados das análises microbiológicas do soro

Análises	Resultados
Coliformes a 35 ° C (NMP. mL ⁻¹)	<3
Coliformes a 45 ° C (NMP. mL ⁻¹)	<3
<i>Staphylococcus spp.</i> (coag. +/- g) (UFC/mL ⁻¹)	<100
<i>Salmonella spp.</i> / 25 mL	Ausência

Os resultados das análises microbiológicas do soro apresentaram parâmetros dentro dos padrões exigidos pela legislação vigente (BRASIL, 2013), demonstrando que o soro apresentava ótima qualidade não oferecendo nenhum possível risco microbiológico através da sua utilização na elaboração do sorvete.

Reitz (2015) também encontrou resultados de acordo com o estabelecido pela legislação ao estudar o desenvolvimento e avaliação de sobremesa aerada de soro de leite sabor mirtilo. Cardoso (2014) encontrou resultados que não de adequavam as legislações, aonde afirma que os soros lácteos estudados apresentaram 16,67% de inadequação com a legislação, sendo este percentual observado somente na contagem de coliformes termotolerantes.

Apesar do soro de queijo ser fonte de bactérias lácticas e de conter excelentes proteínas, o uso desse produto só deve ser feito quando o mesmo for obtido em condições higiênico-sanitárias satisfatórias (FREITAS, 2011).

Os bons resultados e a qualidade do soro podem estar vinculados ao processamento e tipo de queijo ao qual foi obtido. Teixeira; Fonseca; Menezes (2007), ao analisarem o soro de diferentes tipos de queijo, afirmam que à contagem microbiana encontrada para coliformes totais e termotolerantes que apresentou maior contaminação foi o soro do queijo mussarela, observando os resultados das análises microbiológicas dos soros dos queijos minas frescal e mussarela deste estudo, registra-se, na contagem de coliformes termotolerantes, uma contaminação no soro do queijo minas frescal ($>10^3$ UFC/g) maior do que a contagem observada no soro do queijo mussarela ($2,3 \times 10^2$ UFC/g).

Os resultados das análises microbiológicas das formulações F1, F2, F3 e F4 (Padrão) do sorvete nos tempos de 0, 15 e 30 dias são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados das análises microbiológicas das formulações F1, F2, F3, F4 (padrão), nos tempos 0, 15 e 30 dias.

Análises	F1	F2	F3	F4 (Padrão)
Coliformes a 35 °C (NMP. mL ⁻¹)	<3	<3	<3	<3
Coliformes a 45 °C (NMP. mL ⁻¹)	<3	<3	<3	<3
Bolores e leveduras (UFC/mL ⁻¹)	<100	<100	<100	<100
<i>Staphylococcus spp.</i> (coag. +/- g) (UFC/mL ⁻¹)	<100	<100	<100	<100
<i>Salmonella spp.</i> / 25 mL	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

Conforme a resolução RDC N° 12 (BRASIL, 2001) que aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, os resultados encontrados nas amostras estão dentro dos limites permitidos pela legislação. Deste modo, os resultados indicaram que as quatro formulações estavam aptas para o consumo, e que o preparo dos sorvetes foi realizado atendendo às Boas Práticas de Fabricação, mostrando que o processo de higienização e conservação das amostras foi eficiente (BRASIL, 2003).

Analisando ainda a Tabela 3 observa-se que, para coliformes 45 °C, os valores encontram-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa n. 62 (BRASIL, 2003). Silva (2016) ao estudar elaboração de sorvetes com redução de gordura à base de soro de leite, também encontrou valores dentro dos padrões da legislação vigente.

Silva et al. (2012) encontraram valores acima dos estabelecidos pela legislação para coliformes termotolerantes, sugerindo que as boas práticas de fabricação não foram cumpridas corretamente, ou então os insumos utilizados na fabricação do sorvete artesanal não atendem as especificações, no mesmo estudo as análises de *Staphylococcus coagulase positiva* apresentaram-se em conformidade com a legislação.

Os sorvetes, em geral, são alimentos ideais para o crescimento microbiano em função de características como pH próximo a neutralidade (6,0 - 7,0), elevado valor nutritivo e longos períodos de armazenamento (SANTOS, 2008). O controle microbiológico do sorvete é de fundamental importância uma vez que, o mesmo não sofre qualquer processo de cocção ou esterilização após o preparo final, com isso, pode-se constituir-se em veículo de disseminação de microrganismos causadores de toxi-infecções (MAGALHÃES; BROIETTI, 2010). Portanto, cuidados no preparo, manuseio e conservação são fundamentais para evitar qualquer tipo de contaminação do produto.

Os resultados das análises das bactérias *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum* das formulações F1, F2, F3 e F4 (Padrão) nos tempos 0, 15 e 30 dias são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados das contagens das Bactérias Lácticas e Probióticas das formulações F1, F2, F3, F4 (padrão) nos tempos 0, 15 e 30 dias.

Formulação	Bacterias Lácticas e Probióticas	0 Dias	15 Dias	30 Dias
F1	<i>Streptococcus salivarius ssp. termophilus</i>	9,1x10 ¹⁰	7,0x10 ⁹	4,8x10 ⁹
	<i>Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus</i>	9,1x10 ¹⁰	7,0x10 ⁹	4,8x10 ⁹
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	1,48x10 ¹²	1,7x10 ¹⁰	1,3x10 ¹⁰
F2	<i>Streptococcus salivarius ssp. termophilus</i>	3,9x10 ¹⁰	9,0x10 ⁹	4,9x10 ⁹
	<i>Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus</i>	3,9x10 ¹⁰	9,0x10 ⁹	4,9x10 ⁹
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	1,44x10 ¹¹	5,0x10 ¹⁰	1,0x10 ¹⁰
F3	<i>Streptococcus salivarius ssp. termophilus</i>	3,7x10 ¹⁰	9,6x10 ⁹	5,9x10 ⁹
	<i>Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus</i>	3,7x10 ¹⁰	9,6x10 ⁹	5,9x10 ⁹
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	6x10 ¹⁰	1,1x10 ¹⁰	1,0x10 ¹⁰
F4 (Padrão)	<i>Streptococcus salivarius ssp. termophilus</i>	3,2x10 ¹⁰	1x10 ⁹	6,0x10 ⁸
	<i>Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus</i>	3,2x10 ¹⁰	1x10 ⁹	6,0x10 ⁸
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	1,34x10 ¹²	1,4x10 ¹¹	3,2x10 ¹⁰

F1: Formulação contendo 5% de farinha de mandioca; F2: Formulação contendo 10% de farinha de mandioca F3: Formulação contendo 20% de farinha de mandioca; F4: Formulação sem adição de farinha de mandioca (controle).

Pode-se observar que ocorreu uma pequena diminuição na quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) nas contagens ao longo do tempo de vida de prateleira de análise, onde as formulações apresentaram redução de bactérias lácticas e probióticas no tempo zero à quinze dias e de quinze à trinta dias, devido a exposição prolongada do congelamento dos microrganismos ao longo do tempo.

O congelamento e descongelamento em produtos probióticos mantidos congelados podem causar prejuízo às células, como morte celular, inibição do desenvolvimento e redução ou interrupção da atividade metabólica. Porém, existem vários estudos mostrando que pode haver maior taxa de sobrevivência em temperaturas mais baixas, e que a mortalidade aumenta conforme o tempo de armazenamento (ALAMPRESE et al., 2002).

Segundo a legislação vigente, para que o produto seja considerado funcional, ele deve apresentar até o final de seu prazo de validade pelo menos entre 10⁸ e 10⁹ UFC na porção diária, o que equivale ao consumo de 100 g de produto contendo entre 10⁶ e 10⁷ UFC de microrganismos probióticos (BRASIL, 2002), portanto, os resultados obtidos nas análises de bactérias probióticas de todas as formulações desenvolvidas excederam o mínimo necessário no tempo 30 dias de armazenamento, estando de acordo com a legislação.

Fernandes (2015) afirma que houve um decréscimo da população de *L. delbrueckii* em 150 dias de armazenamento em todas as formulações de sorvete, esta redução decorre de injúrias causadas

pelo congelamento ou outros mecanismos de estresse, como a incorporação de oxigênio durante a mistura, o que acaba favorecendo o decréscimo da contagem.

Salomão et al. (2013) observaram que outras espécies de micro-organismos probióticos se mantiveram praticamente inalteradas em relação a população de células viáveis, com uma redução inferior a um ciclo logarítmico em sorvete convencional de morango adicionado de cultura mista armazenado por 90 dias a -15°C . Por outro lado, Souza et al. (2011) obtiveram resultados inferiores, os quais observaram uma redução de 2 ciclos logarítmicos da população de células viáveis de *L. casei* LC-1 adicionado em sorvete convencional sabor creme armazenado por 98 dias a -20°C .

Schlabitz (2014) afirma que algumas das formulações em seus estudos obtiveram um decréscimo na concentração dos micro-organismos, durante 45 dias de estocagem o estudo foi realizado na aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional.

Shah e Lankaputhra (1997) estudaram a viabilidade de bactérias probióticas em leites fermentados utilizando células rompidas e inteiras de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* e células inteiras de bactérias probióticas *L. acidophilus*, e uma espécie de *Bifidobacterium*; *B. longum*, *B. infantis*, *B. bifidum*. Contagens de bactérias probióticas viáveis após fermentação foram dois ciclos log mais altas em iogurte preparado com bactérias rompidas do iogurte e células inteiras de bactérias probióticas. A viabilidade das bactérias probióticas após seis semanas foi superior a recomendação de 10^6 UFC/g.

Mazochi et al. (2010) afirmaram em seus estudos referentes a iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium ssp.* que a contagem do número de células viáveis de *Bifidobacterium ssp.* (*B. longum*, *B. breve*, *B. pseudolongum* e *B. bifidum*) permaneceram entre 10^6 e 10^8 UFC/mL e que a contagem de *Bifidobacterium ssp.* ao longo do tempo foi estatisticamente semelhante, demonstrando que nenhum *Bifidobacterium* apresentou um comportamento superior a outro. De acordo com Awaishah, Haddadin e Robinson (2005), bactérias probióticas devem, após a ingestão, alcançar os intestinos em porcentagens elevadas para serem capazes de sobreviver, aderir às paredes intestinais, multiplicar-se e, talvez, exercer seus efeitos de promoção à saúde.

Um estudo realizado com leite de cabra fermentado por *B. animalis* e *L. acidophilus*, mostra que durante a estocagem refrigerada do leite fermentado, ambas as espécies tiveram alto índice de sobrevivência, sendo superiores que 10^7 UFC/g (KONGO et al. 2006).

O consumo de produtos contendo *L. bulgaricus* e *B. bifidum* têm a potencialidade de melhorar os movimentos peristálticos do intestino, aumentando a absorção de nutrientes, prevenindo ou controlando infecções intestinais, bloqueando os receptores dos patógenos, inativando os efeitos das enterotoxinas e favorecendo o desenvolvimento de microrganismos resistentes a patógenos, especialmente contra *Escherichia coli* (LEE et al., 1999).

4 CONCLUSÃO

As análises microbiológicas de microrganismos contaminantes em todas as formulações se apresentaram dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente. As bactérias lácticas apresentaram contagens superior ao mínimo necessário no tempo 30 dias de armazenamento, as bactérias probióticas ficaram entre 10^8 e 10^{10} UFC g^{-1} nos 30 dias de armazenamento, estes resultados podem ser devido ao efeito simbiótico pela presença das bactérias lácticas produtoras de acidez que viabilizou a manutenção do probiótico.

O crescimento da *Bifidobacterium bifidum* se mostrou viável no produto, tendo apresentado resultados mínimos de 10^9 UFC/g nas formulações F1, F2 e F3 entre os 30 dias de vida de prateleira, tendo um bom desempenho por estar presente juntamente com *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* que serviram como produtoras de acidez.

Os gelados comestíveis light adicionados de farinha de mandioca cozida, bactérias lácticas e bactérias probióticas apresentam viabilidade tecnológica podendo ser considerado um alimento simbiótico, apresentando características funcionais, sendo um produto desenvolvido para atender a demanda crescente dos consumidores por alimentos que promovem o bem estar e a saúde.

REFERÊNCIAS

ALAMPRESE, C.; FOSCHINO, R.; ROSSI, M.; POMPEI, C.; SAVANI, L. survival of *Lactobacillus johnsonii* la1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream product with different sugar and fat concentrations, **International Dairy Technology**, v. 12, 2002.

BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar: ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arquivo Brasileiro Endocrinologia Metabolismo**, vol.57, pp.397-405, n.6, 2013.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, República Federativa do Brasil, Brasília, 02 de janeiro de 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Agência de Vigilância Sanitária. Resolução nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. República Federativa do Brasil, Brasília, 17 julho de 2002.

BRASIL. Ministério da saúde. Resolução n° 267, de 25 de setembro de 2003. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis. **Diário Oficial da União**. República Federativa do Brasil, Brasília, Seção, 26 set, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial União**. República Federativa do Brasil, Brasília, 18 de setembro de 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n° 53, de 10 de abril de 2013. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2013.

CÂNDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 2000.

CARDOSO, G. S. P. **Avaliação físico-química e microbiológica do leite cru refrigerado soro dos queijos minas frescal e mussarela estocados sob diferentes temperaturas**. 2014, 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Ciência Animal, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

DAROIT, G. **Em expansão, o mercado de sorvetes enfrenta desafios**. 2014. Jornal do comercio. Disponível em: <<https://www.jornaldocomercio.com/site/noticia.php?codn=183074>>. Acesso : 06 mar, 2018.

FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. **Produção mundial de mandioca**, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/>>. Acesso: 01 mar, 2018.

FERNANDEZ, L. C. **Desenvolvimento de sorvetes probióticos à base de extrato solúvel de soja.** 2015, 86p. Dissertação (Mestrado) curso de Microbiologia Aplicada. Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2015.

FERNANDES, D. D. S. **Maltodextrin addition and cassava bran in ice cream formulation.** 2016, 99p. Dissertação (Mestrado) Curso de Agronomia/Energia na Agricultura. Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. **Probióticos, prebióticos e sibióticos,** São Paulo, SP: Editora Insumos *Ltda*, v. 17, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001.

FREITAS, W. C. **Aspectos higiênico-sanitários, físico-químicos e microbiota láctica de leite cru, queijo de coalho e soro de leite, produzidos no Estado da Paraíba.** João Pessoa, 2011, 89p. Tese (Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba. 2011.

GRICE, H. C.; GOLDSMITH, L. A. Sucralose: an overview of the toxicity data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 1-6, 2000.

HUFFMAN, L. M. Processing whey protein for use as a food ingredient. **Food Technology**, v.50, p.49-52, 1996.

JAYAPRAKASHA, H.; BRUECKNER, H. Whey protein concentrate: a potential functional ingredient for food industry. **Journal Food Science Technology**. v.36, n.3, p.189- 204, 1999.

KONGO, J. M.; GOMES, A. M.; MALCATA, F. X. Manufacturing of fermented goat milk with a mixed starter culture of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* in a controlled bioreactor. **Lett. Appl. Microbiol.**, v.42, p.595-599, 2006.

LEE, Y. K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. Handbook of probiotics. New York: John Wiley & Sons, Inc., 211p. 1999.

MAGALHÃES, P. J.; BROIETTI, F. C. D. Gestão de Qualidade na Elaboração de Sorvetes. UNOPAR, **Cient. Exatas Tecnol.**, Londrina, v. 9, n. 1, p. 53-60, nov. 2010.

MANZANARES, W.; ALONSO, M.; BIESTRO, A. Probióticos, Prebióticos y simbióticos en pacientes críticos. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. V. 21, p. 155-162, 2006.

MAZOCHI, V.; MATOS JÚNIOR, F. E.; VAL, C. H.; DINIZ, D. N.; RESENDE, A. F.; NICOLI, J. R.; SILVA, A. M. Iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 62(6), 1484-1490, 2010.

MENDONÇA, C. R. B.; ZAMBIAZI, R. C.; GULARTE, M. A.; GRANADA, G. G. Características sensoriais de compotas de pêsego *light* elaboradas com sucralose e acesulfame-K. **Ciência e Tecnologia de Alimentos [online]**, vol. 25, n.3, pp.401-407, 2005.

OLIVEIRA, C. P. e SILVA, J. A. LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO E SUAS IMPLICAÇÕES NA SAÚDE. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.3, p. 25 -31 julho / setembro de 2011.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v. 1, P. 294, 2005.

PARSONS, J. G.; DYBING, S. T.; CODER, D. S. Acceptability of ice cream made with processed wheys and sodium caseinate. **Journal of Dairy Science**, v.68, n.11, p.2880-2885, 1985.

REITZ, T. C. **Desenvolvimento e avaliação de sobremesa aerada de soro de leite sabor mirtilo**. 2015, 55p. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Francisco Beltrão. 2015.

SALOMÃO, J; WALTER, E.H.M; CARDOSO, L.C.D; BARROS, E.B.P; LEITE, S.G.F. Elaboração de sorvete de morango com características probióticas e prebióticas. **Magistra, Cruz das Almas**, v. 25, 2013. Edição especial. Edição dos anais do III Congresso Brasileiro de Processamento de Frutas e Hortaliças, Ilhéus, set. 2013.

SANTOS, G. G. **Características físicas, químicas e aceitabilidade de sorvete com mangaba e reduzido teor energético**, 2008, 72p. Dissertação (Mestrado), Curso Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SANTOS, R. B; BARBOSA, L. P. J. L; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**, Amapá, v. 1, n. 2, p. 26-38, 2011.

SCHLABITZ, C. "**Aplicação de soro de ricota na elaboração de bebida láctea fermentada funcional**". 2014, 145p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Biotecnologia na Produção Industrial de Alimentos, Centro Universitário Univates. Lajeado. 2014.

SILVA, E.; SILVA, L. C. B.; MONTE, L. G. C. **Qualidade e segurança do sorvete artesanal**. 2012, 90p. TCC (Graduação) - Curso de Química, Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium, Lins, SP. 2012.

SILVA, W. A. **Elaboração de sorvetes com redução de gordura à base de soro de leite**. 2016, 56p. Dissertação (Mestrado) – Curso de Sistemas Agroindustriais, Linha de Pesquisa: Produção e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Campina Grande, PB, 2016.

SIRÓ, I; KÁPOLNA, E.; KÁLPONA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance. **Appetite**, v. 51, p. 456-467, 2008.

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

SHAH, N. P.; LANKAPUTHRA, W. E. V. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp.* In yogurt. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.7, p.349-356, 1997.

TEIXEIRA, L. V.; FONSECA, L. M.; MENEZES, L. D. M. Avaliação da qualidade microbiológica dos soros de queijos minas padrão e mozzarella, produzidos em quatro regiões do estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.59, n.1, p.264-267, 2007.

Brazilian Journal of Development

TIRUMALESHA, A.; JAYAPRAKASHA, H. M. Effect of admixture of spray dried whey protein concentrate and butter milk powder on physico-chemical and sensory characteristics of ice cream. **Journal of Dairy Science**, v.51, n.1, p.13-19, 1998.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v 26, p.589-595, 2006.

VOORBERGEN, M.; ZWANENBERG, A. Whey-ing the future. **Dairy Industries International**, v.67, n.1, p.25-28, 2002.