



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO RENORBIO**

**MASU CAPISTRANO CAMURÇA PORTELA**

**PRODUÇÃO DE SORVETE DIETÉTICO DE LEITE DE CABRA, COM  
CARACTERÍSTICA SIMBIÓTICA E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO FUNCIONAL**

**FORTALEZA**

**2015**

MASU CAPISTRANO CAMURÇA PORTELA

PRODUÇÃO DE SORVETE DIETÉTICO DE LEITE DE CABRA, COM  
CARACTERÍSTICA SIMBIÓTICA E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO FUNCIONAL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia. Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientadora: Sueli Rodrigues

Co-orientadora: Karina Maria Olbrich dos Santos

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

P877" Portela, Masu Capistrano Camurça.

"Produção de sorvete dietético de leite de cabra, com característica simbiótica e avaliação de seu efeito funcional / Masu Capistrano Camurça Portela. – 2015.  
171 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (Rede Nordeste de Biotecnologia), Fortaleza, 2015.

Orientação: Profa. Dra. Sueli Rodrigues.

Coorientação: Profa. Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos.

1. Sorvete. 2. Bifidobacterium. 3. Inulina. 4. Frutooligossacarídeos. 5. Diabetes mellitus. I.  
Título.

---

CDD 660.6

MASU CAPISTRANO CAMURÇA PORTELA

PRODUÇÃO DE SORVETE DIETÉTICO DE LEITE DE CABRA, COM  
CARACTERÍSTICA SIMBIÓTICA E AVALIAÇÃO DE SEU EFEITO FUNCIONAL

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de pós-graduação em Biotecnologia, da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.  
Área de Concentração: Biotecnologia Industrial.

Aprovada em: 26/02/2015.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Sueli Rodrigues (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Daniele Maria Alves Teixeira Sá  
Instituto Federal da Educação, Ciência e Tecnologia(IFCE)

---

Dr. Edy Sousa de Brito  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Dra. Maria Cristine Rabelo  
Embrapa Agroindústria Tropical

---

Dra. Selene Daiha Benevides  
Embrapa Agroindústria Tropical

Dedico esse trabalho ...

Ao meu querido e saudoso pai João Camurça de Assis (in Memoriam) que nunca mediu esforços em contribuir para minha educação, sempre orgulhoso das minhas conquistas!

À minha amada mãe, que sempre me conduziu aos estudos, apontando a estrela do saber viver!

Ao meu marido Júlio Otávio e meus filhos Júlio e João Gabriel pelo amor, incentivo e paciência durante toda essa jornada...  
Essa vitória é nossa!

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus e à Nossa Senhora Aparecida, que me abençoaram durante essa etapa da minha vida, me dando forças, coragem e alegria de viver, que muito me ajudaram a persistir nessa caminhada.

Ao meu amado marido Júlio Otávio, obrigada por ser a escada da minha vida, pois devo a você a realização desse sonho: antes mesmo de ter reconhecido o dom que tenho para a pesquisa e ensino, você já tinha enxergado esse potencial em mim!

Ao meu lindo filho Júlio, que sempre torceu por mim e muitas vezes demonstrou orgulho em ter uma mãe estudiosa e futura doutora!

Ao meu pequeno filho João Gabriel, que chegou para abrilhantar mais a minha vida no início do doutorado, como forma de me presentear com esse momento.

À minha orientadora Dra. Sueli Rodrigues, por ter acreditado no projeto desde o início, me fornecendo a oportunidade de cursar esse doutorado, pelo apoio, paciência e compreensão frente às dificuldades que tive em conciliar com outras obrigações profissionais, o meu muito obrigada!

À minha co-orientadora Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos, por ter viabilizado a realização desse trabalho na Embrapa Caprinos e Ovinos, me incentivando e me conduzindo em todas as etapas durante esse período.

Aos doutores, Daniele Maria Alves Teixeira Sá, Edy Sousa de Brito, Maria Cristiane Rabelo e Selene Daiha Benevides, membros da comissão julgadora deste trabalho, pelas valiosas sugestões e contribuições.

À professora Clara Mítia de Paula, amiga querida, por ter me auxiliado na etapa inicial dos momentos mais críticos dos experimentos. Você foi imprescindível na realização desse trabalho!

Ao técnico Tabosa, da Embrapa Caprinos e Ovinos, que participou ativamente durante a produção do sorvete, até no final do ensaio clínico, muito obrigada!

Ao responsável pelos laboratórios da Embrapa Caprinos e Ovinos, Márcio Freire, pela ajuda nas análises de lipídios.

Ao Adriano, Sr. Batista, Sr. Zé Maria e Rosana, funcionários da Embrapa Caprinos e Ovinos, que sempre foram prestativos quando precisei.

Ao tecnólogo de alimentos Samuel, que me auxiliou tantas vezes nos laboratórios de Microbiologia e Sensorial... Sua colaboração foi valiosa para a concretização dessa conquista!

As laboratoristas da Embrapa Caprinos e Ovinos: Liana, Terezinha, Liduína e Lidiane, fundamentais na realização das análises microbiológicas, reológicas e físico-químicas.

Aos estagiários da Embrapa Caprinos e Ovinos: Yuri, Josymara, Isabel, Carliane, Lôra, Silmara e Renata pelo apoio técnico durante os experimentos.

À EMBRAPA Caprinos e Ovinos de Sobral, pela oportunidade da realização desse trabalho e à todos os seus funcionários que me acolheram tão bem!

À futura nutricionista Isabelle Sabino, pelo auxílio durante o recrutamento, sensorial e coleta de sangue dos diabéticos na Unidade Básica de Saúde da Coelce.

AO RENORBIO - Rede Nordeste de Biotecnologia, programa de pós-graduação, que me concedeu essa formação de doutoramento.

À Prefeitura de Sobral-Ce, pela doação das fitas glicêmicas.

Aos funcionários das Unidades Básicas de Saúde do bairro Coelce e Pedrinhas (Francicléo, os meus sinceros agradecimentos!). À coordenadora do CRAS Vila União: Necy e à todos que me receberam de braços abertos para a concretização desse trabalho com diabéticos, só tenho a agradecer por tudo!

À Sayonara, por ter sido o anjo da guarda dos meus filhos, durante as minhas ausências nesse período.

À doutora Ana Raquel, pela ajuda valiosa na análise de cromatografia e todas as bolsistas do laboratório de Biotecnologia da UFC, que me receberam com um sorriso no rosto!

A todos os voluntários diabéticos e não diabéticos, pela disponibilidade e dedicação, fundamentais na concretização desse trabalho.

Aos professores Mirla, Marco Mudo, Welves, Jacqueline, Daniele, Guto, Wellington, Érika Santos, que me auxiliaram nos momentos da minha ausência no IFCE Campus Ubajara.

Ao diretor do IFCE Campus Ubajara, Agamenon Carneiro, que concedeu permissão para meu afastamento temporário.

Aos meus pais João Camurça (*In memoriam*) e Eliete por todo amor, criação e formação, me ensinaram a batalhar pela realização dos meus sonhos.

Aos meus irmãos Curtes, Gláuber, Eli e Rodrigo, por sempre acreditarem e me apoiarem na realização dos meus ideais.

Aos meus sogros Ribamar e Celina, torcedores incondicionais do meu sucesso e crescimento profissional.

À Linea sucralose, pela doação de adoçantes.

À FUNCAP, por ter me concedido apoio financeiro no período inicial do doutorado.

A todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a execução desse trabalho, OBRIGADA!



“As conquistas dependem de 50% de inspiração, criatividade e sonhos e 50% de disciplina, trabalho árduo e determinação. São duas pernas que devem caminhar juntas.”

(Augusto Cury)

## RESUMO

O objetivo desse trabalho foi desenvolver sorvete de leite de cabra adicionado de inulina e ou frutooligossacarídeos (FOS) e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12) e avaliar o efeito da adição de inulina e FOS sobre as características tecnológicas e de aceitabilidade do sorvete dietético simbiótico: *overrun*, dureza instrumental e fração de derretimento. A sobrevivência da Bb12 no sorvete funcional durante o período de armazenamento e frente às condições encontradas no trato gastrointestinal simulados *in vitro* também foram estudadas. Adicionalmente, foi avaliada a resposta glicêmica pós-prandial do sorvete dietético simbiótico mais aceito com um grupo saudável (controle n = 8) e um grupo de diabéticos (experimental n = 6). Foram produzidas 4 formulações do sorvete: SC (denominado sorvete controle = + polidextrose, - inulina, - FOS, - Bb12); SF (+ 6%FOS, + Bb12), SI (+ 6%Inulina, + Bb12); SFI (+ 3%FOS, + 3%Inulina, + Bb12). Após seus processamentos, os sorvetes foram armazenados a -18 °C durante 84 dias. Ao final desse período os sorvetes contendo inulina aumentaram a dureza instrumental, teste de derretimento e *overrun* comparados ao SF. Todas as formulações de sorvetes dietéticos obtiveram boa aceitação sensorial, com destaque para o sorvete contendo inulina que foi a formulação selecionada para a sensorial dos diabéticos. As notas sensoriais dos diabéticos foram maiores em relação às notas descritas acima dos voluntários saudáveis. O ensaio *in vitro* de sobrevivência da Bb12 foi desenvolvido no período de 15 e 84 dias. A população de Bb12 nos sorvetes manteve-se superior a 8 log UFC/g durante o período de estocagem estudado e o pH de todos os sorvetes manteve-se em torno de 6,0. A inulina e os FOS contribuíram para a resistência *in vitro* em média de 74% de sobrevivência. A resposta glicêmica do grupo controle apresentou diferença significativa ( $p < 0,01$ ) na redução da resposta glicêmica comparado à glicose e do grupo experimental, os níveis de glicemia pós-prandiais foram menores após o consumo do sorvete, mas não obteve diferença significativa em relação à glicose ( $p > 0,05$ ). A adição de 6% de inulina no sorvete dietético (SI) demonstrou efeito hipoglicêmico, principalmente no grupo controle. Os sorvetes desenvolvidos mostraram-se bons veículos para a Bb12, atendendo à legislação brasileira para produtos probióticos e apresentaram habilidade de resistência *in vitro* às condições gastrointestinais simuladas. Este trabalho, confirma os dados da literatura que apontam os prebióticos inulina e FOS como ingredientes potenciais texturizantes, indicados na elaboração de sorvetes dietéticos simbióticos, e de boa aceitação sensorial. Este novo produto formulado pode contribuir, se ofertado em grande escala, na variedade da dieta dos diabéticos.

Palavras-chave: Sorvete. *Bifidobacterium*. Inulina. Frutooligossacarídeos. Diabetes mellitus.

## ABSTRACT

The aim of the present study was to develop symbiotic ice creams formulations, goat milk using inulin and/or fructooligosaccharides (FOS), and *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12), and to evaluate the effect of the added prebiotics on their technological characteristics, probiotic viability, and sensory acceptability: overrun, instrumental hardness and melting profile. The resistance of the probiotic incorporated in the ice cream matrix to *in vitro* simulated gastrointestinal (GIT) conditions was evaluated. Additionally, the post prandial glicemic response of the most accepted ice-cream formulation, based on the sensory acceptability scores, was evaluated among healthy (control n = 8) and diabetic individuals (experimental n = 6). Four ice-cream formulations were manufactured, denoted: SC (control ice-cream, containing polydextrose), SF (with 6% FOS, and Bb12), SI (with 6% inulin, and Bb12), and SFI (with 3% FOS, 3% inulin, and Bb12). The ice-creams were stored at -18 °C for up to 84 days. At the end of the storage period, the SI formulation had its instrumental hardness, melting profile and overrun increased compared to the SF ice-cream. All the diet ice-cream formulations obtained good acceptability scores, mainly the SI, which was the one chosen for the sensory evaluation within a diabetic group. The diabetic group average scores for the SI ice cream were higher than the ones obtained among the healthy painellists. The probiotic Bb12 *in vitro* survival test was developed during the period of at 15 and 84 days. The populations of the probiotic Bb12 in the SI, SF and SFI ice-cream were higher than 8.0 log UFC/g during the whole studied storage period, and the pH values of all the ice-creams was maintained around 6.0. In average, the survival rate of the probiotic Bb12 after the exposition to GIT conditions was 74%, and the prebiotics inulin and FOS contributed to Bb12 resistance. The glicemic response of the control group showed a significant difference ( $p < 0,01$ ) in lowering the glicemic answer compared to glucose and the post prandial levels of the experimental group were lower after the ice-cream consumption, although there was not a significant difference compared to glucose ( $p > 0,05$ ). The addition of 6% of inulin to the diet ice-cream (SI) showed a hipoglicemic effect, especially among the control group. The developed ice-cream formulations showed to be good vehicles to Bb12, being in conformity to the Brazilian legislation for probiotic products and maintaining high populations after the exposure to *in vitro* simulated GIT conditions. This work corroborates the literature data showing the prebiotic inulin and FOS as potentially texturizing ingredients, adequate to the production of simbiotic diet ice-creams with a good sensory acceptability. The new product can contributes, if offered in large scale, for the availability of diet and functional ice-cream for consumers choice.

Key-words: Ice-cream. *Bifidobacterium*. Inulin. Fructooligosaccharides. Diabetes mellitus.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
2.1	Diabetes Mellitus: Conceito, Prevalência e Panorama Global da Doença	18
2.1.1	<i>Classificação do Diabetes</i> .....	19
2.1.2	<i>Diabetes Tipo 1</i> .....	20
2.1.3	<i>Diabetes tipo 2</i> .....	20
2.1.4	<i>Diabetes mellitus gestacional (DMG)</i> .....	21
2.1.5	<i>Diagnóstico do Diabetes tipo 1 e tipo 2</i> .....	22
2.2	Complicações frequentes do diabetes.....	23
2.3	Tratamento Dietoterápico, Índice Glicêmico e Carga Glicêmica.....	24
2.4	Probióticos e sua importância na dieta.....	26
2.5	<i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis (Bb12)</i> .....	27
2.5.1	<i>Taxonomia e Origem</i> .....	27
2.5.2	<i>Benefícios específicos à saúde</i> .....	28
2.6	Estudos clínicos e experimentais de probióticos e seus efeitos no Diabetes Mellitus.....	29
2.7	Prebióticos.....	30
2.8	Estudos clínicos e experimentais com prebióticos em diabéticos.....	33
2.9	Sorvetes prebióticos e probióticos.....	33
2.9.1	<i>Agentes de corpo para os sorvetes dietéticos</i> .....	34
2.10	Cacau e efeitos benéficos para a saúde.....	36

2.11	Leite de cabra e seus benefícios nutricionais.....	38
2.12	Referências.....	40
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 2 - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS SORVETES DE CHOCOLATE DIETÉTICOS SIMBIÓTICOS DE LEITE DE CABRA.....</b>	<b>47</b>
	ABSTRACT.....	48
3.1	Introdução.....	49
3.2	Materiais e Métodos.....	51
3.2.1	<i>Desenvolvimento do sorvete.....</i>	51
3.2.2	<i>Obtenção de leite de cabra desnatado, leite de cabra em pó e creme de leite de cabra padronizado.....</i>	53
3.2.3	<i>Ativação da cultura probiótica e adição dos prebióticos.....</i>	54
3.2.4	<i>Fabricação dos sorvetes.....</i>	55
3.2.5	<i>Análises físico-químicas.....</i>	58
3.2.6	<i>Análise microbiológica dos sorvetes.....</i>	58
3.2.7	<i>Análises reológicas dos sorvetes: overrun, dureza instrumental (textura) e teste de derretimento (melting test).....</i>	59
3.2.8	<i>Avaliação Sensorial do Sorvete.....</i>	61
3.2.9	<i>Análise Estatística.....</i>	62
3.3	<i>Resultados e Discussões.....</i>	63
3.3.1	<i>Análises físico-químicas.....</i>	63
3.3.2	<i>Parâmetros microbiológicos sanitários.....</i>	66
3.3.3	<i>Análises reológicas dos sorvetes: overrun, dureza instrumental (textura), teste de derretimento (melting test).....</i>	66

3.3.4	<i>Avaliação Sensorial do Sorvete</i> .....	71
3.4	Conclusões.....	81
3.5	Referências.....	82
<b>4</b>	<b>CAPÍTULO 3 - SOBREVIVÊNCIA DE BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS (BB12) EM SORVETE DIETÉTICO SIMBIÓTICO DE LEITE CABRA, DURANTE SEU ARMAZENAMENTO E QUANDO SUBMETIDO ÀS CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS IN VITRO</b> .....	<b>87</b>
	RESUMO.....	87
	ABSTRACT.....	88
4.1	Introdução.....	89
4.2	Materiais e Métodos.....	91
4.2.1	<i>Processamento dos sorvetes</i> .....	91
4.2.2	<i>Viabilidade do Bifidobacterium animalis (Bb12)</i> .....	92
4.2.3	<i>Acompanhamento do pH</i> .....	92
4.2.4	<i>Ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes em condições gastrintestinais simuladas in vitro</i> .....	93
4.3	Resultados e Discussões.....	95
4.3.1	<i>Ensaio de sobrevivência in vitro</i> .....	97
4.4	Conclusões.....	103
4.5	Referências.....	104
<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 4- AVALIAÇÃO DA RESPOSTA GLICÊMICA EM VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS E DIABÉTICOS, APÓS A INGESTÃO DE SORVETE DIETÉTICO SIMBIÓTICO DE LEITE DE CABRA, SABOR CHOCOLATE</b> .....	<b>107</b>
	RESUMO.....	107

<i>ABSTRACT</i> .....	108
5.1 <i>Introdução</i> .....	109
5.2 <i>Materiais e Métodos</i> .....	111
5.2.1 <i>Produção do sorvete dietético simbiótico</i> .....	111
5.2.2 <i>Análise Microbiológica do sorvete</i> .....	112
5.2.3 <i>Determinação dos Carboidratos totais disponíveis</i> .....	112
5.2.4 <i>Composição centesimal do sorvete</i> .....	113
5.2.5 <i>Delineamento do estudo clínico de curta duração com o grupo controle (saudáveis) e o grupo experimental (diabéticos)</i> .....	113
5.2.6 <i>Índice Glicêmico</i> .....	117
5.2.7 <i>Carga Glicêmica (CG)</i> .....	118
5.2.8 <i>Análise estatística dos resultados</i> .....	118
5.3 <i>Resultados e Discussões</i> .....	119
5.3.1 <i>Composição centesimal e valor energético dos sorvetes</i> .....	119
5.3.2 <i>Parâmetros microbiológicos sanitários</i> .....	119
5.3.3 <i>Características dos voluntários</i> .....	120
5.3.4 <i>Avaliação da Resposta Glicêmica</i> .....	121
5.4 <i>Conclusões</i> .....	130
5.5 <i>Referências</i> .....	131
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	137
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	138
<b>APÊNDICE A- DADOS CURRICULARES DO AUTOR</b> .....	154
<b>ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA ESCOLA DE</b>	

<b>FORMAÇÃO EM SAÚDE DA FAMÍLIA.....</b>	<b>155</b>
<b>ANEXO B- PARECER CONSUBSTANCIADO NO 352.805 APRESENTADO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA UVA.....</b>	<b>156</b>
<b>ANEXO C- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE DA ANÁLISE SENSORIAL.....</b>	<b>159</b>
<b>ANEXO D- FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL.....</b>	<b>161</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus vem sendo considerado um grave problema de saúde pública mundial. A prevalência da doença atingiu 382 milhões de pessoas em 2013 (IDF, 2013). O diabetes tipo 2, corresponde a cerca de 90% dos casos e está intrinsecamente relacionado com o consumo excessivo de gorduras na dieta.

Uma dieta rica em gorduras modifica a microbiota intestinal iniciando um processo inflamatório de resistência à insulina e diabetes tipo 2. Há um aumento da população de bactérias Gram negativas, como *E. coli*, e redução da população de bactérias benéficas, principalmente das bifidobactérias (CARICILLI & SAAD, 2013).

A nova terapêutica para o tratamento e ou a prevenção do diabetes tipo 2 inclui o uso dos probióticos e prebióticos, logo, o desenvolvimento de produtos dietéticos adicionados desses ingredientes funcionais é promissor (MALAPPA et al., 2012).

Probióticos tem sido definidos como “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem um efeito benéfico à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002). A suplementação de probióticos, como o *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12), pode reduzir a disbiose, a translocação bacteriana e, aumentar a tolerância a glicose, protegendo contra a resistência à insulina e o diabetes. Em concentrações adequadas, de  $10^9$  UFC/g, consumidas diariamente, na forma de suplemento, foi comprovada sua eficácia em várias pesquisas clínicas e experimentais (AMAR et al., 2011; JUNGENSEN et al., 2014).

O *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12) é um probiótico que habita naturalmente o intestino humano e animal e está relacionado à inibição de patógenos, melhora do metabolismo da lactose, redução do colesterol sérico, estímulo do sistema imune, auxílio no tratamento de infecções bacterianas (como as causadas por *Helicobacter pylori* e *Clostridium difficile*), além de apresentar propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas (JUNGENSEN et al., 2014).

Prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, que seletivamente afetam benéficamente o intestino, estimulando o crescimento de bactérias

probióticas no trato gastrointestinal, exercendo um efeito de promoção à saúde (ROBERFROID, 2000). Os prebióticos, como os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina, são considerados compostos bifidogênicos, pois estimulam a multiplicação das bifidobactérias no intestino grosso e aumentam a produção do hormônio antidiabético GLP-1, que induz a secreção da insulina no pâncreas (CARICILLI & SAAD, 2013).

Alimentos simbióticos são aqueles resultantes da combinação de culturas probióticas com ingredientes prebióticos. Essa combinação favorece a sobrevivência das bactérias probióticas no alimento e durante a passagem pelo trato digestório superior, pelo fato de seu substrato específico estar disponível para a fermentação (CAPRILES et al., 2005).

O sorvete é um alimento de grande aceitação em todas as faixas etárias e pode ser um excelente carreador para as bactérias probióticas. A adição de culturas probióticas pode agregar valor ao sorvete, conferindo a esse alimento características funcionais (CRUZ et al., 2011).

Segundo a legislação brasileira, os sorvetes dietéticos, são classificados como alimentos para fins especiais, nos quais são formulados sem adição de açúcares, mas podendo conter os açúcares naturais dos ingredientes, como por exemplo a lactose, que é, o açúcar presente no leite. No entanto, deve vir no rótulo a alegação como alimentos para dietas de ingestão controlada de açúcares (BRASIL,1998). Logo, esse produto poderá ser mais uma opção de alimento saudável para o diabético, principalmente se tiver agregado valor simbiótico.

O leite de cabra possui vantagens nutricionais em relação ao leite de vaca por ser hipoalergênico, de mais fácil digestão e ser boa fonte de oligossacarídeos (SILANIKOVE et al., 2010). O uso do leite de cabra na produção do sorvete dietético pode conferir uma textura mais macia e desejáveis características de derretimento (RIBEIRO & RIBEIRO, 2010). Estudos desenvolvidos com sorvete de leite de cabra probióticos ou apenas com substituição do leite de vaca, verificaram que tal sorvete é um excelente veículo para a Bb12 e o leite de cabra contribui na maciez e no perfil de derretimento dos sorvetes (RANADHEERA et al., 2013; CORREIA et al., 2008).

O uso de dietas com alimentos de baixo índice glicêmico (IG) tem sido apontado como um importante aliado na melhora do perfil glicêmico em diabéticos. Portanto, a indústria de alimentos deve incentivar o aumento da variedade e a disponibilidade de

produtos que possam ter maior poder de saciedade e menor IG, como a inulina e os frutooligossacarídeos considerados fibras solúveis, que auxiliam no controle da glicemia (SILVA et al., 2009; MALAPPA et al., 2012).

Os FOS são chamados açúcares não convencionais e têm tido impacto na indústria do açúcar devido às suas características funcionais em alimentos, além de seus aspectos fisiológicos e físicos. Em sorvetes dietéticos podem agir como substitutos da sacarose, apresentam cerca de um terço do poder adoçante da sacarose e, como não são calóricos, podem ser usados de modo seguro por diabéticos, juntamente com o adoçante sucralose (AKALIN & ERASIR, 2008).

A adição de inulina nos produtos lácteos age como substituto de gordura, pois forma microcristais na presença do leite, promovendo sensação de maciez no paladar (AKALIN & ERASIR, 2008). Assim, seu uso em sorvete dietético vai favorecer o desenvolvimento de um produto com baixo teor de gordura, adequado para o diabético.

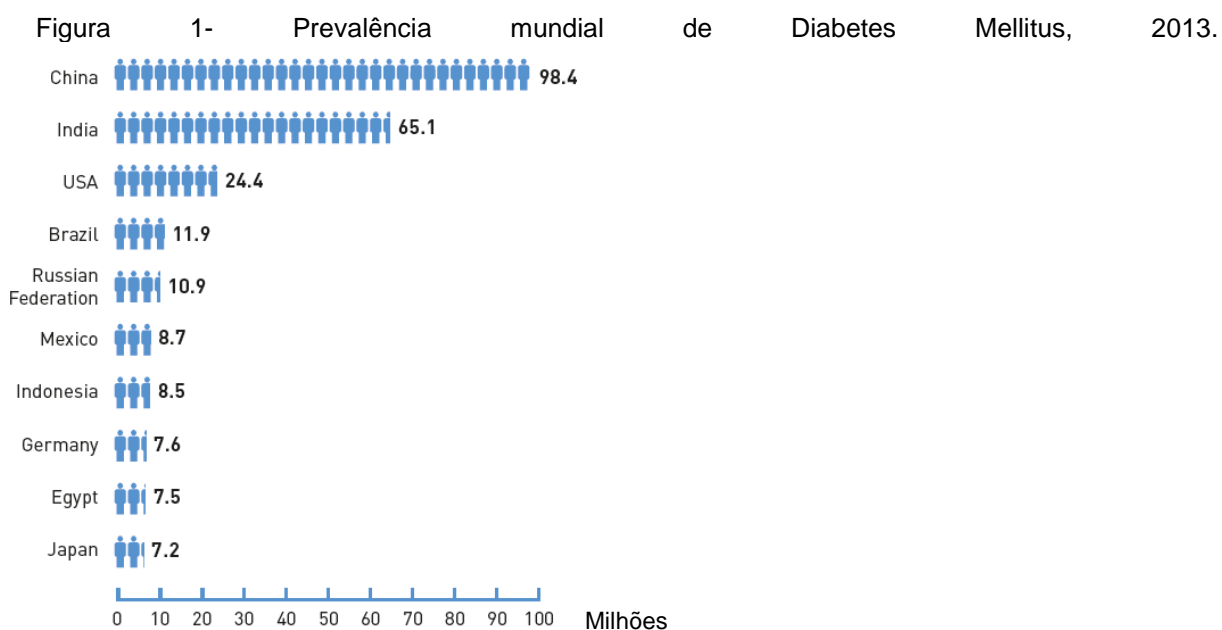
Considerando a relevância desse alimento, o presente trabalho teve como objetivo, desenvolver um derivado do leite, o sorvete de chocolate dietético, a base de leite de cabra, com característica simbiótica, e propriedades funcionais associadas ao equilíbrio intestinal e melhora do controle glicêmico.

## 2 CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Diabetes Mellitus: Conceito, Prevalência e Panorama Global da Doença.

O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica caracterizada por hiperglicemia, que ocorre por defeitos na ação e/ou secreção de insulina. O DM vem aumentando sua importância pela crescente prevalência e geralmente está associado à dislipidemia, à hipertensão arterial e à disfunção endotelial (BRASIL, 2013).

Segundo a International Diabetes Federation (IDF, 2013), estima-se que existem mundialmente 382 milhões de pessoas portadoras de diabetes. A doença é considerada uma pandemia, pois seu crescimento perpassa em todos os países e regiões do mundo. A maioria dessas pessoas tem idade entre 40-59 anos, sendo o diabetes tipo 2 de maior número. A transição nutricional caracterizada pelo alto consumo de gorduras e açúcares refinados influencia no surgimento desse tipo de diabetes. Conforme mostrado na Figura 1, dentre os dez países que estão no topo de maior prevalência de diabetes no mundo, o Brasil ocupa o 4º lugar, sendo a China o primeiro, a Índia em segundo e os Estados Unidos da América, o terceiro.



Fonte: International Diabetes Federation - IDF, 2013.

No Brasil, dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel), de 2011, mostraram que a prevalência de diabetes na população acima de 18 anos aumentou de 5,3% para 5,6%, entre 2006 e 2011. Em relação ao sexo, as mulheres apresentaram maior proporção da doença correspondendo a 6% dessa população. As ocorrências são mais comuns em pessoas de menor escolaridade, onde 7,5% das pessoas que tem até 8 anos de estudo apresentam diabetes, já entre as que possuem mais de 12 anos de estudo só 3,7% apresentam a doença. Outro levantamento dessa pesquisa mostrou que o DM aumenta de acordo com a idade: 21,6% de brasileiros com mais de 65 anos, apresentou um índice bem maior do que entre as pessoas na faixa etária entre 18 e 24 anos, com apenas 0,6%. Quanto aos resultados regionais da pesquisa, a capital com a maior relevância de diabetes foi Fortaleza, com 7,3% de ocorrências. Vitória teve o segundo maior índice (7,1%), seguida de Porto Alegre, com 6,3%. Os menores índices foram registrados em Palmas (2,7%), Goiânia (4,1%) e Manaus (4,2%) (BRASIL, 2013).

Em 2013, o DM causou 5,1 milhões de mortes. Diferentes regiões são afetadas pela doença em níveis diferenciados. O Oceano Pacífico tem mais pessoas diabéticas que outras regiões. A África, no entanto é a região menos afetada, apesar de ser estimado que a doença terá o dobro de casos em 2035. Na América do Sul e Central, o número de diabéticos está projetado para aumentar 60% em 2035. No oeste da Ásia, um rápido desenvolvimento da doença está caracterizando uma epidemia (IDF, 2013).

Devido ao grande impacto global do DM, a Federação Internacional do Diabetes, organizou uma campanha para reduzir esse problema de saúde através de desenvolvimento de políticas públicas na prevenção, cuidado e suporte. Essa meta deve ser finalizada até setembro de 2015 para favorecer toda a sociedade global (IDF, 2013).

### **2.1.1 Classificação do Diabetes**

A classificação de diabetes inclui quatro classes clínicas: tipo 1, tipo 2, diabetes mellitus gestacional e outros tipos específicos de diabetes. O DM tipo 2, abrange cerca de 90 - 95% dos casos de diabetes na população, sendo seguido pelo DM tipo 1, 5 - 10%. Além desses tipos, o diabetes gestacional também merece

destaque, devido a seu impacto na saúde da gestante e do feto. Por último, que não se destacam, existem outros tipos de diabetes específicos causados por defeitos genéticos da função da célula beta, defeitos genéticos da insulina, doenças do pâncreas exócrino (como fibrose cística) e drogas induzidas pelo tratamento de HIV/AIDS ou depois de um transplante de órgão (ADA, 2014).

### **2.1.2 Diabetes Tipo 1**

É o resultado de uma destruição das células beta pancreáticas, com consequente deficiência absoluta de insulina, pois o organismo não consegue mais produzir a insulina necessária. A destruição das células beta é geralmente causada por processo autoimune (tipo 1 autoimune ou tipo 1A), que pode ser detectado por autoanticorpos circulantes. Em menor proporção, a causa é desconhecida (tipo 1 idiopático ou tipo 1B). A destruição das células beta em geral é rapidamente progressiva, ocorrendo principalmente em crianças e adolescentes (pico de incidência entre 10 e 14 anos), mas pode ocorrer também em adultos (BRASIL, 2013; IDF, 2013).

Segundo Brasil (2013), em geral, a apresentação do DM tipo 1 é abrupta, acometendo crianças e adolescentes sem excesso de peso. A hiperglicemia é acentuada, evoluindo rápido para a cetoacidose, logo o traço clínico que mais define o tipo 1 é a hiperglicemia grave e cetoacidose, porém os principais sintomas são: Fome em excesso e boca seca, maior frequência urinária, fadiga em excesso, perda de peso, mal humor, infecções recorrentes e visão turva.

O número de pessoas com DM tipo 1 está aumentando. As razões ainda não estão claras, mas podem ser devido às mudanças dos fatores de risco, puberdade muito cedo, inclusão de aleitamento artificial mais cedo na vida (desmame precoce) ou infecções virais (IDF, 2013).

### **2.1.3 Diabetes tipo 2**

No DM tipo 2, o organismo é capaz de produzir insulina, mas pode não ser suficiente ou não responder aos efeitos da insulina, ou seja, ocorre uma resistência à ação da insulina, associada a um defeito na sua secreção, sendo liberado excesso de glicose na corrente sanguínea chamado de hiperglicemia

Os sintomas são mais brandos que o DM tipo 1, mas geralmente manifestam-se nos seguintes fatores de risco: adultos com excesso de peso, história familiar de DM tipo 2, crianças e adolescentes obesos, inatividade física, idade avançada, alta glicose sanguínea durante a gravidez, etnia e dieta pobre (ADA, 2012; IDF, 2013).

A cetoacidose nesses casos é rara e, quando presente, em geral é ocasionada por infecção ou estresse muito grave. A hiperglicemia desenvolve-se lentamente, podendo permanecer assintomática por vários anos (ADA, 2012).

Em contraste com o tipo 1, a maioria dos DM tipo 2 não precisam tomar doses de insulina diariamente para sobreviverem. Muitos são capazes de regularizarem seus níveis de glicemia sanguínea através da dieta, atividade física e medicação oral. O número de pessoas com DM tipo 2 está crescendo em proporções alarmantes. Esse aumento está associado com desenvolvimento sócio-econômico, urbanização, populações mais idosas, mudanças nas dietas (transição nutricional), sedentarismo e estresse (IDF, 2013).

#### **2.1.4 Diabetes mellitus gestacional (DMG)**

Mulheres que desenvolvem resistência à insulina e subsequente alta glicose sanguínea durante a gravidez, são aquelas que apresentam diabetes gestacional. Geralmente tende a ocorrer por volta da 24ª semana de gravidez. Essa condição de aumento da glicose sanguínea ocorre provavelmente porque a ação da insulina é bloqueada, causada pelos hormônios produzidos pela placenta. Durante a gravidez, o pâncreas materno em condições normais aumenta a produção de insulina para compensar o quadro de resistência à ação da insulina. Em algumas mulheres, esse processo não ocorre e desenvolvem o quadro de diabetes mellitus gestacional. Quando o feto é exposto a grandes quantidades de glicose no ambiente intra-uterino há maior risco de crescimento fetal excessivo (macrossomia fetal). Com isso, ocorrem partos traumático, hipoglicemia neonatal, maior risco de desenvolver obesidade e diabetes na vida adulta (SBD, 2014).

Os principais fatores de risco para o diabetes gestacional são: Idade materna mais avançada Ganho de peso excessivo durante a gestação, sobrepeso ou obesidade, síndrome dos ovários policísticos, história prévia de bebês grandes (mais de 4 kg) ou de diabetes gestacional, história familiar de diabetes em parentes de 1º

grau, história de diabetes gestacional na mãe da gestante, hipertensão arterial sistêmica na gestação e gestação múltipla.

Segundo a American Diabetes Association (ADA, 2014), o diagnóstico do DMG é feito quando os valores de glicose no plasma ultrapassam as concentrações de 92mg/dL (5,1mmol/L, glicemia de jejum), 180mg/dL, (10mmol/L, 1h após Tolerância Oral ao Teste de Glicose-TOTG) e 153mg/dL (8,5mmol/L, 2h após TOTG). Gestantes diagnosticadas com DMG devem ser reavaliadas de quatro a seis semanas após o parto e reclassificadas glicemia de jejum alterada, tolerância a glucose diminuída ou normoglicemia (ADA, 2014).

Após o nascimento do bebê o DM gestacional desaparece, mas as mulheres tendem a desenvolver o DM tipo 2 em idade avançada. O controle dos níveis sanguíneos devem ser monitorados durante a gravidez através da alimentação saudável rica em fibras e exercícios físicos moderados e insulina ou hipoglicemiantes se necessários (IDF, 2013).

### ***2.1.5 Diagnóstico do Diabetes tipo 1 e tipo 2***

O diagnóstico do diabetes foi melhor detalhado pelas novas diretrizes da American Diabetes Association (ADA, 2014). Segundo a mesma, é estabelecido na presença de: hemoglobina glicosilada igual ou acima de 6,5% ou; glicemia de jejum igual ou maior de 126mg/dl ou glicemia igual ou acima de 200 mg/dl 2h após a ingestão de glicose no teste de tolerância a glicose (75g de glicose em pó dissolvida em água) ou glicemia ao acaso igual ou acima de 200mg/dl.

Existe outra situação denominada de pré-diabetes que pode ser diagnosticada através dos mesmos exames, mas que quando diagnosticadas devem ser monitoradas a glicemia com frequência, além de tomar devidas providências na redução dessa glicemia (ADA, 2014). Os valores são: hemoglobina glicosilada 5,7-6,4% ou glicemia de jejum 100- 125mg/dl ou glicemia 140-199 mg /dl 2h após a ingestão de glicose no teste de tolerância a glicose (75g de glicose em pó dissolvida em água).



## 2.2 Complicações frequentes do diabetes

Nos últimos anos, o DM tem contribuído para o aumento da mortalidade devido ao alto risco de desenvolvimento de complicações agudas e crônicas. Como complicações agudas, destacam-se a hipoglicemia, cetoacidose diabética e o coma. Já nas complicações crônicas, destacam-se em alterações na microcirculação, originando retinopatia e nefropatia; na macrocirculação, levando à cardiopatia isquêmica, doença cerebrovascular e doença vascular periférica) além de neuropatias (STRONG et al., 2005; SBD, 2009).

Os sintomas, os quais caracterizam a fase aguda são: poliúria, polidipsia, polifagia, emagrecimento e perda da força. As complicações degenerativas mais frequentes são: infarto agudo do miocárdio (IAM), arteriopatia periférica, acidente vascular cerebral (AVC), microangiopatia, nefropatia e neuropatia (VIEIRA-SANTOS et al., 2008).

Falcão et al. (2008) estimaram a prevalência das complicações do diabetes tipo 2 em 414.214 pacientes atendidos em vários Centros de Saúde em Portugal. Nesse trabalho, foram identificadas complicações do diabetes em 816 (18,7%) diabéticos do tipo 2, sendo a retinopatia diabética a mais frequente, em 356 (11,4%) casos. Em seguida, acidente vascular cerebral (AVC) 7,3%, infarto agudo do miocárdio (IAM) 4,1%, angioplastia 2%, diminuição grave da acuidade visual 1,9% e amputações 0,9%.

Scheffel et al. (2004), avaliaram a prevalência das complicações crônicas e aferiram os seus possíveis fatores de risco em pacientes em 927 DM do tipo 2, atendidos ambulatorialmente em três centros médicos do Rio Grande do Sul: Hospital de Clínicas de Porto Alegre (n= 475), Grupo Hospitalar Conceição (n= 229) e Hospital São Vicente de Paula (n= 223). Os resultados apresentaram que 37% tinham doença renal (12% macroalbuminúricos) e 48% retinopatia (15% retinopatia proliferativa). A neuropatia sensitiva distal foi encontrada em 36% dos pacientes e hipertensão em 73% dos pacientes. O colesterol estava acima de 200 mg/dl em 64%, enquanto o índice de massa corporal (IMC) > 30 kg/m<sup>2</sup> em 36%. Através desse estudo, concluíram que praticamente todos os pacientes apresentavam pelo menos

um fator de risco para doença cardiovascular, o que justifica o seu rastreamento e controle.

### 2.3 Tratamento Dietoterápico, Índice Glicêmico e Carga Glicêmica

A terapia nutricional é parte fundamental do cuidado do DM. Apesar da adesão ao plano alimentar ser um dos aspectos de maior desafio do tratamento, a terapia nutricional é um componente essencial para manter a qualidade de vida do indivíduo (SILVA et al., 2009).

O objetivo do tratamento nutricional no DM é contribuir para a normalização da glicemia, redução das doses de insulina e/ou de medicamentos, a diminuição dos riscos cardiovasculares (hipertensão arterial, dislipidemias, entre outros), obtenção e/ou manutenção do peso corpóreo saudável, prevenção de complicações agudas e crônicas da doença e promoção da saúde (ADA, 2014).

Para auxiliar no tratamento dietoterápico dos diabéticos, Jenkins et al. (1981) propuseram: o índice glicêmico, que classifica os alimentos em relação a sua resposta glicêmica, ou seja, seu potencial em aumentar os níveis de glicose sanguínea em relação a um alimento controle.

O índice glicêmico (IG) é a medida do aumento potencial da glicose sanguínea produzida por alimentos fontes de carboidratos, que permite a classificação dos alimentos baseados na resposta glicêmica pós-prandial em relação a um alimento referência (glicose ou pão branco). É calculado pela seguinte fórmula indicada por WOLEVER (1991):

$$IG = \frac{\text{Aumento da área abaixo da curva do alimento testado}}{\text{Área correspondente após a mesma porção do alimento padrão}} \times 100$$

Geralmente a quantidade de carboidratos disponíveis que deve ser consumida no teste é de 50g, mas se o tamanho da porção do alimento for muito grande, para atingir 50g de carboidrato disponível utiliza-se 25g de carboidratos disponíveis por porção. Alguns autores preconizam o uso do pão branco como alimento referência, alegando que o mesmo tem uma melhor resposta fisiológica que a glicose e não causa desconforto gástrico como náuseas (Food and Agriculture

Organization / World Health Organization - FAO/WHO, 1998; Brand-Miller et al., 2001). No entanto, a glicose oral em pó, vem se tornando cada vez mais um padrão de escolha, pois a estrutura do pão branco varia de acordo com o país, afetando a resposta glicêmica (BROUNS et al., 2005; HATONEN et al., 2006).

Quanto ao teor do IG, os alimentos podem ser classificados como baixo IG  $\leq 55\%$ , moderado IG 56%-69% e alto IG 70% ou acima. Os alimentos que apresentam altos IGs produzem maior área abaixo da curva de resposta glicêmica obtida em 2 horas do que os alimentos com baixo IG, associado a hiperglicemia pós-prandial (ORAFI, 2005).

O IG é influenciado pela estrutura do amido, conteúdo de fibras e processamento, forma física de outros alimentos quando consumidos juntos e conteúdo de outros macronutrientes da dieta. A resposta glicêmica para um alimento, que também afeta a resposta insulinêmica, depende do esvaziamento gástrico tanto quanto a digestão e absorção dos carboidratos através do intestino delgado. Logo, esse índice mostra como cada alimento comporta-se em termos de velocidade de digestão e absorção quando consumidos (CARDENETTE, 2006).

Pesquisas comprovam que dietas contendo alimentos de reduzido índice glicêmico aumentam o controle metabólico em pacientes diabéticos e diminuem a resistência à insulina (FAO/WHO, 1998; CARDENETTE, 2006).

O controle glicêmico intensificado pode prevenir e/ou retardar o aparecimento das complicações crônicas do DM. O carboidrato da dieta é o principal determinante da glicemia pós-prandial, sendo o IG e a carga glicêmica úteis para prever a resposta glicêmica aos alimentos (SILVA et al., 2009).

A carga glicêmica, é um conceito proposto em 1997 (SALMERON et al., 1997), mede o impacto glicêmico da dieta e é calculada pela multiplicação do IG do alimento pela quantidade de carboidrato disponível contido na porção consumida. É importante sua quantificação, porque mensura o nível de resposta glicêmica e insulina produzida por uma determinada quantidade de alimento ofertado por porção. Reflete ambos: quantidade e qualidade do conteúdo de carboidrato da dieta. É obtida pela seguinte fórmula:

$$CG = \frac{IG \times \text{Porção do CHO disponível (gramas)}}{100}$$

Onde: CG = carga glicêmica; IG = índice glicêmico; CHO = carboidrato.

A CG do alimento foi categorizada como baixa, moderada ou alta, caso tivessem, respectivamente os valores menor ou igual a 10, de 11 a 19, ou maior ou igual a 20 (BURANI, 2006).

O IG e a CG são considerados indicadores da taxa de absorção de carboidratos e podem ser marcadores da demanda da insulina (BURANI, 2006).

Vale ressaltar, que as recomendações dietéticas diárias (RDA) para os carboidratos disponíveis é de 130g por dia, é baseada no provimento da glicose para o sistema nervoso central. O cérebro necessita receber dietas com baixo teor de carboidratos, mas que sua fonte de energia possa conter fibras, vitaminas e minerais importantes na palatabilidade dietética (ADA, 2014).

As fibras alimentares solúveis estão relacionadas diretamente ao baixo IG porque reduzem a motilidade intestinal e ou à absorção de carboidratos. A fermentação colônica desses carboidratos não disponíveis produzem ácidos graxos de cadeia curta que reduzem os níveis de glicemia de jejum e aumenta a tolerância à glicose pela supressão dos níveis de ácidos graxos não esterificados e a produção de glicose hepática (CARDENETTE, 2006).

## 2.4 Probióticos e sua importância na dieta

Probióticos são micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002). A legislação brasileira preconiza que um produto com alegações probióticas deve conter na porção de consumo (recomendação) diária do produto pronto para o consumo, entre  $10^8$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônia (UFC) (ANVISA, 2008). São consideradas bactérias probióticas tradicionais para o consumo humano as espécies de bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. A ANVISA (2008) regulamentou como bactérias probióticas os microorganismos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* var. *shirota*, *Lactobacillus casei* var. *rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*

*Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*.

Bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são geralmente isoladas de produtos lácteos ou do trato gastrointestinal humano ou animal. Nos Estados Unidos são usadas em iogurtes, suplementos dietéticos, adicionados em queijos, sucos, fórmulas infantis e cereais (WOOD, 2011).

As bifidobactérias são provenientes da microbiota intestinal do corpo humano. Foram isoladas pela primeira vez em 1899 das fezes de um bebê em uso de aleitamento materno exclusivo, por Tissier, no Instituto Pasteur na França. São Gram positivas, imóveis, anaeróbicas, ramificadas. Mais de 30 espécies são conhecidas, dentre elas as representantes do trato intestinal humano são: *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. adolescentes*, *B. pseudocatenuatum* (WOOD, 2011).

Crianças alimentadas com leite materno têm uma resistência aumentada às infecções intestinais, comparada às que consomem fórmulas de leites infantis. A presença das bifidobactérias no intestino grosso dessas crianças é o principal motivo dessa maior resistência. A maior parte das bactérias encontradas nas fezes das crianças alimentadas exclusivamente por leite materno são as bifidobactérias (DAI et al., 2000).

Recentemente, foram isolados e caracterizados mais de 100 oligossacarídeos no leite humano, compostos basicamente por 5 monossacarídeos: glicose, galactose, fucose, N-acetylglucosamina e ácido siálico com ácido N-acetylneuramínico. Esses oligossacarídeos são considerados prebióticos, pois promovem o crescimento de algumas bifidobactérias, principalmente a *Bifidobacterium longum subsp. infantis* (*B. infantis*, JCM1222) que consome completamente esses oligossacarídeos (BODE, 2012).

## **2.5 Bifidobacterium animalis subsp. lactis (Bb12)**

### **2.5.1 Taxonomia e Origem**

A cepa *Bifidobacterium* Bb12 (Bb12) foi desenvolvida no banco de culturas do laboratório Christian Hansen em 1983. Durante o isolamento foi classificado como *B. bifidum*, mas pela moderna classificação molecular foi reclassificado como *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*. Essa cepa foi especialmente selecionada

para a produção de produtos lácteos a serem usados em fórmulas infantis, suplementos dietéticos e produtos fermentados lácteos no mundo todo. Apresenta excelente atividade fermentativa, alta tolerância ao ar, boa estabilidade, tolerância biliar, especialmente em produtos congelados como os sorvetes. Não tem efeitos adversos em relação ao sabor e a aparência. São constituintes da microbiota intestinal humana (JUNGERSEN et al., 2014).

### **2.5.2 Benefícios específicos à saúde**

Efeitos benéficos à saúde da Bb12 tem sido demonstrada em pesquisas clínicas. A sua sobrevivência no trato gastrointestinal torna uma microbiota gastrointestinal saudável. Além do mais, tem melhorado a função do cólon, possui efeito protetor contra a diarreia e reduz os efeitos do tratamento do antibiótico, aumenta a resistência às infecções respiratórias e fortalece o sistema imune (JUNGERSEN et al., 2014).

Esses efeitos citados são potencializados na presença dos prebióticos, como os frutooligosacarídeos, que são completamente convertidos pela Bb12 em ácidos orgânicos, ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta: acético, propionato e butirato (BOSSCHER, 2006).

Estudos randomizados, duplo cego e placebo controlados com pacientes idosos constipados consumindo um suplemento simbiótico (*Bifidobacterium animalis* e enriquecido com oligofructose e inulina) resultaram no aumento da frequência das fezes, normalizando o trato gastrointestinal (GIBSON et al., 1995; KLEESSEN, 1997; DEN, 2000).

Kabeerdons et al. (2011), avaliaram o efeito do iogurte contendo Bb12 em 26 mulheres entre 18 - 21 anos, consumindo  $10^9$  UFC/ml em 200mL durante 3 semanas. A quantidade de imunoglobulinas tipo A (IgA) aumentou significativamente durante o consumo, mas retornou ao normal após a cessação do consumo, ou seja, durante o uso do probiótico ocorre um incremento das funções imunológicas, mas deixando de consumir, o benefício cessa.

## 2.6 Estudos clínicos e experimentais de probióticos e seus efeitos no Diabetes Mellitus.

Nos últimos anos, estudos metagenômicos e metabolômicos, tem demonstrado que a microbiota intestinal a nível molecular é um fator causal do início de doenças metabólicas como o diabetes e a obesidade. Os avanços na biotecnologia, com o sequenciamento do DNA da microbiota humana tem aumentado em grande escala (BURCELIN et al., 2011; KOOTTE, et al., 2012; PANWAR et al., 2013) O consumo de gorduras em excesso na dieta, induz a obesidade e diabetes tipo 2, causando um baixo grau de inflamação sistêmica e crônica. Essa inflamação é responsável pela ruptura da microflora normal, predominando um microbioma patogênico. (PANWAR et al., 2013). O pirosequenciamento da região 16S do RNA ribossômico mostrou proporções diminuídas do filo Firmicutes e Clostridia e aumentadas proporções de Betaprobacterias. Além disso, ocorre a translocação de bactérias Gram negativas através da mucosa intestinal para o sangue e para o tecido adiposo mesentérico (AMAR et al., 2011).

As mudanças específicas na microbiota intestinal em diabéticos e obesos estão relacionadas com o aumento das espécies de bactérias Gram-negativas contendo lipopolissacarídeos. A presença desses lipopolissacarídeos é chamada de endotoxemia metabólica. Os mesmos são componentes inflamatórios das membranas bacterianas que se ligam ao receptor 4 (TLR-4)-CD14 um complexo patógeno, que ativa o sistema imune e libera as citocinas proinflamatórias aumentando a resistência à insulina (ESTEVE et al., 2011).

Probióticos são potenciais moduladores da flora intestinal que modificam sua composição de forma benéfica e exercem vários benefícios como anti-hiperlipêmicos, antioxidantes, antiinflamatórios e antidiabéticos (YADAV, et al., 2011).

Cani & Delzene (2009) observaram que após 4 semanas ofertando uma dieta rica em gorduras para ratos, estabeleceu-se o diabetes tipo 2, de forma induzida, com aumento das quantidades totais de bactérias Gram negativas, especialmente de *E. coli* no sangue.

Em outro estudo experimental, Cani et al. (2007) associaram o alto teor de gordura na dieta com maior endotoxemia e redução das espécies de *Bifidobacterium*

(spp.) nas fezes dos ratos. Os resultados desse estudo mostraram que restaurando a quantidade de *Bifidobacterium* perdida pela endotoxemia a mesma pôde ser modulada, além da inflamação, pois as bifidobactérias são capazes de reduzir os níveis de lipopolissacarídeos e do controle glicêmico em ratos diabéticos. Apesar do *Bifidobacterium* não ser um filo predominante, mas apresenta importante papel no metabolismo (ESTEVE et al., 2011).

Moroti et al. (2012) avaliaram o efeito de uma bebida simbiótica sobre os níveis de glicemia e de colesterol em estudo clínico randomizado, duplo cego, controlado com placebo, com 20 voluntários (sendo 10 para o grupo placebo e 10 para o grupo simbiótico), de idade entre 50 - 60 anos, no período de 30 dias. Os resultados do grupo que consumiu 200 ml da bebida por dia contendo  $10^8$  UFC/ml de *Lactobacillus acidophilus* e  $10^8$  UFC/ml de *Bifidobacterium bifidum* e 2g de oligofrutose mostraram um aumento significativo em HDL colesterol, sem redução significativa de colesterol e triglicerídeos e redução significativa de glicemia.

Mazloom et al. (2013) realizaram um estudo clínico com 34 diabéticos tipo 2 com idade variando entre 25-65 anos. Os pacientes foram divididos em dois grupos: de intervenção (probióticos) e placebo. Durante seis semanas os indivíduos do grupo de intervenção consumiram 1500mg de cápsulas de probióticos contendo *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. bifidum* e *L. casei*. Pacientes do grupo placebo consumiram 1500mg de cápsulas contendo 1000mg de estearato de magnésio. Após esse período o sangue foi coletado e analisado os triglicerídeos, insulina, LDL e HDL. Observaram que a insulina reduziu significativamente no grupo de intervenção, mas não houve diferença significativa entre os grupos quanto aos níveis sanguíneos de triglicerídeos, HDL e LDL colesterol.

## 2.7. Prebióticos

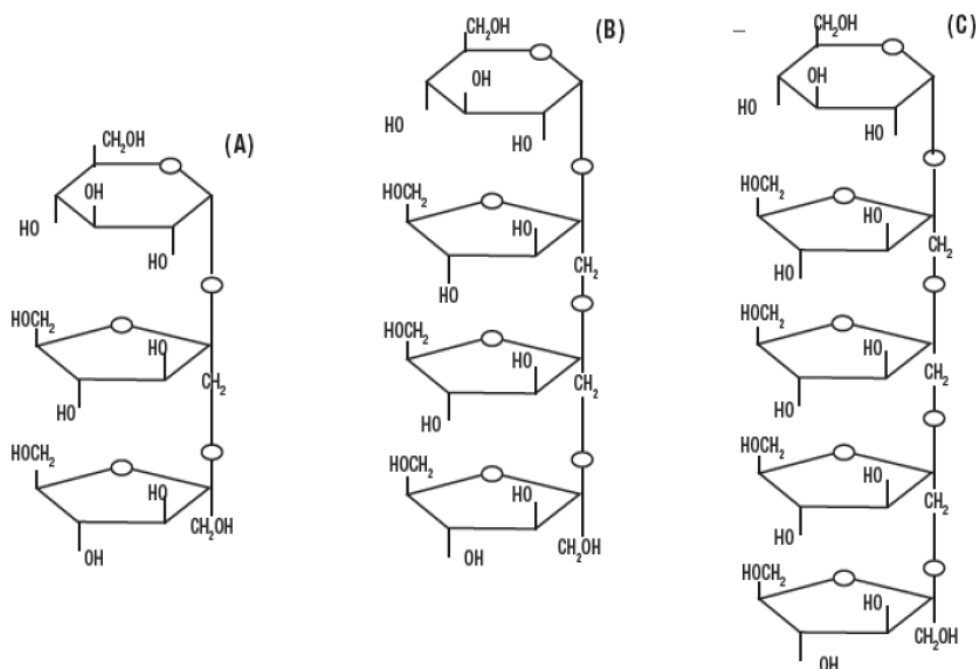
Os prebióticos são definidos como ingredientes seletivamente fermentáveis, formados por carboidratos não digeríveis, que estimulam seletivamente o crescimento de bactérias benéficas no cólon (probióticos), resultando em benefícios ao bem estar e à saúde do hospedeiro (WANG 2009; NAIR et al., 2010).

Os prebióticos mais estudados e reconhecidos pela literatura são os frutanos, aplicados como fibra alimentar, que podem ser os frutooligossacarídeos ou oligofrutose e inulina. Os FOS, são compostos por moléculas de sacarose ligados à



uma, duas ou três unidades de frutose através de ligações glicosídicas  $\beta$  (2,1). As estruturas são denominadas de 1-Kestose (GF2), Nistose (GF3) e 1F beta-frutofuranosil nistose (GF4) (LAMOUNIER, 2012) (Figura 2). Os FOS tem em média, grau de polimerização (DP) de 2, podendo chegar a 10.

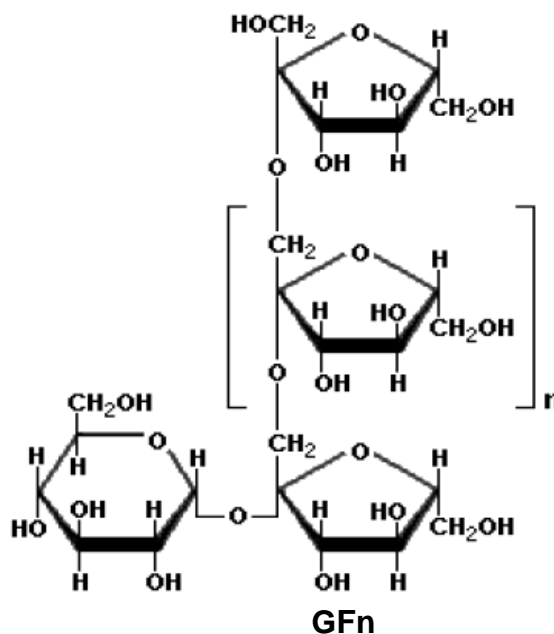
Figura 2 – Estrutura química dos tipos de frutooligossacarídeos: A- kestose, B- nistose e C- frutoforanosil nistose.



Fonte: Tuohy et al.(2005).

O termo inulina descreve misturas de frutanos que contenham pelo menos algumas cadeias com DP maior do que 10, apesar de variar entre 2-60 (KELLY, 2008). A inulina tem DP médio de 10 e é composta por uma cadeia principal de unidades de frutose, em ligações  $\beta$ -(2,1)-frutofuranosídicas com uma unidade de glicose terminal (Figura 3). Sua fórmula pode ser descrita como GF<sub>n</sub>, onde G representa a molécula de glicose, F a molécula de frutose e n o número de unidades de frutose. Ocorre naturalmente na natureza: no aspargo, alho, banana, cebola, tomate, trigo, chicória, alcachofra de Jerusalém (ROBINSON, 1995; VAN LOO et al., 1995).

Figura 3- Estrutura Química da inulina.



Fonte: Renhe et al., 2008.

Oligofrutose foi introduzida como sinônimo de FOS em 1989. Ambas, a inulina e a oligofrutose são compostas por ligações beta 2-1 de frutose e possuem os mesmos benefícios nutricionais. Após serem metabolizadas pelos probióticos no intestino grosso produzem ÁGCC que contribuem para 1,5Kcal/g de energia (COUSSEMENT,1999).

Algumas pesquisas indicam que o consumo diário menor que 10g não confere efeitos benéficos para a saúde, apenas um consumo superior a 10 - 20g por dia. Todavia, esse alto consumo resulta em distúrbios gastrointestinais, como flatulência e burburinho (COUSSEMENT, 1999). Entretanto, SAAD et al., (2011) afirmam que o consumo diário de 4 a 5g de inulina e ou FOS é suficiente para estimular a multiplicação de bifidobactérias no cólon intestinal.

Estudos corroboram que a inulina e os FOS são fibras que exercem importantes benefícios à saúde e ajudam a reduzir as respostas glicêmicas insulínicas com diminuição significativa da glicose sanguínea, tanto em ratos como em humanos (ORAFI, 2005).

## 2.8 Estudos clínicos e experimentais com prebióticos em diabéticos

Estudos clínicos em homens diabéticos obesos, administrando frutooligosacarídeos observaram que os níveis de bifidobactérias e de endotoxinas no plasma normalizaram. A endotoxemia metabólica foi diminuída, além disso aumentou a tolerância a glicose, saciedade e perda de peso (MEYER & STASSE, 2009; TUOHY et al., 2005). Segundo Cani et al. (2006), esses efeitos dos FOS são mediados via metabólica GLP1- dependente, ou seja, o consumo desses frutanos estimulam a produção do hormônio anti-diabético GLP-1, o qual por sua vez aumenta também a secreção da insulina.

Estudos com animais modelos diabéticos consumindo alto teor de gordura, desenvolvidos por Cani et al. (2006), corroboram com os estudos clínicos em humanos mencionados anteriormente. Após tratamento durante 4 semanas consumindo FOS, ratos diabéticos e obesos aumentaram a tolerância a glicose, reduziram peso e diminuíram a produção da glicose endógena.

Com a fermentação do FOS há produção de butirato, acetato e propionato que implicam no potencial terapêutico dos prebióticos (GAO et al., 2009).

Pesquisas com ratos comprovam as evidências científicas de que o butirato é o ácido graxo de cadeia curta (4 carbonos) produzido a partir dos FOS que possui maior efeito terapêutico na síndrome metabólica. Gao et al. (2009) suplementaram com butirato na dieta de ratos obesos com resistência à insulina durante 5 semanas. Após esse período os ratos perderam 10,2% do seu peso original e reduziram a resistência à insulina em 50%.

## **2.9 Sorvetes prebióticos e probióticos**

A inulina e os FOS tem especial atividade bifidogênica, ou seja, estimulam seletivamente o desenvolvimento de bifidobactérias e além disso, agem como substituto de açúcar e de gordura em alimentos, respectivamente (AKALIN & ERISIR, 2008).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), a inulina e os FOS (oligofrutose) ao serem adicionados em alimentos, devem ter alegação funcional em contribuir para o equilíbrio da flora intestinal, se apresentar no mínimo por porção 3g de um alimento sólido ou 1,5g se for um alimento líquido.

Produtos simbióticos vêm sendo estudados para aumentar a viabilidade de bactérias probióticas em produtos lácteos. Akalin & Erisir (2008) adicionaram 4% de

inulina no sorvete com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* (Bb12) e concluíram que a inulina pode ajudar na sobrevivência e na estabilidade desses microrganismos probióticos.

Soukolins et al. (2009) relataram que a adição da inulina exerce efeito positivo sobre a textura em sorvetes de baunilha e também atua na crioproteção e redução da formação de gelo durante a estocagem em condições de oscilação de temperatura.

Os sorvetes dietéticos ou com redução de energia podem utilizar oligofrutose na substituição de sacarose, pois a oligofrutose possui qualidades funcionais semelhantes à sacarose e ao xarope de glicose. Geralmente seu uso é combinado aos adoçantes de alta intensidade como a sucralose ou aspartame e ou acesulfame K, podendo mascarar o sabor residual desses adoçantes (MURPHY, 2001).

Gonçalves & Eberle (2008) desenvolveram um sorvete tipo frozen yogurt fermentado com *B. animalis* e adicionado de 3% de inulina. Após 60 dias de armazenamento a -18 °C apresentou contagem de bifidobactérias de  $2,6 \times 10^6$  UFC/g. A perda da viabilidade durante o período de armazenamento pode ser explicada em parte porque as bifidobactérias são anaeróbias, logo, não toleraram a incorporação de ar durante o batimento da calda. Além disso, houve acidificação do produto final após a fermentação com a produção de ácido láctico. As bifidobactérias apresentam melhor sobrevivência em pH em torno de 6,0 (ANDRIGHETTO & GOMES, 2003).

### **2.9.1 Agentes de corpo para os sorvetes dietéticos**

O sorvete dietético deve possuir substitutos de açúcares que vão conferir a doçura e os agentes de corpo, que são necessários para manter um volume total de sólidos igual aquele do sorvete convencional (28-40%). São úteis, também, para compensar a perda de efeito de imobilização da água que ocorre quando os sólidos de xarope de milho são retirados do sistema (THARP, 2009).

Os agentes de corpo apresentam diferentes características quando comparados entre si. Como exemplos de agentes de corpo existem os polióis (monossacarídeos e dissacarídeos hidrogenados), que possuem dulçor bastante variável e baixa caloria e os substitutos poliméricos da sacarose (a polidextrose e a inulina), que não possuem poder edulcorante. Dentre os monossacarídeos

hidrogenados destacam-se o sorbitol, o manitol, o xilitol e o eritritol; e entre os dissacarídeos, o isomalte, o maltitol e o lactitol. Todos os açúcares possuem um valor calórico de 4 kcal/g. Em contraste, os polióis possuem 2,4 kcal/g, a polidextrose e a inulina apenas 1 kcal/g (GOMES et al., 2007).

Santos & Silva (2012) avaliaram o efeito da substituição de gordura vegetal hidrogenada e sacarose nas propriedades físicas, químicas e aceitabilidade de sorvete com mangaba. As formulações de sorvete foram testadas com os substitutos de gordura: Selecta Light (polidextrose, sorbitol, maltodextrina, amido modificado, proteína de soro concentrado, acesulfame K, sucralose, goma guar, goma xantana, sal, dióxido de silicone e fosfato de tricálcio), Litesse (polidextrose) e Dairy-Lo (concentrado protéico de soro de leite) e os substitutos de sacarose: Lactitol e Splenda (adoçante sucralose). Das formulações, o sorvete com mangaba, elaborado com Selecta Light teve o melhor desempenho quanto à viscosidade e incorporação de ar, em comparação ao controle, bom nível de aceitação e baixo teor de gordura. Mas todos tiveram boa aceitação sensorial, principalmente os que utilizaram a combinação de polidextrose, adoçante e lactitol.

Wood (2011) utilizou FOS e inulina como substitutos parciais do açúcar em sorvetes e determinou atributos sensoriais de doçura, maciez e flavor. Dos resultados observou que os sorvetes adicionados com 10 e 20% desses substitutos não obtiveram diferença significativa comparados ao controle (0%) em relação aos atributos sensoriais. Mas, quando adicionados de 30%, tanto nos sorvetes com FOS e os adicionados em inulina foram significativamente menos doces e menos macios do que as menores proporções usadas.

A polidextrose é um polímero de moléculas de glicose unidas por ligações alfa-1,6, contendo como grupo terminal o sorbitol e/ou ligações monoésteres de ácido cítrico. Para sua produção são utilizados dextrose, sorbitol e ácido cítrico na proporção 89:10:1, respectivamente. É usada em sorvetes dietéticos por que confere corpo, textura e atribui características funcionais semelhantes às da sacarose, apresenta-se na forma de pó, com coloração creme e não confere sabor e odor aos alimentos, tornando-se necessário seu uso combinado com edulcorantes que confirmam sabor doce (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

No Brasil, a polidextrose foi aprovada pela ANVISA (2008) como uma fibra solúvel, que pode ser adicionada em alimentos e seu uso permite alegações

funcionais de auxiliar no funcionamento do intestino, para porção mínima contendo 3g se o produto for sólido e 1,5g se o produto for líquido .

A inulina é muito usada na substituição de gordura em produtos *light* e *diet*. Apresenta aumento da textura e maciez nos sorvetes com restrição de gordura. Doses inferiores a 20 g/refeição não causam efeitos colaterais, já superiores a 30 g/dia podem apresentar efeito laxativo (CÂNDIDO & CAMPOS, 1996).

Biofis FOS® é o nome comercial de pós contendo oligofrutose (frutooligossacarídeos), obtida da hidrólise enzimática da inulina. Apresentam propriedades tecnológicas semelhantes aos xaropes de glicose e frutose. Seu sabor é neutro e moderadamente doce.

A sucralose é o único adoçante não calórico produzido a partir do açúcar, não sendo percebido nenhum sabor residual; podendo ser usado em praticamente todos os produtos nos quais usa-se açúcares (SPLENDA, 2000). Seu poder adoçante é cerca de 600 vezes o da sacarose, não é metabolizado pelo organismo (portanto pode ser ingerido por diabéticos) e é estável a largas faixas de temperatura e pH (SUCRALOSE, 2012).

Na determinação da inocuidade da sucralose, o Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos, analisou mais de 110 estudos em seres humanos e animais. A maioria dos estudos estavam direcionados para identificar possíveis efeitos tóxicos, incluindo carcinogênicos, reprodutivos e neurológicos. Nenhum efeito colateral foi encontrado, e a aprovação do FDA está baseada na seguridade da sucralose para os seres humanos (GARCIA, 2000).

## **2.10 Cacau e efeitos benéficos para a saúde**

O cacau contém na sua composição polifenóis, ou compostos fenólicos, que propiciam efeitos benéficos à saúde, como uma potente atividade antioxidante associada à prevenção de reações oxidativas e de formação de radicais livres, bem como na proteção contra danos ao DNA das células (WOLLGAST & ANKLAN, 2000a). Outros efeitos positivos para a saúde são as propriedades anti-inflamatória, anticarcinogênica, antiaterogênica, antitrombótica, antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora, comprovadas em estudos científicos (WOLLGAST & ANKLAN, 2000b; GOTTI et al., 2006).

Os principais compostos fenólicos encontrados nas sementes de cacau são a catequina e a epicatequina. A epicatequina tem sido reportada como o principal flavanol monomérico do cacau, representando aproximadamente 35% do conteúdo total dos fenólicos (WOLLGAST & ANKLAM, 2000b).

Vários estudos mostram que a função endotelial é prejudicada durante a hiperglicemia, causando estresse oxidativo com efeitos proinflamatórios. O chocolate preto aumenta o fluxo sanguíneo mediado em sujeitos saudáveis e hipertensos com ou sem intolerância a glicose. O óxido nítrico age como um pilar na regulação vascular. Pessoas diabéticas tem baixa disponibilidade em óxido nítrico. Com o consumo de flavonóides presentes no cacau, ocorre aumento dessa disponibilidade (FERRI et al., 2010; GRASSI et al., 2012).

Grassi et al. (2012) observaram que a ingestão de 100 g de barra de chocolate preto rico em flavonóides após 3 dias de consumo, melhorou a dilatação sanguínea do fluxo mediado pelo óxido nítrico e a sensibilidade à insulina em hipertensos com ou sem intolerância a glicose. De forma semelhante, em pacientes diabéticos tipo 2, Balzer et al., (2008) reportaram que após consumirem durante 30 dias cacau rico em flavonóides houve aumento da disponibilidade do óxido nítrico do fluxo sanguíneo.

A função cognitiva também é favorecida com o consumo de flavonol. Desideri et al. (2012) ofertaram diariamente uma bebida láctea de cacau contendo 990mg de flavonóis (rica em flavonóis), 520 mg de flavonóis (intermediário em flavonóis) ou 45mg de flavonóis (baixo em flavonóis) durante 8 semanas a 90 idosos e testaram sua função cognitiva através de mini exame mental, um teste A e teste B e de fluência verbal. O tempo requerido pelo teste A e B foi significativamente menor em sujeitos que consumiram a bebida rica em flavonoides (38 e 104 segundos) e intermediário (40 e 115 segundos) em comparação ao grupo que consumiu baixos flavonóis (52 segundos e 139 segundos). A fluência verbal também foi significativamente melhor em sujeitos que consumiram altos polifenóis (27,5 palavras por 60 segundos) comparados com baixos polifenóis (22,3 palavras por 60 segundos). A resistência à insulina, pressão arterial e peroxidação lipídica também diminuíram entre os sujeitos que participaram dos grupos de altos e intermediários polifenóis.

A resistência à insulina pode promover disfunção cognitiva pela redução da insulina disponível no cérebro, aumentando os níveis de amiloide e fosforilação e

dano vascular através do stress oxidativo, citocinas pró-inflamatórias, glicação avançada em produtos finais e dislipidemia. Consequentemente, ocorre o desenvolvimento da doença cerebral microvascular e inflamação (DESIDERI et al., 2012). Logo, o consumo de produtos ricos ou intermediários em flavonóides podem ser benéficos para a função cognitiva em diabéticos.

## **2.11 Leite de cabra e seus benefícios nutricionais**

O leite de cabra é considerado um alimento regional no nordeste do Brasil, pois o clima semiárido favorece a criação de cabras. O seu consumo, possui vantagens nutricionais em relação ao leite de vaca por ser hipoalergênico e de maior digestibilidade (SILANIKOVE et al., 2010).

A explicação de ser hipoalergênico ocorre pelo fato que o leite caprino possui uma maior quantidade de  $\beta$ -caseína,  $\alpha$ s-2 caseína, apresentando quantidade inferior de  $\alpha$ -s1 caseína (principal proteína envolvida em alergias ao leite bovino). Tomotake et al. (2006), relataram 3,9% e 33,7% de  $\alpha$ s1-caseína em leite caprino e em leite bovino, respectivamente. Essa característica favorece seu uso para as crianças que possuem alergia a proteína do leite de vaca.

A maior digestibilidade do leite caprino, deve-se ao tamanho dos glóbulos de gordura e a composição dos ácidos graxos. O tamanho menor dos glóbulos de gordura no leite de cabra em comparação com aqueles no leite de vaca (o número de glóbulos de gorduras menores de  $5\mu\text{m}$  é aproximadamente 60% no leite de vaca enquanto que no leite de cabra é de aproximadamente 80%), resultam na textura mais macia e suave dos produtos de leite de cabra e a digestão no organismo (SILANIKOVE et al., 2010).

Em relação aos ácidos graxos, o leite caprino em comparação ao leite bovino, possui conteúdo superior em ácido butírico (C4:0), capríco (C6:0), caprílico (C8:0), cáprico (C10:0), láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), linoléico (C18:2) e inferior em ácido esteárico (C18:0) e ácido oléico (C18:1). Estas características conferem ao leite e aos derivados caprinos aroma e sabor típico, além de elevada digestibilidade, uma vez que os ácidos graxos de cadeia curta são posteriormente digeridos no trato digestivo, um processo que começa no estômago pela ação da



lipase gástrica, sendo então absorvidos sem a necessidade de reesterificação (PARK, 2009; HAENLEIN, 2004).

O leite de cabra excede o leite de vaca em ácidos graxos mono e poli-insaturados, que são reconhecidos como benéficos para a saúde humana, especialmente para condições de doenças cardiovasculares. Os ácidos graxos linoléico e linolênico e o ácido linoléico conjugado (CLA), possuem efeito cardioprotetor, agindo como antiaterogênico vascular (HAENLEIN, 2004). O nível de ácido linoleico conjugado (CLA) no leite tem sido manipulado pela nutrição animal para produzir leite de alto teor de CLA (PARK, 2009).

Outra vantagem nutricional que o leite de cabra tem em relação ao leite bovino é ser boa fonte de oligossacarídeos, pois possui maior conteúdo dos mesmos que no leite bovino (25-30mg/100mL versus 2-3 mg/100mL). Os mais abundantes oligossacarídeos encontrados são: N-acetyl-glucosyl-lactose, galactosyllactose, N-acetylneuraminyllactose, 3-sialyl-lactose e 6-sialyl-lactose representando 77% do total de oligossacarídeos. Esses oligossacarídeos do leite de cabra foram administrados de forma terapêutica após terem sido isolados, em estudo experimental com ratos portadores de colite ulcerativa aguda. Os animais consumiram 5% desses prebióticos adicionados na dieta durante 13 dias, que contribuíram na redução das lesões do cólon e favoreceram a microbiota intestinal com o crescimento de bifidobactérias (VILOSLADAA et al., 2006).

Diante dessas propriedades funcionais do leite de cabra, sua aplicação na indústria de alimentos deve ser incentivada, ampliando as alternativas de produtos alimentares saudáveis no mercado. Além disso, a pesquisa por outros ingredientes funcionais como o cacau, os prebióticos e probióticos na terapêutica do diabetes e na sua prevenção é de grande valia, para a redução da prevalência dessa doença, considerada uma pandemia mundial.

## 2.12 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2008. Comissões Tecnocientíficas 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: lista das alegações aprovadas.** Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em : 05 de set. 2012.

AKALIN, A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofrutose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v.73, p.1840 - 188, 2008.

AMAR, J. et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. **EMBO Molecular Medicine**, v.3, n.9, p. 559 - 57, 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 35, Suppl n. 1, p. 64 - 71. 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). **Standards of Medical Care in Diabetes .Clinical Practice Recommendations Diabetes Care**, v.37, Suppl n. 1 , p.1 - 67, 2014.

ANDRIGHETTO ; GOMES, M.I.F.V. Produção de picolés utilizando leite acidófilo. **Braz. J. Food Technol.**, v.6, n.2, p. 267 - 271, 2003.

BALZER, J. et al. Sustained benefits in vascular function through flavanol-containing cocoa in medicated diabetic patients. **J Am Coll Cardiol.**, v. 51, p. 2141–2149, 2008.

BODE, L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama **Glycobiology**, v. 22, n. 9, p. 1147 - 1162, 2012.

BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. Inulin and oligofrutose as prebiotics in the prevention of intestinal infections and diseases. **Nutr Res Rev.**, v.19, n. 2, p. 216 - 226, 2006.

BRAND-MILLER, J.C.; NATEL, G; SLAMAS, G. Glycaemic index and health: the quality of the evidence. **Nutrition and health collection**. France. Danone Vitaploe, 47p., 2001.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998. Portaria 29/98. Secretaria de Vigilância Sanitária (DOU 30.03.98) Aprova o regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais. 1998.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : diabetes mellitus / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde,

Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 160 p.: il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36).

BROUNS, F. et al. Glycaemic index methodology. **Nutr Res Rev.**, v. 18, n. 27, p.145 - 171, 2005.

BURANI J. **Gushers and tricklers: practical use of the glycemic index.** 2006. Disponível em: <<http://www.eatgoodcarbs.com/glycemic-index-diabetespresentations.html>>. Acesso em: 10 de maio 2014.

BURCELIN, R. et al. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. **Acta Diabetol.**, v. 48, p. 257 - 273, 2011.

CÂNDIDO, L. M. N.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: diabéticos.** São Paulo: Livraria Varela, 1996. 423 p.

CANI P.D.; DELZENNE, M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Current Pharmaceutical Design.**, v. 15, p. 1546 - 1558, 2009.

CANI, P.D. et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, p. 2374 - 2383, 2007.

CANI P.D. et al.Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. **Diabetes**, v. 55, p.1484 - 1490, 2006.

CAPRILES, V.D.; SILVA, K.E; FISBERG, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v.4, n. 6, p.327 - 335, 2005.

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.

CARDENETTE,G.H.L **.Produtos derivados de banana verde(Musa spp.) e sua influência na tolerância à glicose e na fermentação colônica.** Tese de Doutorado. 2006.180f. Universidade de São Paulo(USP). São Paulo. 2006.

CARICILLI, A.M.; SAAD, M.J.A. The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance. **Nutrients** **2013**, v. 5, p. 829 - 851. Disponível em <[www.mdpi.com/journal/nutrients](http://www.mdpi.com/journal/nutrients)>. Acesso em maio de 2014.

CORREIA,R.T.P.; MAGALHÃES, M.M.A.; PEDRINI, M.R.S.; CRUZ , A.V.F.; CLEMENTINO, I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, 2008.

COUSSEMENT PA. Anion and oligofructose: Safe intakes and legal status. **J Nuts**, v. 129, n.141, p. 25 - 75, 1999.

CRUZ, A.G. et al. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359 - 388.

DAI D., et al. The role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. **J Pediatr Nutr.**, v. 30, p. 23 - 33, 2000.

DEN HOND E, GEYPENS B, GHOOS Y. Effect of high performance chicory inulin on constipation. **Nutr Res.**, v. 20, p. 731-736. 2000.

DESIDERI, G. et al. Benefits in Cognitive Function, Blood Pressure, and Insulin Resistance Through Cocoa Flavanol Consumption in Elderly Subjects With Mild Cognitive Impairment The Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) Study. **Hypertension. Journal of the American Heart Association**, v. 60, p. 794 - 801, 2012.

ESTEVE, E.; WIFREDO R.; FERNANDEZ-REALAB, J.M. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n.1, p. 483 - 490, 2011.

FALCÃO, I. M et al. Estudo da prevalência da diabetes e das suas complicações numa coorte de diabéticos portugueses: um estudo na Rede Médicos-Sentinela. **Rev Port Clin Geral**, v. 24, n.6, p. 79 - 92, 2008.

FAO/WHO EXPERT CONSULTATION. **Carbohydrates in human nutrition**. GENEVA: Food and Agriculture Organization, World Health Organization, 1998. 143p.

FERRI, C. et al. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. **Am J Clin Nutr.**, v. 91, p. 940 - 949, 2010 .

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION FAO/WHO - Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em:<<ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>>. Acesso em 17 jan. 2014.

GAO, Z. et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, v. 58, p.1509 - 1517, 2009.

GARCIA, A. E. B. **Tendências de mercado para produtos diet e light no setor de chocolates, balas e confeitos**. In: Manual Técnico do Seminário Produtos Diet e Light, Campinas, Junho de 2000, 154 p.

GIBSON GR, BEATTY ER, CUMMINGS J. Selective fermentation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, v.108, p. 975 - 982, 1995;

- GOMES, C. R. et al. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 614 - 623, 2007.
- GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I.R. Frozen Yogurt com bactérias probióticas. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.
- GOTTI, R. et al. Analysis of catechins in *Theobroma cacao* beans by cyclodextrin-modified micellarelektrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, New York, v. 11, n.12, p. 345-352, 2006.
- GRASSI, D. et al. Protective Effects of Flavanol-Rich Dark Chocolate on Endothelial Function and Wave Reflection During Acute Hyperglycemia. **Hypertension**, v. 60, p. 827 - 832, 2012.
- HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v.51, p.155 - 163, 2004.
- HÄTÖNEN KA, et al. Methodologic considerations in the measurement of glycemic index: glycemic response to rye bread, oatmeal porridge, and mashed potato. **Am J Clin Nutr.**, v.84, n.5, p.1055-1061, 2006.
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - IDF, 2013 Sixth edition, 2013. Online version of IDF Diabetes Atlas: Disponível em < [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas)>. Acesso em : 15 de mar. 2014.
- JENKINS, D. J. et al. "Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange". **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 363 -366, 1981.
- JUNGERSEN M. et al. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. **Microorganisms**, v. 2, p. 92 - 110, 2014 , disponível em:< [www.mdpi.com/journal/microorganisms](http://www.mdpi.com/journal/microorganisms)>. Acesso em : 20 de jun. 2014.
- KABEERDOSS, J. et al. Effect of yoghurt containing *Bifidobacterium lactis* Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin2 in healthy adult volunteers. **Nutrition Journal**. V. 10, p. 138 - 144, 2011, Disponível em <<http://www.nutritionj.com/content/10/1/138>>. Acesso em 10 jul. 2014.
- KELLY, G. Inulin-type prebiotics – a review. Part 1. **Alternative Medicine Review**, v.13, n.4, p. 315 - 329, 2008.
- KLEESSEN, B. et al. Effects of inulin and lactose on fecal microbiota, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. **Am J Clin Nutr**; v. 65, p. 1397-1402, 1997.
- KOOTTE, R.S. et al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. **Diabetes, Obesity and Metabolism.**, v.14, p. 112 - 120, 2012.

LAMOUNIER, M.L. **Sorvete a base de preparado em pó**. 2012.103f. Dissertação de Mestrado em Ciências. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

MALAPPA, R. H. et al. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v.16, 2012, Disponível em :< [www.ijem.in](http://www.ijem.in).> Acesso em: 02 de jun 2014.

MAZLOOM, Z.; YOUSEFINEJAD, A.; DABBAGHMANESH, H. M. Effect of Probiotics on Lipid Profile, Control, Insulin Action, Oxidative Stress, and Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes: A Clinical . **Iran J Med Sci.**, v. 38, n. 1, 2013.

MEYER, D, STASSE-WOLTHUIS, M. The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences for gut health. **Eur J Clin Nutr.**, v.1, p. 1277 - 1289, 2009.

MOROTI, C et al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids Health**, v. 38, n.1, p. 11 - 29, 2012.

MURPHY, O. Non-polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 47 - 53, 2001.

NAIR K. K.; KHARBS; THOMPSON, D.K. Inulin dietary fiber with functional and health attributes- a review. **Food Reviews International**, London, v. 26, n. 2, p.189 - 203, 2010.

ORAFTI. Active foods ingredients. **The role of inulin and oligofructose in a low glycaemic diet**, Belgium, 2005. Encarte técnico.

PANWAR, H. et al. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes – prospects and Perspectives. **Diabetes Metab Res Rev.**, v. 29, p.103 – 112, 2013. Disponível em :<Published online in Wiley Online Library ([wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com))>. Acesso em 03 de julho de 2014.

PARK, Y.W. **Components in Goat Milk. In: Bioactive Components in Milk and Dairy Products Bioactive**, Cap. 3. p.43-81, Ed. Wiley-Blackwell, Geórgia, 2009.

RANADHEERA, C.S. et al. Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. **Small Ruminant Research**. V. 112, p. 174 – 180, 2013. Disponível em :< [journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://journal.homepage:www.elsevier.com/locate/smallrumres)>. Acesso em : 02 de ag. 2014.

RENHE, I.R.T. et al. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Porto Alegre, v.23, n.2, p.119-126, 2008.

RIBEIRO, A.C., RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. **Small Rumin. Res.**, v.89, n.2, p. 225 – 233, 2010.

ROBERFROID, MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **Am J Clin Nutr.**, v.71, n. 6, p.168-177, 2000.

ROBINSON, R. K. The potential of inulin as a functional ingredient. **British Food Journal**, Bradford, v. 97, n. 4, p. 30-32, 1995.

SALMERON, J. et al. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. **Diab. Care**, v. 20, p. 545 - 550, 1997.

SAAD, S.M.I.; *et al.* **Probióticos e prebióticos em alimentos. Fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1.ed.São Paulo: VARELA, 2011.669 p.

SANTOS, G.G.; SILVA, M.R. Mangaba (*Hancornia speciosa Gomez*) ice cream prepared with fat replacers and sugar substitutes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.32, p.621 - 628, 2012.

SCHEFFEL S.R. et al. Prevalência de Complicações Micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito tipo 2 em atendimento ambulatorial. **Rev Assoc Med Bras.**, v. 50, n.3, p. 263 - 267, 2004.

SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, p.110 - 124, 2010.

SILVA, F. M. et al. Papel do índice glicêmico e da carga glicêmica na prevenção e no controle metabólico de pacientes com diabetes melito tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.53, n.5, p. 112- 117, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA de DIABETES,(SBD). Diretrizes. Tratamento e acompanhamento do Diabetes mellitus. 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA de DIABETES, (SBD). Diretrizes 2013-2014. Tratamento e acompanhamento do Diabetes mellitus. Ed. 3, 378p. 2014.

SOUKOLINS, C; LEBESI, D; TZIA, C. Enrichment of ice-cream with dietary fibre: Effects on reological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v.115, p. 665 - 671, 2009.

SPLENDA. Catálogo Sucralose.2000.

STRONG, K. et al. Preventing chronic diseases: how many lives can we save? **Lancet**, v.366, p.1578 - 1582, 2005.

SUCRALOSE. Disponível em: <<http://www.caloriecontrol.org/sucralos.html>> Acesso em: 2 ago. 2012.

THARP, B. W. et al. **Ampliando o perfil nutricional do sorvete**. Disponível em: <[www.insumos.com.br/sorvetes\\_e\\_casquinhas/materias/85.pdf](http://www.insumos.com.br/sorvetes_e_casquinhas/materias/85.pdf)>. Acesso em: 16 maio 2012. 2009.

TOMOTAKE, H. et al. Comparison between Holstein cow's milk and Japan- ese-Saanen goat's milk in fatty acid composition, lipid digestibility and protein profile. **Biosci Biotechnol Biochem.**, v. 70, n. 11, p. 2771-2774, 2006.

TUOHY, K.M. et al. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics—assessment of efficacy. **Curr Pharm Des**, v. 11, n.1, p.75-90, 2005.

VAN LOO L, J. et al. On the presence of inulina and oligofructose as natural ingredients in the western diet". **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, p. 525 – 552, 1995.

VIEIRA-SANTOS, I. C. R. et al. Complicações crônicas dos diabéticos tipo 2 atendidos nas Unidades de Saúde da Família, Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Maternal Infantil** , p. 427 - 433, 2008.

VILOSLADAA, E. D. et al. Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of dextran sodium sulfate induced colitis. **Clinical Nutrition**, v. 25, p. 477- 488, 2006.

WALKER, WA. Role of nutrients and bacterial colonization in the development of intestinal host defense. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 30, p. 2 - 7, 2000.

WANG, Y. Prebiotics: present and future in food science and technology. **Food Research International**, Essex, v.42, p. 8 - 12, 2009.

WOLEVER, T. M. S. et al. The glycemic index: methodology and clinical implications. **Am. J. of Clin. Nutr.**, v. 54, p. 846 - 854, 1991.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 449 - 459, 2000a.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 423 - 447, 2000b.

WOOD, J. M. **Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients substituted for sugar.** (2011). Nutrition & Health Sciences. Dissertations & Theses. Paper 18. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/nutritiondiss/18s>>. Acesso: 10 de out. 2012.

YADAV, H. ; SHALINI, J. ; MAROTTA, F. Probiotics Mediated Modulation of Gut-Flora Might Be a Biotherapeutical Approach for Obesity and Type 2 Diabetes. **Acta Diabetol.**, v. 48, p. 257 - 273 , 2011.



### 3. CAPÍTULO 2 – DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DOS SORVETES DE CHOCOLATE DIETÉTICOS SIMBIÓTICOS DE LEITE DE CABRA.

#### RESUMO

A suplementação com probióticos e prebióticos surge como uma nova terapêutica para a prevenção de diabetes tipo 2 e o tratamento em pacientes diabéticos. O desenvolvimento de sorvetes de chocolate dietéticos de leite de cabra, adicionados de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, inulina e ou frutooligossacarídeos (FOS), a caracterização quanto a composição centesimal, avaliação do efeito desses prebióticos nas propriedades reológicas dos sorvetes e a aceitação sensorial por provadores saudáveis e diabéticos foram os objetivos desse trabalho. Foram produzidas 4 formulações do sorvete: SC (denominado sorvete controle = + polidextrose, - inulina, - FOS, - Bb12); SF (+ 6%FOS, + Bb12), SI (+ 6%Inulina, + Bb12); SFI (+ 3%FOS, + 3%Inulina, + Bb12). Após o processamento, os sorvetes foram armazenados a - 18 °C durante 84 dias. O teor de carboidratos totais variou entre 20,5 a 21,46%, proteínas: 5,39 a 5,85%, lipídios: 5 a 6,2%, cinzas:1,98 a 2,01%, sólidos totais: 30,9 a 33,4% ,valor energético: 126,14 a 137,08 Kcal. Ao final desse período, os sorvetes contendo inulina(SI) e adicionado de FOS(SFI) aumentaram significativamente a dureza instrumental (SI: 45,80 ± 4,17, SFI: 43,62 ± 5,19 Kgf), teste de derretimento ( $p>0,05$ ) (SI: 1,98 ± 0,11, SFI: 2,02 ± 0,23 ml/min) e *overrun* ( $p>0,05$ ) (SI: 38,65 ± 5,08, SFI: 40,71 ± 8,39%) comparados aos sorvetes apenas com FOS (SF) (29,84 ± 4,44 Kgf; 1,96 ± 0,05 ml/min; 32,89 ± 3,20%) respectivamente. Todas as formulações de sorvetes dietéticos obtiveram boa aceitação sensorial, com destaque para o sorvete contendo inulina ( $p>0,05$ ) (textura: 8,11 ± 0,83, sabor: 7,27 ± 1,56, aceitação global: 7,44 ± 1,41) que foi a formulação selecionada para a sensorial dos diabéticos. As notas sensoriais dos diabéticos foram maiores (textura: 8,66 ± 0,66, sabor: 8,53 ± 0,73, aceitação global: 8,53 ± 0,90) em relação às notas descritas acima dos voluntários saudáveis. Este trabalho, confirma os dados da literatura que apontam os prebióticos inulina e FOS como ingredientes potenciais texturizantes, indicados na elaboração de sorvetes dietéticos simbióticos, e de boa aceitação sensorial.

Palavras chave: *Bifidobacterium*, diabetes, inulina e frutooligossacarídeos.

## ABSTRACT

Probiotics and prebiotics supplementation are promising in the prevention of diabetes type 2 and can contribute to the treatment of diabetic patients. The present work aimed to formulate a diet chocolate ice-cream made of goat milk, added with *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, inulin and/or fructooligosaccharides (FOS), and to evaluate the effects of these prebiotics on the centesimal composition, rheologic properties and sensory acceptability of the ice-cream by healthy and diabetic consumers. Four ice-cream formulations were manufactured, denoted: SC (control ice-cream, containing polydextrose), SF (with 6% FOS, and Bb12), SI (with 6% inulin, and Bb12), and SFI (with 3% FOS, 3% inulin, and Bb12). After processing and 84 days of storage at -18 °C, the ice-cream formulations showed total carbohydrates with 20,5 - 21,46%, proteins: 5,39 - 5,85%, lipides: 5 - 6,2%, ash: 1,98 - 2,01%, total solids 30,9 - 33,4% , energetic values: 126,14 - 137,08 Kcal. These experimental final the ice creams containing inulin (SI) and inulin plus FOS (SFI) had their instrumental hardness increased significantly (SI:  $45,80 \pm 4,17$ , SFI:  $43,62 \pm 5,19$  Kgf) , increased melting behavior ( $p > 0,05$ ) (SI:  $1,98 \pm 0,11$ , SFI:  $2,02 \pm 0,23$  ml/min) and overrun increased ( $p > 0,05$ ) (SI:  $38,65 \pm 5,08$ , SFI:  $40,71 \pm 8,39\%$ ) compared to those containing only FOS (SF) ( $29,84 \pm 4,44$  Kgf;  $1,96 \pm 0,05$  ml/min;  $32,89 \pm 3,20\%$ ) . All the formulations of diet ice-creams have got a good sensory acceptability, considering the attributes texture, flavor and overall acceptability, specially the SI ( $p > 0,05$ ) (texture :  $8,11 \pm 0,83$ , flavor:  $7,27 \pm 1,56$ , global acceptance:  $7,44 \pm 1,41$ ) , which was chosen for the sensory analysis by diabetic volunteers (texture:  $8,66 \pm 0,66$ , flavor:  $8,53 \pm 0,73$ , global acceptance:  $8,53 \pm 0,90$ ). In average, the acceptability scores attributed to SI by the diabetic panelists were higher ( $p > 0,05$ ) compared to the scores attributed by healthy volunteers. The results corroborates the literature data, which shows inulin and FOS as potential texturizing ingredients with good sensory acceptability, recommended for the production of diet symbiotic ice-creams.

Key-words: *Bifidobacterium*, diabetes, inulin, fructooligosaccharides.

### 3.1 Introdução

O sorvete é um produto lácteo congelado, nutritivo, bastante consumido e apreciado em todas as partes do mundo (CRUZ et al., 2011). No Brasil, é classificado pela legislação vigente, como “gelados comestíveis”, que são obtidos a partir de uma emulsão de gorduras e proteínas ou de uma mistura de água e açúcares, podendo ser adicionado de outros ingredientes, desde que não descaracterizem o produto (ANVISA, 2005).

Dentre as inovações do mercado dos sorvetes, pode-se destacar a adição de micro-organismos probióticos e ingredientes prebióticos. Essa combinação, no mesmo produto, define os alimentos simbióticos, favorecendo o aumento da sobrevivência dos probióticos durante o armazenamento e a passagem pelo trato gastrointestinal (CAPRILES et al., 2005; CRUZ et al., 2011).

A *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12) é uma bactéria probiótica que habita naturalmente o intestino humano e animal e está relacionada à inibição de patógenos, melhora do metabolismo da lactose, redução do colesterol sérico, estímulo do sistema imune, auxílio no tratamento de infecções bacterianas (como as causadas por *Helicobacter pylori* e *Clostridium difficile*), além de apresentar propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas (JUNGERSEN et al., 2014).

Akalin & Erisir (2008) ao desenvolverem sorvetes simbióticos, adicionados de Bb12 e dos prebióticos inulina ou oligofrutose, observaram que a sobrevivência desse probiótico após 90 dias de armazenamento a - 18 °C ,foi superior em comparação ao sorvete controle. Esses prebióticos possuem efeito protetor às bifidobactérias, sendo considerados bifidogênicos (NAIR et al., 2010).

As formulações convencionais de sorvetes apresentam altas concentrações de açúcares e gorduras. A prevalência do diabetes mellitus tipo 2 vem crescendo de forma alarmante, logo é importante o desenvolvimento de produtos para dietas com restrição de açúcares e gorduras, sendo os prebióticos eficazes na tecnologia de sorvetes dietéticos (THARP et al., 2009; BRASIL, 2013; WOOD, 2011).

A inulina confere maciez ao sorvete *light*, atuando como um substituto de gordura. Os frutooligossacarídeos (FOS) podem ser usados como substitutos de açúcar, parcial ou totalmente, conferindo corpo aos produtos lácteos e doçura cerca de 30% a 50% equivalente à sacarose. Em gelados comestíveis, essa característica aumenta o *flavor* da fruta e o balanço da doçura, mascarando possíveis sabores

residuais de adoçantes e reduzindo o ponto de congelamento, o que interfere na otimização da textura do sorvete (AKALIN et al., 2007).

O leite é um dos principais ingredientes utilizados na fabricação de sorvetes. O leite de cabra possui características únicas, que o diferenciam do leite de vaca quanto a sua composição nutricional. É mais rico em ácidos graxos de cadeia curta, e contém maior proporção de glóbulos de gordura de menor tamanho, o que está relacionado a uma maior digestibilidade e, portanto, a um maior aproveitamento do alimento pelo organismo. Além disso, possui baixa quantidade (menor proporção em comparação com o leite bovino) de  $\alpha$ -s1 caseína, proteína envolvida na alergia ao leite, sendo assim indicado para crianças alérgicas ao leite de vaca. Outra vantagem nutricional do leite de cabra é ser fonte de oligossacarídeos considerados prebióticos (SILANIKOVE et al., 2010).

Estudos com sorvete a base de leite de cabra foram realizados e demonstraram que o perfil de derretimento é mais rápido, comparados aos sorvetes com leite de vaca, justamente pela maior proporção de glóbulos de gordura menores, favorecendo a maciez do produto (Correia et al., 2008;). O uso de Bb12 nessa matriz alimentícia também trouxe bons resultados quanto à viabilidade dos mesmos durante o tempo de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  (RANADERRHA et al., 2013; PAULA, 2012).

O objetivo desse trabalho foi desenvolver formulações de sorvetes de chocolate dietéticos simbióticos à base de leite de cabra e caracterizá-los quanto à composição centesimal, avaliando o efeito da adição de FOS, inulina e da combinação de FOS e inulina sobre a textura, o tempo de derretimento e o *overrun* do sorvete, bem como verificar a aceitabilidade sensorial durante o armazenamento, contribuindo para maior variedade de alimentos e adequação da dieta de diabéticos.

## **3.2 Materiais e Métodos**

### **3.2.1 Desenvolvimento do sorvete**

Os sorvetes foram desenvolvidos no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos (LCTA) da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada em Sobral - CE.

Foram produzidas quatro formulações do sorvete: a controle (SC), contendo adoçante sucralose, polidextrose e sem adição de probióticos e prebióticos, a adicionada de FOS (SF), a adicionada de inulina (SI) e o sorvete com FOS e inulina (SFI), sendo estes três últimos tratamentos com adição de adoçante sucralose e probióticos, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1- Variáveis envolvidas na elaboração dos sorvetes.

Sorvetes	Probióticos	Frutooligossacarídeos (FOS)	Inulina	Polidextrose
SC	-	-	-	+
SF	<i>B. animalis</i> (Bb12)	+	-	-
SI	<i>B. animalis</i> (Bb12)	-	+	-
SFI	<i>B. animalis</i> (Bb12)	+	+	-

SC - sorvete controle + polidextrose(6%)  
 SF - sorvete + frutooligossacarídeos-FOS(6%)+  
*Bifidobacterium animalis*(Bb12)  
 SI- sorvete + inulina(6%) + *Bifidobacterium animalis*(Bb12)  
 SFI- sorvete + FOS(3%)+ inulina(3%)+  
*Bifidobacterium animalis*(Bb12)  
 Fonte: Elaborado pelo autor.

Neste estudo foram selecionados a polidextrose, a inulina e o FOS como agentes de corpo para o sorvete dietético e o edulcorante de alta intensidade, a sucralose, para conferir o sabor doce.

A proporção dos ingredientes utilizados nas quatro formulações é apresentada na tabela abaixo (Tabela 2):

Tabela 2 – Proporção (m/m) dos ingredientes utilizados nas formulações dos sorvetes em percentual.

Ingredientes (%)	Formulações			
	SC	SF	SI	SFI
<b>Fixos</b>				
Leite de cabra em pó desnatado*	10,00	10,00	10,00	10,00
Creme de leite de cabra (50% gordura)*	10,00	10,00	10,00	10,00

Cacau em pó <sup>1</sup>	5,00	5,00	5,00	5,00
Adoçante em pó <sup>2</sup>	1,44	1,44	1,44	1,44
Estabilizante <sup>3</sup>	1,40	1,40	1,40	1,40
Emulsificante <sup>4</sup>	0,80	0,80	0,80	0,80

#### Variáveis

Leite de cabra desnatado pasteurizado*	65,36	65,29	65,29	65,29
Polidextrose <sup>5</sup>	6,00	-	-	-
Oligofrutose(FOS) <sup>6</sup>	-	6,00	-	3,00
Inulina <sup>7</sup>	-	-	6,00	3,00
<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i> - Bb12 <sup>8</sup>	-	0,07	0,07	0,07
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

SC - polidextrose

SF- FOS + *B. animalis* (Bb12)

SI- inulina + *B. animalis* (Bb12)

SFI - FOS+ inulina + *B. animalis* (Bb12)

<sup>1</sup> Cacau Garoto® (Vila Velha, Brasil); <sup>2</sup> Adoçante Linea Sucralose® (Anápolis, Brasil); <sup>3</sup> Liga neutra G3 Kerry® (Campinas, Brasil); <sup>4</sup> Selecta Duas Rodas® (Jaguará do Sul, Brasil); <sup>5</sup> Supla fiber® (Santo Ângelo, Brasil); <sup>6</sup> Biofis FOS® (São Paulo, Brasil); <sup>7</sup> Biofis Inulina® (São Paulo, Brasil); <sup>8</sup> Christian Hansen®

\* Produzidos na Embrapa Caprinos e Ovinos, conforme descrito no item 2.2.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O leite de cabra em pó desnatado, o leite de cabra fluido desnatado pasteurizado e o creme de leite de cabra (50% de gordura) foram produzidos na Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral-CE). O cacau em pó, adoçante em pó sucralose, estabilizante e emulsificante foram adquiridos no mercado local de Sobral-CE. Parte do adoçante foi doado pela empresa Linea Sucralose. A inulina e os FOS foram obtidos da empresa Biofis - São Paulo, a polidextrose do distribuidor Supla fiber® e a bactéria probiótica (Bb12) do distribuidor da Christian Hansen®.

### 3.2.2 Obtenção de leite de cabra desnatado, leite de cabra em pó e creme de leite de cabra padronizado.

Inicialmente o leite integral de cabra *in natura*, obtido do rebanho próprio da Embrapa Caprinos, foi aquecido a 37 °C e submetido ao processo de retirada parcial da gordura em desnatadeira centrífuga até percentual de gordura abaixo de 0,5%. O

leite desnatado foi pasteurizado a 63 °C por 30 minutos e armazenado a 5 °C até o momento da secagem. Após o desnate, o creme de leite obtido foi padronizado a 50% de gordura (Ordóñez, 2005), pasteurizado a 65 °C por 40 minutos, resfriado, embalado e armazenado a 5°C, utilizando-se a metodologia proposta por Paula (2011).

Para a obtenção do leite de cabra em pó, o leite desnatado foi desidratado em Mini Spray Dryer B-290 (Büchi, Flawil 1, Suíça), utilizando-se os parâmetros de temperatura de entrada – 160 °C; fluxo de ar – 45 m<sup>3</sup>/h; vazão de alimentação – 10 mL/min (PAULA, 2012). Após a desidratação, o leite em pó foi coletado e armazenado ao abrigo de luz e umidade, em embalagens plásticas próprias para a embalagem a vácuo, até a sua utilização na fabricação dos sorvetes (Figura 1).

Figura 1- Obtenção do leite de cabra em pó desnatado



(A) Mini Spray Dryer;

(B) Leite de cabra em pó desnatado.

Fonte: Elaborado pelo autor.

### **3.2.3 Ativação da cultura probiótica e adição dos prebióticos.**

O leite de cabra desnatado utilizado nesta etapa foi tratado termicamente a 90 °C durante 3,5 minutos, em banho maria. Em seguida, foi resfriado a 37 °C e adicionado da cultura liofilizada na proporção de 0,07g de *B.animalis* subsp. *lactis* (Bb12) para cada 100 mL de leite (total a ser utilizado na formulação da calda). O leite foi incubado por 2 horas em estufa a 37 °C, adaptando-se a metodologia

aplicada por Cruz et al. (2009) (Figura 2A). A proporção da cultura probiótica adicionada (0,07%) baseou-se em dados da literatura sobre sorvetes probióticos, para atingir valores próximos  $10^9$  UFC/g após o processamento do sorvete (PAULA, 2012; SOUSA, 2013). Segundo a legislação brasileira, é considerado produto probiótico quando as populações viáveis desses micro-organismos estão entre  $10^8$  –  $10^9$  UFC/g (ANVISA, 2008).

Figura 2 – Etapas da fabricação dos sorvetes.



(A) Cultura probiótica sendo ativada em leite de cabra desnatado em estufa a 37 °C por 2 horas.

(B) Pesagem dos ingredientes dos sorvetes.

(C) Homogeneização da calda base na produtora de sorvetes.

(D) Maturação da calda dos sorvetes durante 3h a 4° C.

(E) Congelamento parcial da calda após batimento

(F) Envase dos sorvetes em embalagens de polietileno

Fonte: Elaborado pelo autor.

No Brasil, a alegação de propriedade funcional para alimentos contendo frutanos é permitida desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3 g de inulina e/ou FOS, se o alimento for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido. Fundamentada nessa recomendação, a quantidade utilizada neste trabalho foi de 6% para todos os prebióticos, sendo o SFI com 3% de FOS e 3% de inulina.

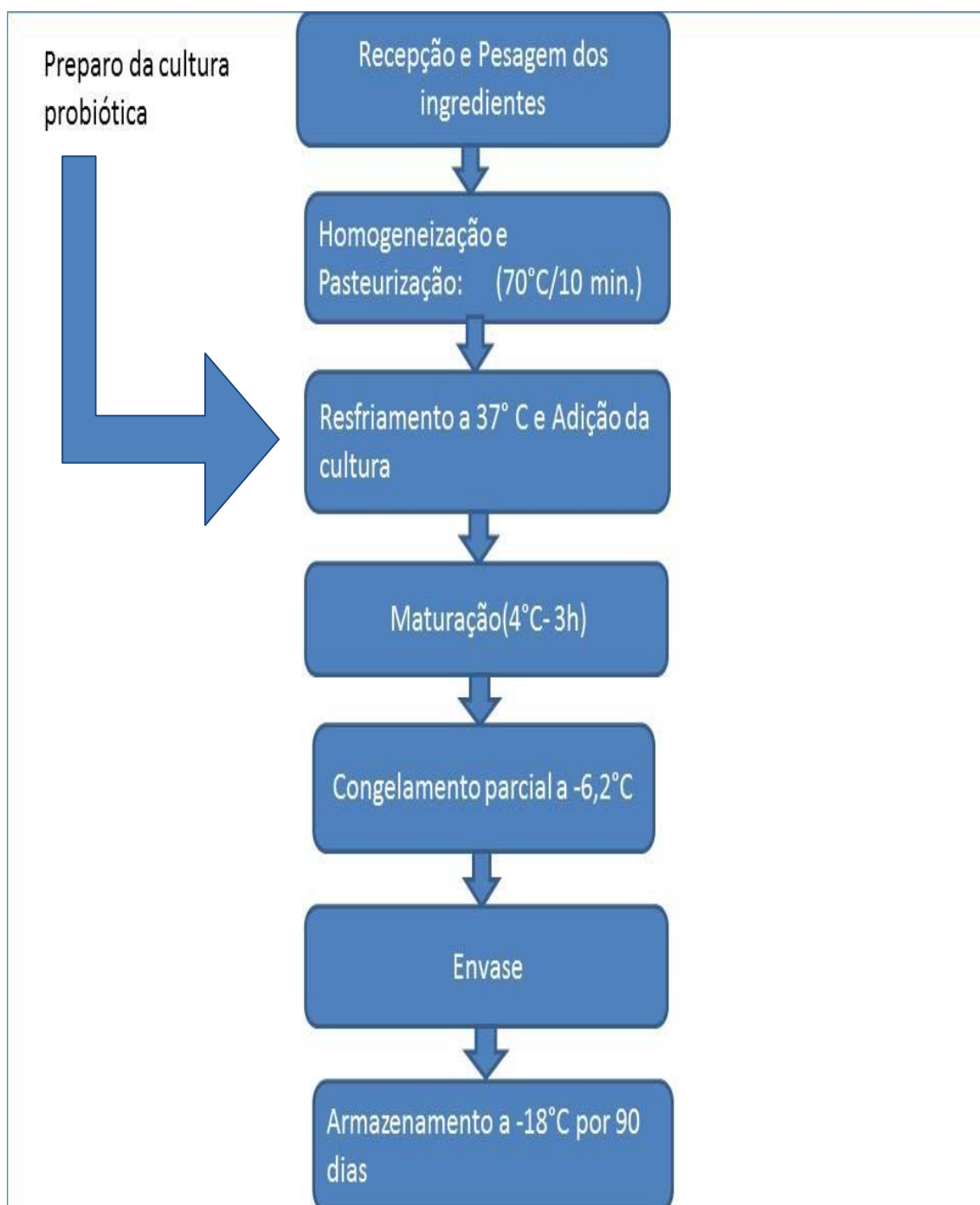


### **3.2.4 Fabricação dos sorvetes**

Inicialmente, foi realizada a ativação da cultura conforme item 2.3. (Figura 2A). Os ingredientes adoçante, leite em pó, creme de leite, cacau em pó, estabilizante, povidona ou FOS e inulina e emulsificante foram pesados e adicionados ao leite de cabra desnatado sob agitação na produtora de sorvetes, da marca Finamac, modelo: PP12 com capacidade para 12 litros (Figuras 2B e 2C). A calda base foi pasteurizada a 70 °C durante 10 min na produtora de sorvetes e homogeneizada para obter uma suspensão de gordura estável e uniforme. Em seguida, resfriada por imersão em água gelada (SOLER & VEIGA, 2001). A cultura foi retirada da estufa e adicionada à calda ao atingir a temperatura de 37 °C, quando procedeu-se ao abaixamento da temperatura para dar início ao processo de maturação por 3 horas a 4 °C (Figura 2D).

O congelamento parcial da calda ocorreu na produtora de sorvetes durante batimento, até atingir a temperatura de -6,2 °C (Figura 2E). Os sorvetes foram embalados em potes de polietileno com capacidade para 70, 100 e 250 mL, e imediatamente armazenados à temperatura de -18 °C (Figura 2F). Foi estabelecido como período de armazenamento 90 dias a -18 °C. As características microbiológicas e sensoriais foram avaliadas após 7 dias no período inicial (considerado tempo 0) e final (84 dias) de armazenamento. O fluxograma do processamento dos sorvetes é apresentado na Figura 3.

Figura 3- Fluxograma de elaboração dos sorvetes dietéticos de leite de cabra.



Fonte: Elaborado pelo autor.

### 3.2.5 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Físico-química e de Nutrição da Embrapa Caprinos e Ovinos.

As amostras destinadas à determinação da composição centesimal foram preparadas após 15 dias de armazenamento, conforme metodologias referenciadas na Tabela 3. Aleatoriamente, três potes (70 mL) de cada formulação foram escolhidos e transferidos para sacos homogeneizadores de amostra. Os sorvetes foram mantidos à temperatura ambiente até liquefação total, estando a amostra completamente homogênea e sem separação de fases. Após esse procedimento, as amostras foram transferidas para o homogeneizador i-Mix 027230 (Interlab, França), onde foram homogeneizadas durante 150 segundos. Ao final, as amostras desaeradas foram distribuídas em tubos Falcon com capacidade para 50 mL e armazenadas a  $-20 \pm 2^\circ\text{C}$  até a sua utilização.

Tabela 3 – Metodologias aplicadas às análises físico-químicas das formulações de sorvete.

Parâmetro	Metodologia
Umidade (%)	Instituto Adolfo Lutz (2005)
Proteína (%)	Kjedhal, Instituto Adolfo Lutz (2005)
Carboidratos (%)	Pela diferença
Lipídios (%)	Adaptado de Bligh e Dyer(1959)
Cinzas (%)	Instituto Adolfo Lutz (2005)
Valor calórico (Kcal)	Cálculo, Mahan & Socott-Stump (2005)

Fonte: Elaborado pelo autor.

### 3.2.6 Análise microbiológica dos sorvetes

Para a contagem de coliformes termotolerantes, foram utilizadas placas de Petrifilm™ (3M Microbiology, St. Paul, EUA), as quais foram incubadas a  $45^\circ\text{C}$  durante 24 h. A determinação de estafilococos coagulase-positivos foi realizada utilizando-se placas Petrifilm™ Staph, incubadas a  $37^\circ\text{C}$  por 24 h. Para *Salmonella* spp. utilizou-se a metodologia proposta por Andrews et al. (2001).

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Embrapa Caprinos e Ovinos.

### **3.2.7 Análises reológicas dos sorvetes: overrun, dureza instrumental (textura) e teste de derretimento (melting test).**

O *overrun* é a quantidade de ar incorporado durante o processo de batimento e congelamento simultâneo da calda para a obtenção do sorvete (CRUZ et al., 2011).

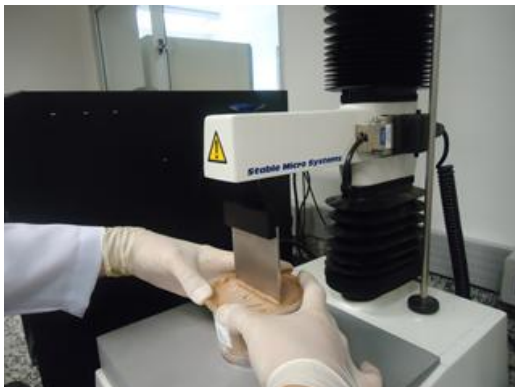
O *overrun* dos sorvetes foi calculado pela diferença entre o peso da calda e o peso do sorvete dividido pelo volume do sorvete, multiplicado por 100 (Marshall et al., 2003).

$$\text{Overrun (\%)} = \frac{\rho \text{ calda} - \rho \text{ sorvete} \times 100}{\rho \text{ sorvete}}$$

Onde:  $\rho$  calda= peso da calda, e  $\rho$  sorvete= peso do sorvete.

Para a determinação da dureza instrumental dos sorvetes, adaptou-se a metodologia utilizada por El-Nagar et al. (2002), utilizando um analisador de textura (TAXT plus, Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) no Laboratório de Bioquímica da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral-Ce. A análise foi feita com sorvetes armazenados em potes de 250 mL, sendo realizadas 5 medições para cada sorvete. Os sorvetes foram retirados do freezer a -20 °C e mantidos em temperatura ambiente (26 °C) durante 10 minutos. Em seguida, foi realizado o corte com base nos procedimentos recomendados pelo fabricante do equipamento para gelados comestíveis, com adaptações. As medições da dureza foram realizadas com o probe (acessório) Knife Edge-HDP/BS, e os parâmetros utilizados foram: velocidade pré-teste, teste e pós teste de 2,0 3,0 e 10 mm/s, respectivamente, para romper a estrutura do produto (Figura 4).

Figura 4- Texturômetro realizando o corte do sorvete.



Fonte: Autor.

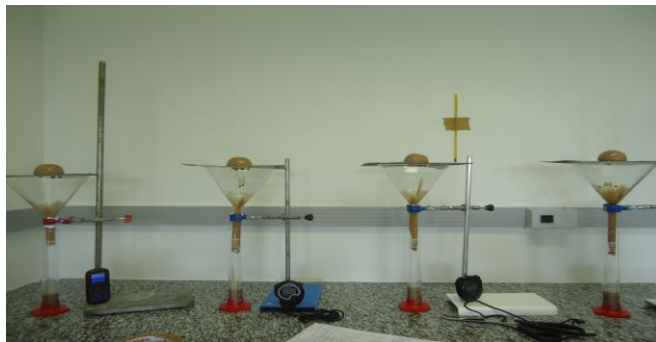
O teste de derretimento dos sorvetes foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Granger et al. (2005), utilizando-se 5 amostras de 100 mL de cada formulação. Para esse fim, provetas graduadas volumétricas foram acopladas a um funil e mantidas em temperatura ambiente (26 °C). Os sorvetes, armazenados a -18 °C foram imediatamente dispostos sobre a malha de 5 mm de abertura e, em seguida, acopladas ao funil. O início do derretimento e o tempo de coleta dos primeiros 10 mL do produto drenado foi registrado e, a partir de então, medições do volume coletado foram realizadas a cada 3 minutos, até que se obtivesse 10 pontos de coleta registrados. Por fim, registrou-se o tempo total que as amostras levaram para derreter completamente. A partir dos dados obtidos, foram construídos gráficos do tempo em função do volume derretido. Foi utilizada regressão linear para determinar o tempo inicial de derretimento e a velocidade de derretimento a partir da intersecção da reta com o eixo x e a inclinação da reta, respectivamente. O teste de derretimento foi realizado aos 7 e 84 dias (final da vida de prateleira) de armazenamento dos sorvetes SC, SF, SFI, e SI (Figuras 5 e 6).

Figura 5 - Amostra de sorvete sobre a malha de 5 mm.



Fonte: Autor.

Figura 6- Amostras de sorvetes durante o teste de derretimento.



Fonte: Autor.

### **3.2.8 Avaliação Sensorial do Sorvete**

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão Científica da Escola de Formação em Saúde da Família Visconde de Sabóia da Prefeitura Municipal de Sobral e pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA), localizada em Sobral-CE (Anexo 1 e Anexo 2 : Número do parecer consubstanciado: 352.805). Foram entregues e assinados pelos participantes da avaliação sensorial o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Anexo 3).

Participaram da análise 45 provadores saudáveis em cada sessão realizada no Laboratório de Análise Sensorial do LCTA da Embrapa Caprinos e Ovinos e no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE também localizado em Sobral-CE, em dois períodos de armazenamento: 7 e 84 dias após o processamento. Foram recrutados funcionários e alunos não treinados, consumidores potenciais de sorvete, na faixa etária entre 18 - 60 anos de idade.

Foram avaliadas as quatro formulações SC, SF, SI e SFI quanto aos atributos: sabor, textura e a aceitação global em cabines individuais (DUTCOSKY, 2011). As amostras foram codificadas em potes de polietileno contendo 30mL de sorvete, com 3 números aleatórios e entregues monadicamente aos provadores juntamente com a ficha de avaliação (Anexo 4). Os provadores receberam água e biscoito de água e sal para limpeza do palato entre a análise de cada amostra (Figura 7).

Figura 7- Avaliação sensorial dos sorvetes.



Fonte: Autor.

A formulação que recebeu as maiores notas, em média, no teste com consumidores não diabéticos foi selecionada para avaliação sensorial, após 7 dias do processamento, por 30 diabéticos tipo 2, entre 41 a 77 anos de idade, que assinaram o TCLE (Anexo 5). A pesquisa ocorreu na Unidade Básica de Saúde do Bairro da Coelce em Sobral-CE. Os diabéticos foram selecionados e entrevistados por meio de um questionário (Anexo 6). Os diabéticos avaliaram o sorvete através da escala hedônica de nove pontos (DUTCOSKY, 2011). Os resultados foram comparados com os adultos não diabéticos.

### **3.2.9 Análise Estatística**

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, a fim de serem verificados os pressupostos de normalidade e homogeneidade, respectivamente. Aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para as variáveis de análise sensorial, seguido do teste de Tukey para a comparação dos pares de médias dos ranks, enquanto que para as demais variáveis, utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey para comparar os pares de médias, sempre considerando o nível de 5% de significância.

O software estatístico utilizado para as análises foi o SAS 9.2 (2009).

### 3.3 Resultados e Discussões

#### 3.3.1 Análises físico-químicas

Para a definição da composição centesimal das amostras dos sorvetes de chocolate dietéticos simbióticos, de leite de cabra, foram determinados os teores de umidade, carboidratos, proteínas, lipídios totais, cinzas, sólidos totais e valor energético total. Os resultados estão expressos na tabela abaixo (Tabela 4).

Tabela 4- Composição centesimal e valor energético dos sorvetes de chocolate dietéticos de leite de cabra (média  $\pm$  desvio padrão).

Composição %	Sorvetes			
	SC	SF	SI	SFI
Umidade	66,70 $\pm$ 0,00	65,64 $\pm$ 0,24	65,52 $\pm$ 0,61	65,45 $\pm$ 0,55
Carboidratos totais**	20,90 $\pm$ 0,44	21,20 $\pm$ 0,32	21,46 $\pm$ 0,63	20,50 $\pm$ 0,25
Proteínas	5,39 $\pm$ 0,09	5,54 $\pm$ 0,34	5,61 $\pm$ 0,61	5,85 $\pm$ 0,15
Lipídios totais	5,00 $\pm$ 0,36	5,65 $\pm$ 0,20	5,43 $\pm$ 0,24	6,19 $\pm$ 0,27
Cinzas	2,01 $\pm$ 0,00	1,98 $\pm$ 0,00	1,98 $\pm$ 0,04	2,02 $\pm$ 0,03
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Sólidos totais (%)	33,40 $\pm$ 0,00	31,28 $\pm$ 0,47	31,03 $\pm$ 0,02	30,90 $\pm$ 1,09
Valor energético total (Kcal)	126,14 $\pm$ 1,79	133,81 $\pm$ 1,87	133,20 $\pm$ 1,18	137,08 $\pm$ 3,10

SC- sorvete controle- com adição de 6% de polidextrose

SF- sorvete adicionado com 6% de frutooligossacarídeos + *B. animalis subs. lactis*(Bb12)

SI- sorvete adicionado com 6% de inulina+ *B. animalis subs. lactis*(Bb12)

SFI- sorvete adicionado com 3% de frutooligossacarídeos e 3% de inulina+ *B. animalis subs. lactis*(Bb12)

Carboidratos totais \*\*: sendo que 6g do total contém polidextrose(SC), 5,59g do total correspondem a frutanos presentes em 6% de frutooligossacarídeos(FOS) com grau de pureza de 93,2% conforme a informação do fabricante – Siba Ingredientes-BIOFIS-FOS(SF), 5,4g do total correspondem a frutanos presentes em 6% de inulina com grau de pureza de 90% conforme a informação do fabricante –Siba Ingredientes-BIOFIS INULINA (SI), 2,79g do total correspondem a frutanos presentes em 6% de frutooligossacarídeos com grau de pureza de 93,2% conforme a informação do fabricante –Siba Ingredientes-BIOFIS-FOS + 2,74g do total correspondem a frutanos presentes em 6% de inulina com grau de pureza de 90% conforme a informação do fabricante –Siba Ingredientes-BIOFIS INULINA(SFI).

Fonte: Elaborado pelo autor.

O teor de carboidratos totais variou entre 20,5 a 21,46%, incluindo os teores de polidextrose no SC (6%), de inulina no SI (6%), de FOS no SF (6%), de inulina (3%), e de FOS no SFI (3%). Esses resultados foram similares ao valor encontrado por Lamounier (2012), que formulou sorvete prebiótico (5% FOS e inulina) de mangaba sem sacarose com 22,45% relativos aos carboidratos totais. O teor de proteínas e lipídeos de todas as formulações dos sorvetes dietéticos obedece ao



Regulamento técnico referente a gelados comestíveis que estabelece um teor mínimo de 3% de gorduras e 2,5% de proteínas para o sorvete (BRASIL,1999).

O alto teor de proteínas das formulações encontrado (5,39 a 5,85%) deve-se ao fato dos sorvetes serem compostos por fonte láctea rica em proteínas concentradas, que é o leite em pó desnatado de cabra. Além de aumentar os sólidos totais, as proteínas incrementam a textura e a viscosidade do produto. Os teores de proteína em sorvetes desenvolvidos com leite de cabra encontrados por Lokhande et al. (2011) e Ranadherra et al. (2013) foram inferiores aos encontrados nesse trabalho, porém, aproximados, entre 4,22 a 4,44%. Enquanto Pandiyan et al. (2012) encontraram 5,09% de proteínas em sorvetes simbióticos suplementados com proteína de soro concentrado.

Segundo a classificação internacional, o sorvete é considerado *light*, quando apresenta no mínimo 25% de redução de gorduras em relação ao sorvete convencional (IDFA, 2014). Por essa definição, os sorvetes dietéticos desse trabalho, integram essa categoria, pois variaram entre 5 a 6,2%, apresentando uma redução entre 38 - 50% de gorduras em comparação ao sorvete convencional que apresenta no mínimo com 10% de gordura do leite (PZCOLO, 2002). A redução dos lipídios nesse trabalho foi obtida com o uso de leite desnatado de cabra (líquido e em pó), tendo como única fonte de gordura o creme de leite caprino a 50% de gordura.

Os minerais estão presentes nos sorvetes em grande quantidade, devido à presença de leite, por isso os resultados em todos os sorvetes formulados foram consideráveis, variando entre 1,98 a 2,02%. Ranadherra et al.(2013) obtiveram menores valores de cinzas nos sorvetes de chocolate probióticos, entre 1,27 a 1,29%.

O teor de sólidos totais encontrado nos sorvetes ficaram na faixa entre 30,90 a 33,4%, de acordo com a literatura, que preconiza entre 28 a 40% (GOFF & HARTELL, 2013). Os valores apresentados foram satisfatórios, pois os sorvetes dietéticos sem adição de sacarose apresentam redução no teor de sólidos totais. Santos & Silva (2012), por exemplo, obtiveram menores teores de sólidos totais com sorvetes de mangaba preparados com substitutos de gordura e açúcares na faixa de 20,96 a 28,36%. As formulações com alta quantidade de sólidos totais ofertam alta qualidade nutricional ao sorvete, principalmente nos sorvetes de leite como o

desenvolvido neste trabalho logo, nossos resultados foram mais adequados (CLARKE, 2004).

Na presente pesquisa, a polidextrose adicionada no SC foi eficaz para o aumento de sólidos totais (33,4%), pois é considerada um agente de corpo, conferindo corpo e textura aos sorvetes dietéticos (GOMES et al., 2007). A inulina e os FOS também contribuíram para esse aumento de sólidos totais, além da adição do creme de leite e do leite em pó desnatado de leite de cabra, incorporado 10% desse ingrediente em todas as formulações dos sorvetes.

O valor energético dos sorvetes variou entre 126,1 a 137,8 Kcal por 100g, mas considerando-se a porção de 60g (que é a porção de sorvete, segundo ANVISA (2003) esse valor é de 66,04 a 72,65 Kcal, sendo o produto atrativo ao público diabético e contribuindo para uma menor ingestão calórica. Comparando esses valores com sorvetes de chocolate convencionais de uma das marcas líderes conhecidas no Brasil, podemos observar que o sorvete dietético de chocolate deste trabalho, é cerca de 44% menos calórico e possui melhor valor nutricional, pois contém mais proteínas e minerais (cinzas). O sorvete convencional contém mais gorduras e carboidratos, justificando o maior valor calórico (Tabela 5).

Tabela 5 - Composição em nutrientes e valor energético total (VET) obtido para as porções de 60 gramas (média  $\pm$  desvio padrão) para cada formulação do sorvete funcional, e de sorvete convencional sabor chocolate comercializado no Brasil (composição indicada na rotulagem).

Composição %	Sorvetes				
	SC	SF	SI	SFI	SCo
Carboidratos totais**	12,54 $\pm$ 0,27	12,72 $\pm$ 0,19	12,88 $\pm$ 0,38	12,30 $\pm$ 0,15	15,00
Proteínas	3,23 $\pm$ 0,05	3,32 $\pm$ 0,21	3,37 $\pm$ 0,37	3,51 $\pm$ 0,09	1,80
Lipídios totais	3,00 $\pm$ 0,21	3,39 $\pm$ 0,12	3,26 $\pm$ 0,14	3,71 $\pm$ 0,16	6,80
Cinzas	1,21 $\pm$ 0,00	1,19 $\pm$ 0,00	1,19 $\pm$ 0,02	1,21 $\pm$ 0,02	***
Valor energético total(Kcal)	66,09 $\pm$ 1,08	70,69 $\pm$ 1,11	70,32 $\pm$ 0,71	72,65 $\pm$ 1,86	129,00

Porção diária estabelecida para o sorvete, que corresponde 60g ou 130ml do produto (ANVISA,2003). Carboidratos totais\* incluindo teor de fibra alimentar total de 3,6g polidextrose (SC), 3,35g FOS (SF), 3,24g inulina (SI), 1,67g FOS + 1,62g inulina (SFI). \*\*\*- Inexistência de informação sobre cinzas nos rótulos de sorvetes comercializados no mercado nacional.

SC- sorvete controle- com adição de 6% de polidextrose

SF- sorvete adicionado com 6% de FOS (BIOFIS-FOS) + *B. animalis subs. lactis (Bb12)*

SI- sorvete adicionado com 6% de inulina+ *B. animalis subs. lactis(Bb12)*

SFI- sorvete adicionado com 3% de FOS e 3% de inulina+ *B. animalis subs. lactis (Bb12)*

SCo- sorvete de chocolate de leite de vaca convencional fabricado e comercializado no Brasil. Composição centesimal especificada no rótulo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

### 3.3.2 Parâmetros microbiológicos sanitários

Não foi detectada a presença de coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Sendo assim, os quatro sorvetes desenvolvidos apresentaram-se de acordo com os padrões legais vigentes aprovados pelo Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001).

### 3.3.3 Análises reológicas dos sorvetes: overrun, dureza instrumental (textura), teste de derretimento (melting test).

#### 3.3.3.1 Taxas de incorporação de ar (overrun)

A incorporação do ar nos sorvetes interfere no rendimento e na textura. Quanto maior o percentual resultante do *overrun*, maior o rendimento do sorvete, mais leve será sua textura e maior sua resistência ao derretimento (XINYI et al., 2010).

Nesse trabalho, as formulações adicionadas de inulina apresentaram as maiores porcentagens de *overrun*, conforme a Tabela 6. Esse prebiótico pode atuar como um substituto de gordura, melhorando a viscosidade e a incorporação de ar (ISMAIL et al., 2013).

Tabela 6. Valores de *overrun* dos sorvetes dietéticos (média  $\pm$  desvio padrão)

Sorvetes	Overrun(%)
SC	32,71 <sup>A</sup> $\pm$ 2,89
SF	32,89 <sup>A</sup> $\pm$ 3,20
SFI	40,71 <sup>A</sup> $\pm$ 8,39
SI	38,65 <sup>A</sup> $\pm$ 5,08

<sup>A</sup>letras maiúsculas sobrescritas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ).

SC: + polidextrose; - *B. animalis subs. lactisBb12*

SF: + FOS + *B. animalis subs. lactisBb12*

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

SI: + Inulina; + *B. animalis subs. lactisBb12*

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os sorvetes SC (32,71%) e SF (32,89%) apresentaram as menores taxas de incorporação de ar, quando comparadas a SFI (40,71%) e SI (38,65%), porém não houve diferença significativa entre os mesmos (Tabela 6). A polidextrose é um agente de corpo e contribui para a textura em produtos dietéticos (GOMES et al.,

2007). Os FOS tem a propriedade de baixar o ponto de congelamento de sobremesas congeladas, interferindo na otimização da textura (MIREMADI & SHAH, 2012). Quando a inulina foi acrescentada em SI e SFI, observou-se maior incorporação de ar. O *overrun* é diretamente influenciado pela viscosidade do produto (CLARKE, 2004). A inulina atua como substituto total ou parcial de gordura e agente texturizante, favorecendo a suavidade e cremosidade do produto, aumentando a percepção de corpo e qualidade sensorial, bem como a aceitação visual. Alimentos formulados com inulina apresentam melhora na estabilidade durante o congelamento e previnem a separação de fases da emulsão devido sua capacidade de imobilizar a água (MIREMADI & SHAH, 2012).

Akalin & Erisir (2008), obtiveram resultados semelhantes em formulações de sorvetes simbióticos com 4% de inulina e 4% de oligofrutose na sua composição. O *overrun* encontrado nos sorvetes adicionados de inulina foi de 50,6% e de oligofrutose foi de 31,7%, em média.

### 3.3.3.2 Dureza Instrumental (textura)

O comportamento da dureza do sorvete é influenciado pelo ponto de congelamento, a quantidade de sólidos totais, o *overrun* (%) e a quantidade dos estabilizantes utilizados para a formação do mix do produto (GOFF & HARTEL, 2013).

Conforme a Tabela 7, a dureza instrumental das formulações dos sorvetes contendo FOS e inulina (SFI) aumentou significativamente após 84 dias de armazenamento a -18 °C. O sorvete SF nos primeiros 7 dias de armazenamento apresentou textura mais macia, com medida de dureza experimental equivalente a 14,3 Kgf em média, mas após 84 dias esse valor aumentou para 29,84 Kgf em média, mesmo assim foi a formulação de menor dureza após o final do armazenamento. O SFI não diferiu significativamente do SF no início do armazenamento, mas diferiu no final do período, com maior aumento da dureza instrumental.

Da mesma forma, o SI aumentou sua dureza de 36,69 para 45,80 Kgf, em média, após 84 dias de armazenamento, não diferindo significativamente do SFI (43,62 Kgf) nesse período. A inulina tem a habilidade em se ligar com as moléculas de água e formar uma rede de gel semirrígida que promove maior dureza no

produto. A ação dos FOS é similar à da inulina, porém em menor intensidade, pois o tamanho de sua cadeia molecular é menor, sendo mais solúvel em água que a inulina (BURITI *et al.*, 2010).

Tabela 7- Valores de dureza instrumental (Kgf) para as diferentes formulações dos sorvetes dietéticos (média  $\pm$  desvio padrão) durante os períodos de armazenamento (dias) a  $-18 \pm 3$  °C.

Dias	Dureza instrumental (Kgf)			
	Sorvetes			
	SC	SF	SFI	SI
7	49,51 <sup>Aa</sup> $\pm$ 4,41	14,13 <sup>Cb</sup> $\pm$ 1,44	20,39 <sup>Cb</sup> $\pm$ 2,15	36,69 <sup>Bb</sup> $\pm$ 3,77
84	56,06 <sup>Aa</sup> $\pm$ 3,20	29,84 <sup>Ca</sup> $\pm$ 4,44	43,62 <sup>Ba</sup> $\pm$ 5,19	45,80 <sup>Ba</sup> $\pm$ 4,17

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

<sup>a,b</sup> Letras minúsculas distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos estudados de um mesmo sorvete.

SC: + polidextrose; - *B. animalis subs. lactis Bb12*

SF: + FOS; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

SI: + Inulina; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

Fonte: Elaborado pelo autor.

A formação de cristais de gelo durante o período de armazenamento a baixas temperaturas influencia no aumento da textura dos sorvetes, principalmente quando são grandes cristais de gelo. No entanto, os FOS são mais eficientes que a inulina, na manutenção dos cristais de gelo, frente ao processo de recristalização propiciado por flutuações de temperatura no armazenamento (GOFF & HARTELL, 2013).

Ahmadi *et al.* (2014) estudaram amostras de *frozen* iogurte suplementadas com 4% e 8% de FOS que apresentaram valores de dureza significativamente menores em relação às amostras controle (0% de FOS). Os resultados desse estudo corroboram com nossa pesquisa, pois o sorvete controle (SC) demonstrou maior dureza instrumental, comparada a todas as outras formulações e aos 84 dias de armazenamento apresentou diferenças significativas superiores em relação às outras três formulações ( $p < 0,05$ ).

A polidextrose é um polissacarídeo de nível médio de polimerização maior que a inulina (DP = 12) e possui as mesmas propriedades de ligar-se à água e aumentar a viscosidade, formando géis semirrígidos, interferindo no aumento da dureza instrumental (BURITI *et al.*, 2010). Segundo Clarke (2004), os polissacarídeos aumentam a viscosidade dos sorvetes e conseqüentemente a textura.

Pesquisas com sorvetes contendo inulina em sua composição corroboram com os resultados obtidos nesse trabalho. Paula (2012) elaborou sorvetes

simbióticos de leite de cabra com polpa de cajá contendo 5% de inulina, na qual observou que a dureza instrumental comparada aos sorvetes sem inulina foram significativamente superiores. Sousa (2013) desenvolveu formulações de sorvetes simbióticos *light* sabor graviola com 6% de inulina, e após 112 dias de armazenamento os valores de firmeza aumentaram em maior quantidade para todas as formulações contendo inulina.

De acordo com esses resultados encontrados, referentes à dureza instrumental das quatro formulações elaboradas do sorvete, o SF foi o que apresentou melhor textura, favorecendo na maciez do produto.

### 3.3.3.3 Teste de derretimento (*melting test*)

O teste de derretimento do sorvete é tido como um dos parâmetros de qualidade do produto, pois reflete na percepção global do consumidor em sua aparência (GOFF, 2005).

Durante o derretimento, dois eventos principais acontecem: o derretimento dos cristais de gelo e o colapso da estrutura espumosa lipídica estabilizada (GOFF, 2005). O fenômeno do derretimento é influenciado por vários fatores, entre eles a taxa de incorporação de ar ou *overrun* (SOFJAN & HARTEL, 2004), as interações lipídicas e a cristalização da gordura (GRANGER et al., 2005), tipo e concentração de emulsificante, além do diâmetro dos glóbulos de gordura ((BOLLIGER et al., 2000).

Observando a Tabela 8, as maiores médias de velocidade de derretimento nos primeiros 7 dias de armazenamento foram as formulações SI e SF, apresentando médias de 2,06 e 1,91 mL/min, respectivamente.

Tabela 8 - Velocidade de derretimento (mL/min) dos sorvetes dietéticos durante os períodos de armazenamento (dias) a  $-18 \pm 3$  °C (média  $\pm$  desvio padrão).

Dias	Velocidade de derretimento (mL/min)			
	Sorvetes			
	SC	SF	SFI	SI
7	1,84 <sup>BCa</sup> $\pm$ 0,02	1,91 <sup>ABa</sup> $\pm$ 0,06	1,71 <sup>Cb</sup> $\pm$ 0,12	2,06 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,05
84	1,89 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,09	1,96 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,05	2,02 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,23	1,98 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,11

<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sorvetes estudados no mesmo período de armazenamento.

<sup>a,b</sup> Letras minúsculas distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes períodos estudados de um mesmo sorvete.

SC: + polidextrose; - *B. animalis subs. lactis*Bb12

SF: + FOS; + *B. animalis subs. lactis*Bb12

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subs. lactis* Bb12

SI: + Inulina; + *B. animalis subs. lactis*Bb12

Fonte: Elaborado pelo autor.

A formulação SFI no início do tempo de armazenamento a -18 °C apresentou a menor média de velocidade de derretimento: 1,71mL/min, provavelmente influenciada pelo maior percentual do *overrun* em relação as outras formulações, pois quanto maior o *overrun*, maior a resistência ao derretimento. No entanto, não apresentou diferença significativa em relação ao sorvete controle (SC). Após os 84 dias de armazenamento a amostra SFI modificou seu perfil de derretimento aumentando sua velocidade.

Todas as formulações aumentaram a velocidade de derretimento durante o armazenamento, com exceção do SI que manteve o mesmo perfil, todavia não apresentaram diferenças significativas em relação aos períodos de armazenamento.

Vale ressaltar que as quatro formulações apenas variaram quanto ao tipo de prebiótico adicionado e a presença de probióticos, sendo semelhantes quanto ao valor nutricional: tipo e teor de gorduras, *overrun* ( $p>0,05$ ) e percentual de emulsificante, por isso resultaram em comportamento similar quanto à taxa de derretimento, logo, os prebióticos não interferiram nos resultados.

Os resultados desse trabalho corroboram com Correia et al., 2008, que compararam o tempo de derretimento entre sorvetes convencionais de goiaba a base de leite de cabra com sorvetes produzidos com leite de vaca. Os resultados obtidos foram que a velocidade de derretimento do sorvete de leite de cabra foi maior com 2,03 mL/min, enquanto o sorvete de leite de vaca foi de 1,69 mL/min. Segundo esses pesquisadores, a explicação para tal ocorrido deve-se ao fato do sorvete com leite de cabras possuir estrutura mais suave, devido ao menor tamanho dos glóbulos de gordura.

Paula (2012) verificou o perfil do derretimento dos sorvetes de leite de cabra probióticos e simbióticos adicionados com 5% inulina e observou que as formulações com inulina apresentaram maior velocidade de derretimento, porém sem diferença significativa.

Enquanto Ismail et al. (2013), ao desenvolver sorvetes de baunilha adicionados de inulina observaram que a inulina reduziu o tempo de derretimento de forma significativa em maior quantidade (5%), comparada com 2,5%.

O perfil de derretimento das quatro formulações provavelmente foram mais afetados pelo tamanho dos glóbulos de gordura do leite de cabra do que pelos prebióticos no presente trabalho.

### 3.3.4 Avaliação Sensorial dos sorvetes

Conforme a Tabela 9, observa-se que a formulação SFI obteve melhor aceitação global com a média de 7,47 nos primeiros 7 dias de armazenamento. Mas no período final do armazenamento estudado, a formulação SF obteve maior nota quanto à aceitação global, de 6,98 em média. Apesar da cor não ter sido um atributo avaliado, mas alguns provadores reportaram como agradável a cor mais escura de chocolate que os FOS proporcionaram. Entretanto, a mesma formulação SF no início do armazenamento, obteve menores notas médias para todos os atributos sensoriais, mas dentro da margem de aceitação do gostei ligeiramente a gostei moderadamente (notas entre 6 a 7).

Tabela 9- Resultados do teste de aceitação sensorial realizados nos sorvetes durante 7 e 84 dias de armazenamento a  $-18\pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Tratamento	Tempo (dias)	Textura	Sabor	Aceitação Global
SC	7	7,47 <sup>AB</sup> ± 1,24	7,02 <sup>A</sup> ± 1,66	7,00 <sup>AB</sup> ± 1,60
	84	6,22 <sup>C</sup> ± 1,94	5,76 <sup>B</sup> ± 1,90	5,89 <sup>B</sup> ± 1,85
SF	7	7,44 <sup>AB</sup> ± 1,31	6,60 <sup>AB</sup> ± 1,83	6,78 <sup>AB</sup> ± 1,54
	84	7,24 <sup>BC</sup> ± 1,43	6,51 <sup>AB</sup> ± 1,96	6,98 <sup>A</sup> ± 1,66
SFI	7	7,62 <sup>AB</sup> ± 1,19	7,22 <sup>A</sup> ± 1,41	7,47 <sup>A</sup> ± 1,27
	84	7,02 <sup>BC</sup> ± 1,42	6,38 <sup>AB</sup> ± 1,87	6,62 <sup>AB</sup> ± 1,61
SI	7	8,11 <sup>A</sup> ± 0,83	7,27 <sup>A</sup> ± 1,56	7,44 <sup>A</sup> ± 1,41
	84	7,22 <sup>BC</sup> ± 1,55	6,67 <sup>AB</sup> ± 1,78	6,80 <sup>AB</sup> ± 1,69

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas iguais, na mesma coluna, não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey para os ranks médios das variáveis.

SC: + polidextrose; - *B. animalis subs. lactis Bb12*

SF: + FOS; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

SI: + Inulina; + *B. animalis subs. lactis Bb12*

Fonte: Elaborado pelo autor.

Houve redução das médias das notas após os 84 dias nas formulações SC, SI e SFI, porém sem diferença significativa, com exceção da formulação SC que apresentou a menor média de aceitação após os 84 dias de armazenamento.



Em relação aos atributos sensoriais de textura e sabor, a formulação SI foi a que obteve notas superiores de 8,11 e 7,27 respectivamente, no início do armazenamento. A inulina promove melhora na cremosidade do produto lácteo, pois forma microcristais quando se liga ao leite, proporcionando maciez na boca, semelhante à gordura. No entanto, conforme se prolonga a estocagem, forma géis semirrígidos quando se liga a água promovendo maior dureza ao produto. As notas após os 90 dias foram menores, possivelmente ocasionadas por essa propriedade reológica, confirmada pelo aumento da dureza instrumental. Mesmo assim, as notas permaneceram na faixa de boa aceitação com médias entre 6 e 7.

Da mesma forma, a formulação SFI obteve boa aceitação quanto a textura e sabor, com notas acima de 7,0 nos primeiros 15 dias de armazenamento, não apresentando diferença significativa com o SI.

A textura na formulação SC após os 90 dias de armazenamento apresentou diferença significativa, obtendo menores notas em relação ao período inicial. Esse resultado corrobora com dados da dureza instrumental, que após 84 dias de armazenamento aumentou sua firmeza, ou seja, a formulação ficou menos macia, de textura mais rígida, não agradável ao paladar. O atributo sabor da formulação SC após os 90 dias não obteve boa aceitação sensorial, diferindo do início do armazenamento, quando obteve notas médias acima de 7,0. A textura pode ter interferido nesse atributo por causa da formação dos cristais de gelo e da polidextrose ser um polissacarídeo que aumenta a viscosidade e, conseqüentemente, a textura (CLARKE, 2004).

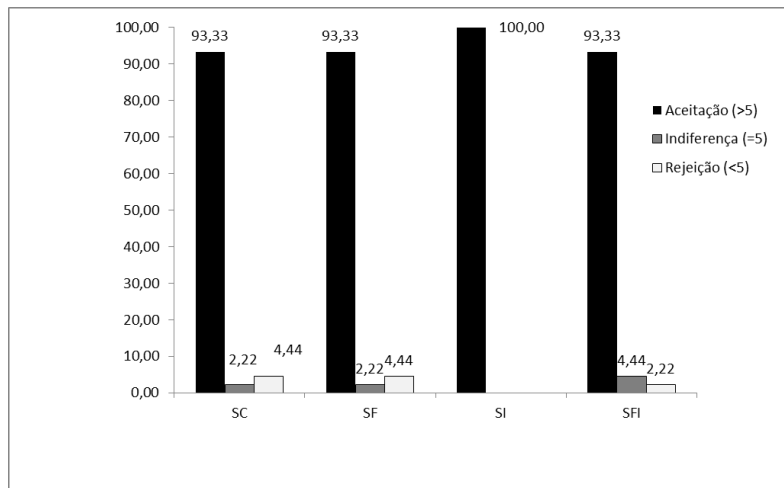
A inulina, os FOS e a polidextrose foram bons agentes texturizantes para os sorvetes dietéticos, substituindo o açúcar, porém foram mais eficazes nos primeiros dias de armazenamento.

Para cada período de armazenamento avaliado (7 e 84 dias) os resultados da aceitação sensorial foram apresentados quanto à porcentagem de aceitação (notas de 6 a 9), indiferença (notas = 5) e rejeição (notas de 1 a 4) das quatro formulações de sorvetes em relação a textura, sabor e aceitação global (Figuras 8, 9 e 10)

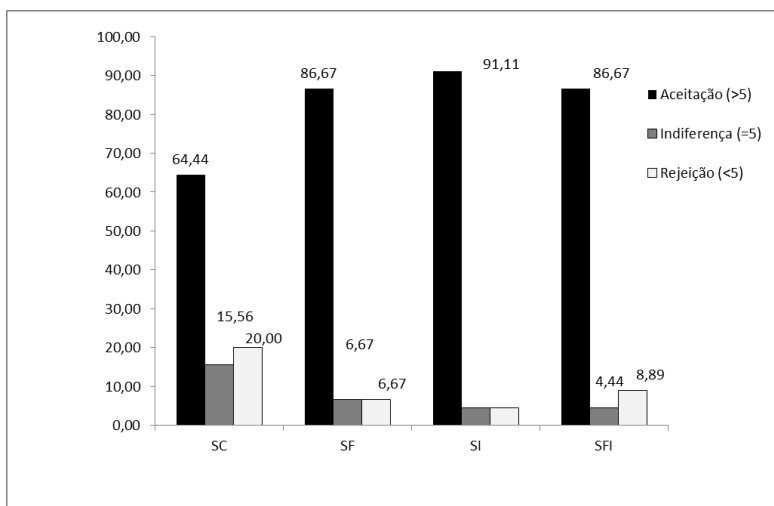
Para a textura durante os 7 dias de armazenamento a -18 °C, a formulação aprovada 100% foi a SI, que recebeu notas maiores que 5, no entanto após os 90 dias de armazenamento houve 4,44% de rejeição, explicado pelo fato da inulina interferir na dureza instrumental conforme comentado acima. Todas as outras formulações obtiveram resultados de 93,33% de aceitação em relação a textura nos

primeiros 7 dias e diminuiram sua aceitação com o armazenamento, sendo o SC com 64,44% de aceitação (Figura 9 a ; 9 b).

Figura 8 – Aceitação sensorial dos sorvetes dietéticos em relação ao atributo textura.



(a)



(b)

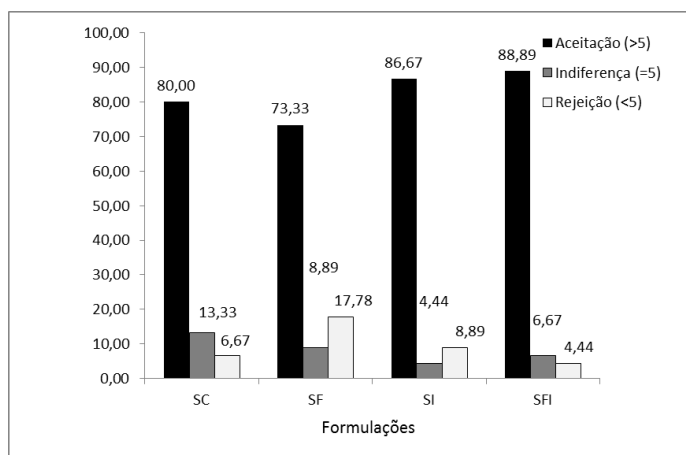
(a) - Porcentagem média de aprovação, indiferença e rejeição em relação à textura dos sorvetes com 7 dias de armazenamento a -18 °C;

(b) - Porcentagem média de aprovação, indiferença e rejeição em relação à textura dos sorvetes com 84 dias de armazenamento a -18 °C.

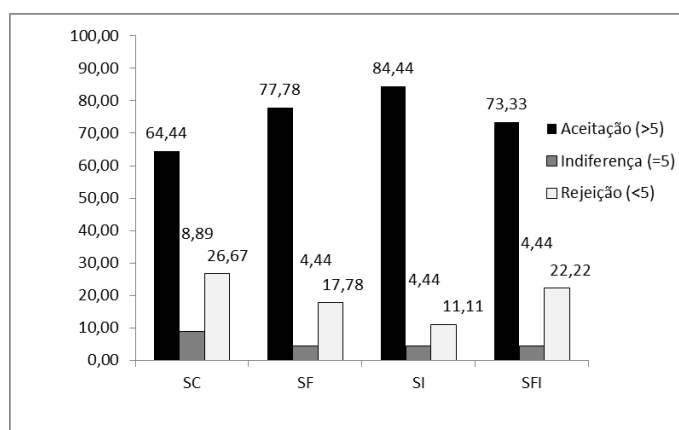
Fonte: Elaborado pelo autor.

A formulação SFI obteve melhor aceitação de 88,89% quanto ao quesito sabor, em seguida a SI nos primeiros 7 dias de armazenamento, porém aos 90 dias de armazenamento sua aceitação reduziu para 73,33%, ficando com a SI a melhor aceitação (84,44%), em seguida o SF (77,8%).

Figura 9 – Aceitação sensorial dos sorvetes dietéticos em relação ao atributo sabor.



(a)



(b)

(a) - Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição em relação ao sabor dos sorvetes com 7 dias de armazenamento a -18 °C;

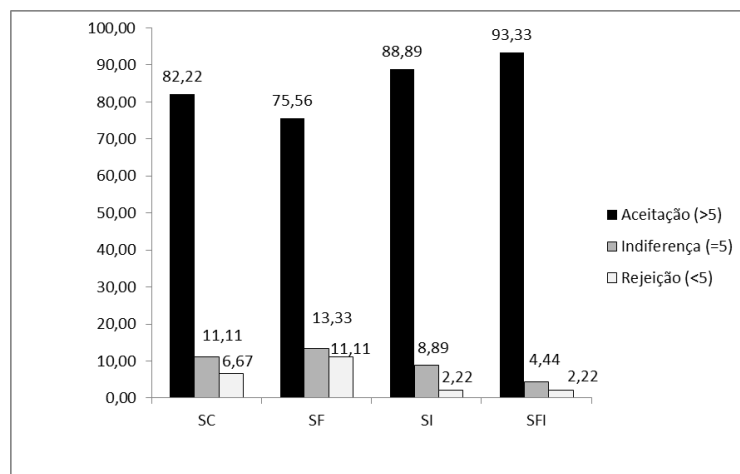
(b) - Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição em relação ao sabor dos sorvetes com 84 dias de armazenamento a -18 °C.

Fonte: Elaborado pelo autor.

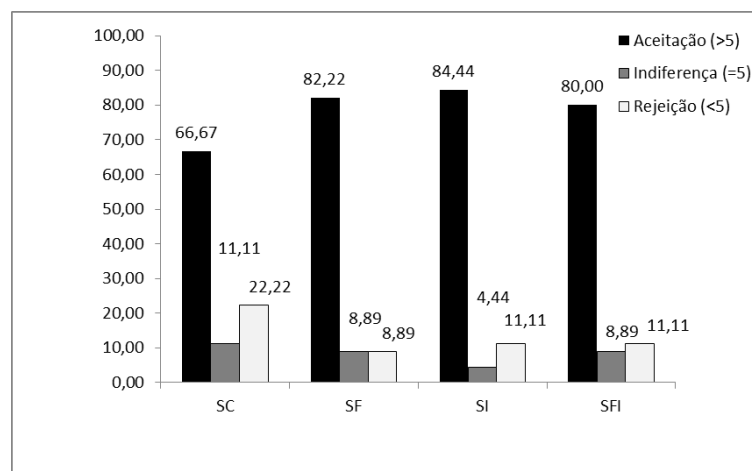
A aceitação global de maior aprovação foi a formulação SFI com 93,33%, porém baixou para 80% no final do tempo de armazenamento estudado, onde a formulação SI obteve melhor aceitação nesse período de 84,44%. A formulação SC obteve menores notas após os 84 dias de armazenamento em todos os atributos

sensoriais. Mas vale ressaltar, que nos primeiros dias de armazenamento, todas as formulações apresentaram boa aceitação a partir de 73,33%.

Figura 10 – Aceitação sensorial dos sorvetes dietéticos em relação ao aspecto global.



(a)



(b)

(a) - Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição em relação a aceitação global dos sorvetes com 7 dias de armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ ; (b) - Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição em relação a aceitação global dos sorvetes com 84 dias de armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Fonte: Elaborado pelo autor.

A formulação SI foi a mais bem aceita em todos os atributos sensoriais após os 84 dias de armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$  e 100% aprovada em relação a textura nos

primeiros 7 dias de armazenamento. Logo, foi selecionada dentre as outras formulações para ser realizada a análise sensorial com os provadores diabéticos.

### 3.3.4.1 Avaliação sensorial pelo painel de diabéticos

Dos 50 diabéticos recrutados, 46 foram entrevistados na Unidade Básica de Saúde – Coelce de Sobral-Ce e 4 na Embrapa Caprinos e Ovinos de Sobral-Ce, 30 aceitaram participar da avaliação sensorial.

Os resultados da entrevista, que interferem na avaliação sensorial, estão apresentados nas Tabelas 10, 11 e 12.

Tabela 10 – Sexo, idade e respostas percentuais dos hábitos alimentares dos provadores quanto ao uso de leite de cabras e consumo de sorvetes (%).

	Masculino	Feminino	
Sexo	33	67	
Faixa etária (anos)	41 a 60	61 a 78	
Idade	47	53	
Respostas	Sim	Não	Não sei
Aceitação ao leite de cabras	54	33	13
Intolerância à lactose	10	90	-
Aceitação de sorvete	90	10	-
Hábito consumo sorvete dietético	10	90	-
Uso diário de adoçante	77	23	-

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 11 – Grau de escolaridade dos provadores diabéticos expresso em percentuais.

Grau de escolaridade	%
Analfabeto	27
1º grau incompleto	30
1º grau completo	13
2º grau incompleto	6
2º grau completo	7
Superior completo	7
Pós-graduação	10

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 12 – Distribuição percentual da renda familiar dos provadores diabéticos.

Salário mínimo	%
< 1,0	13
1,0	54
2,0 a 4,0	10
4,1 a 7,0	10
> 7,1	13

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com a Tabela 10, a maioria dos provadores são do sexo feminino, comparados ao sexo masculino. Mais da metade dos provadores diabéticos estão na faixa de idosos, acima de 60 anos. A outra parte dos provadores são adultos na

faixa entre 41 a 60 anos, corroborando com os dados da literatura que os pacientes diabéticos tipo 2 desenvolvem a doença geralmente a partir dessa idade, com maior prevalência em idosos (BRASIL, 2013). Quanto à aceitação do leite de cabras pelos consumidores diabéticos, mais da metade afirma que gosta de leite de cabras, porém 13% dos provadores afirmam nunca terem consumido esse tipo de leite. Esse resultado reflete na aceitação do sorvete, principalmente evitando rejeições preconcebidas.

Para realizar a análise sensorial com o produto rico em lactose, foi necessário certificar-se que os consumidores não tivessem intolerância à lactose para não causar problemas gastrointestinais após seu consumo. A maioria relatou não ter essa deficiência enzimática, porém 10% da população estudada relatou ter um leve desconforto intestinal ao ingerir o leite, mas quando consumido em grande quantidade, por isso não foram descartadas da análise. A população estudada respondeu em sua maioria, que gosta de sorvete de chocolate, mas não tem o hábito de consumir sorvete dietético. Somente 10% afirma consumir sorvete dietético do mercado. Essa aceitação do sorvete de chocolate favorece a análise sensorial, já que o produto é a base de cacau. O resultado referente ao uso de adoçantes é positivo, pois a maioria já faz uso diário do produto (Figura 10).

Segundo os dados da Tabela 11, observa-se que há um elevado percentual de sujeitos com baixo nível de escolaridade entre os diabéticos, destacando-se os analfabetos e nível de 1º grau, somando 70% da população estudada, resultados similares a literatura, confirmando a relação entre escolaridade inferior a 12 anos e maior prevalência de diabetes tipo 2 (BRASIL, 2013).

A Tabela 12 apresenta a média de renda dos provadores, refletida como consequência do nível de escolaridade, somando-se 67% também de baixo poder aquisitivo, com renda entre 0,5 a 1 salário mínimo.

A Tabela 13 demonstra que o atributo sensorial de melhor aceitação foi a textura. A inulina conferiu cremosidade e maciez ao sorvete e ambos provadores apreciaram o atributo. Apesar da aceitação ter sido positiva em ambos os grupos de provadores, a média das notas do sabor no grupo dos diabéticos foi maior, provavelmente em função do hábito dessa população consumir adoçantes dessa população. Na aceitação global também as notas médias foram superiores entre os diabéticos, já que a maioria dos participantes afirmou gostar de leite de cabra,

mesmo comentando que o sorvete não tinha sabor, nem cheiro de leite caprino. Geralmente o leite de cabras tem sabor e odor pronunciado muito peculiar que não é apreciado pela maioria dos consumidores, característica associada ao tipo de gorduras presentes no leite. Os constituintes responsáveis são os ácidos graxos de cadeia curta: butírico, cáprico, caprílico e capróico, mas nesse trabalho o leite usado para a produção do sorvete foi desnatado e o cacau sem adição de açúcar proporcionou um sabor forte, ajudando a mascarar essas características peculiares.

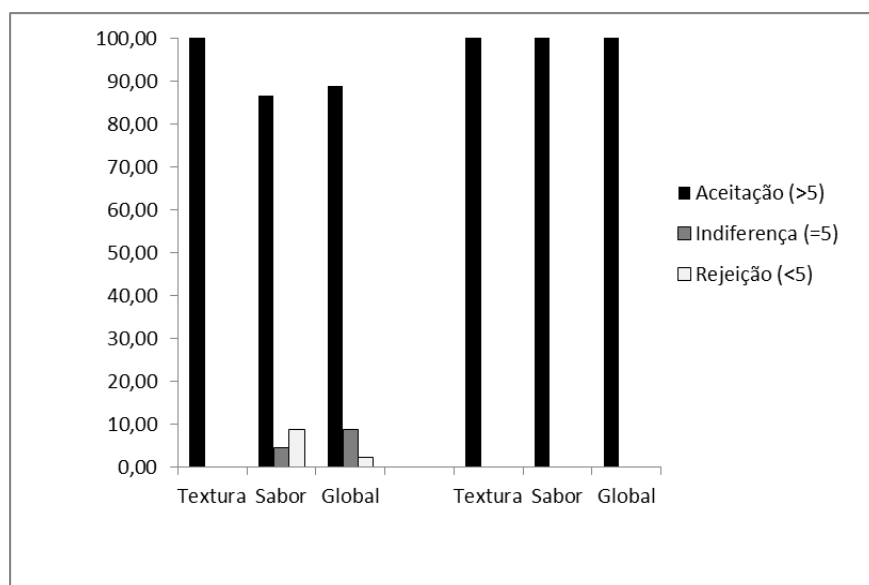
Tabela 13- Média das notas atribuídas da análise sensorial do sorvete com inulina a 6%+Bb12 (SI) por provadores diabéticos e não diabéticos.

Tratamento	Tempo (dias)	Textura	Sabor	Aceitação Global
Sorvete com Inulina(6%) + Bb12 Diabéticos	7	8,66 ± 0,66	8,53 ± 0,73	8,53 ± 0,90
Sorvete com Inulina(6%) + Bb12 Não Diabéticos	7	8,11 ± 0,83	7,27 ± 1,56	7,44 ± 1,41

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 11, o percentual de notas atribuídas a todos os atributos sensoriais do nível de aprovação, indiferença e rejeição confirma que o grupo de diabéticos aceitou 100% o sorvete SI, ou seja, nenhuma nota inferior a 7 foi atribuída ao mesmo, resultado em médias de notas excelentes, na faixa de gostei muito a gostei muitíssimo. A textura foi o atributo sensorial aceito 100% pelo grupo dos não diabéticos, já o atributo que obteve maior rejeição nesse grupo foi o sabor com 4,44%, provavelmente em função da sucralose, que mesmo sendo um adoçante com baixo sabor residual, quando não consumida diariamente é percebida pelo consumidor.

Figura 11 - Porcentagem de aprovação, indiferença e rejeição em relação a aceitação global dos sorvetes com 15 dias de armazenamento a -18°C pelo grupo dos não diabéticos e diabéticos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

### 3.4.CONCLUSÕES

O uso de inulina e FOS na formulação de sorvetes dietéticos simbióticos de leite de cabra sabor chocolate demonstrou o potencial desses ingredientes prebióticos como agentes texturizantes.

Os sorvetes formulados, configuraram a classificação internacional “light” por apresentarem redução de gorduras acima de 38%, alto teor protéico, de cinzas, e sólidos totais dentro do recomendado pela literatura. O valor energético e os carboidratos totais mostraram-se atrativos ao público diabético contribuindo para menor ingestão calórica, quando comparados aos sorvetes de chocolate convencionais.

As formulações com inulina (SI) e com FOS e inulina (SFI) obtiveram valores significativamente maiores de dureza instrumental ( $p < 0,05$ ), maior resistência ao



derretimento ( $p > 0,05$ ) e maiores valores de *overrun* ( $p > 0,05$ ) em comparação a SF.

A formulação SI obteve maiores valores médios de notas ( $p > 0,05\%$ ) em todos os atributos sensoriais após os 84 dias de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  e aprovada em relação a textura nos primeiros 7 dias de armazenamento, por isso foi selecionada para a análise sensorial entre diabéticos.

A inulina teve efeito positivo principalmente no atributo textura, resultando em notas elevadas e 100% de aceitação pelos provadores diabéticos.

Os sorvetes dietéticos funcionais desenvolvidos a base de leite de cabra, adicionados de frutanos e do probiótico *B. animalis* (Bb12), podem contribuir para uma maior adequação da dieta de diabéticos, com boa aceitação sensorial.

### 3.5. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2003. Resolução RDC nº 267, de 25 de setembro de 2003. "Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis." Disponível em : < [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br) > Acesso em: 5 de set. 2014.

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2005 – Resolução RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. "Regulamento Técnico para gelados comestíveis". Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm>>. Acesso em: 10 de ag. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.** Brasília, 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 24 de mar. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001.** A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 30 de ag. 2014.

AHMADI, A. et al. Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated lactobacillus acidophilus(la-5) and fructooligosaccharide. **Journal Food Science Technology**, v.51, n.8, p. 1568-1574, 2014.

AKALIN, A.S. et al. Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of starter culture in reduced probiotic yogurt during storage. **Journal of Food Science**, v.72, p.222 – 227, 2007.

AKALIN, A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofrutose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v.73, p.1840 - 188, 2008.

ANDREWS, W.H. et al. *Salmonella*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: APHA, 2001. p.357-380.

BLIGH, E.G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.1. n. 37, p.911-917, 1959.

BOLLIGER, S.; GOFF, H.; THARP, B. Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 04, p. 303-309, 2000.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : diabetes mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 160 p.: il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36).

BRASIL. Regulamento técnico referente a gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 abr. 1999. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/379\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/379_99.htm)>. Acesso em: 09 de out. 2013.

BURCELIN, R. et al. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. **Acta Diabetology**, v.48, p. 257-273, 2011.

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, n.2/3, p.121-129, 2010.

CAPRILES, V.D.; SILVA, K.E; FISBERG, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v.4, n. 6, p.327-335, 2005.

CLARKE, C. **The Science of ice cream**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.

CORREIA, R.T.P. et al. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, 2008.

CRUZ, A.G. et al. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, v.42 n.9, p. 1233–1239, 2009.

CRUZ, A.G. et al. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359-388.

DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2011. 123p.

EL-NAGAR 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 EXPERT CONSULTATION. **Carbohydrates in human nutrition**. GENEVA: Food and Agriculture Organization, World Health Organization, 1998. 143p.

FAO/WHO- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>. Acesso em 17 jan. 2014.

GOFF, H. D. **Structure of ice cream**: Dairy Science and Technology website. Disponível em: <[http:// www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html](http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html)>. Acesso em: 12 de dez. 2013.

GOFF, H.D.; HARTEL, R.W. **Ice cream**. 7ed.; New York, Springer, 462p, 2013.

GOMES, C.R. et al. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 27(3): 614-623, jul.-set. 2007.

GRANGER, C. et al. Influence of formulation on the structural networks in ice cream. **International Dairy Journal**, v.15, p. 255–262, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ . **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4 ed. Brasília – DF: 2005. v.1.

INTERNATIONAL DAIRY FOODS ASSOCIATION- IDFA. **Ice cream labeling**. Disponível em:< [http:// www.idfa.org/news--views/ media-kits/icecream/ice-cream-labeling/](http://www.idfa.org/news--views/media-kits/icecream/ice-cream-labeling/)>. Acesso em: 20 de jul. 2014.

ISMAIL, E.A.; AL-SALEH, A. A.; METWALL. Effect of Inulin Supplementation on Rheological Properties of Low-Fat Ice Cream. **Life Science Journal**, v.10, n.3, 2013.

JUNGERSEN, M. et al. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. **Microorganisms**, v.2, p. 92-110, 2014.

LAMOUNIER, M.L. Sorvete a base de preparado em pó., 2012.103p. **Dissertação de Mestrado em Ciências**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

LOKHANDE, A.T. et al. Goat Milk Ice Cream: A Value Added Milk Product for Livelihood. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**. Disponível em:< <http://www.cibtech.org/jls.htm> >V. 1, n.2, p. 170-172, 2011. Acesso em: 23 de maio 2014.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MARSHALL, R.T., GOFF, H.D., HARTEL, R.W., 2003. **Ice Cream**. SPRINGER, NEW YORK.

MIREMADI, F. & SHAH, N.P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. **International Food Research**, v. 19, n. 4, pg. 1337-1350, 2012.

ORDONEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. v.2. Artmed. 2005, 280p.

NAIR K. K.; KHARBS; THOMPKISON, D.K. Inulin dietary fiber with funcional and health atributes- a review. **Food Reviews International**, London, v. 26, n. 2, p.189 - 203, 2010.

PANDIYAN, C. et al. Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic ice cream. **International Food Research Journal** , v.19, n.4, p.1729-1732 , 2012.

PAULA, C.M. **Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)**. São Paulo, 2012. 84p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

PAULA, C.M. et al. **Processamento de creme de leite de cabra padronizado pasteurizado**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p. (Embrapa Caprinos e Ovinos - Comunicado Técnico, n.124).

PSZCZOLO, D.E. "31 ingredients developments for frozen desserts." **Food Technology**, v.56, p.46-65, 2002.

RANADHEERA, C.S. et al. Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. **Small Ruminant Research** 112; p. 174 - 180, 2013. Disponível em: <[journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://journal.homepage:www.elsevier.com/locate/smallrumres)>. Acesso em 30 de mar. 2014.

SANTOS, G. G.; SILVA, M.R. Mangaba (*Hancornia speciosa Gomez*) ice cream prepared with fat replacers and sugar substitutes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.32, p.621-628, 2012.

SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v.89, p.110-124, 2010.

SOFJAN, R.P., HARTEL, R.W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. **International Dairy Journal**, v.14, n.3, p. 255–262, 2004.

SOLER, M. P.; VEIGA, P. G. **Sorvetes**. Campinas: ITAL/CIAL, 2001.

SOUSA, G. L. Desenvolvimento de sorvete simbiótico de graviola(*Annona muricata* L.) com teor reduzido de gordura e avaliação da resistência gastrointestinal dos probióticos in vitro. Graziela Leal Sousa. São Paulo.138p. **Tese (Doutorado)**. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica, 2013.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS Institute Inc. 2009. SAS OnlineDoc. 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc

THARP, B. W, et al. **Ampliando o perfil nutricional do sorvete**. Disponível em: <[www.insumos.com.br/sorvetes\\_e\\_casquinhas/materias/85.pdf](http://www.insumos.com.br/sorvetes_e_casquinhas/materias/85.pdf)>. Acesso em: 16 maio de 2012. 2009.

WOOD, J. M. **Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients substituted for sugar**. (2011). Nutrition & Health Sciences. Dissertations & Theses. Paper 18. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/nutritiondiss/18s>>. Acesso: 10 de out. 2012.

XINY I,E.; PEI, Z.J.; SCHMIDT,K. Ice cream foam formation an stabilization : a review. **Food Reviews International**, v.26, p.122-137, 2010.

#### 4. CAPÍTULO 3 - SOBREVIVÊNCIA DE BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS (BB12) EM SORVETE DIETÉTICO SIMBIÓTICO DE LEITE CABRA, DURANTE SEU ARMAZENAMENTO E QUANDO SUBMETIDO ÀS CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS IN VITRO.

##### RESUMO

A habilidade dos probióticos sobreviverem em sorvetes durante seu armazenamento e no trato gastrointestinal, varia de acordo com as espécies e a cepa. Estudos realizados *in vitro*, apontam o *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12) como um probiótico resistente aos sucos gástricos e entéricos simulados, principalmente na presença da inulina e ou de frutooligossacarídeos (FOS). O objetivo deste estudo foi avaliar a viabilidade da Bb12 em três formulações de sorvete dietético de leite de cabra potencialmente simbióticos, verificar se houve alteração do pH durante o armazenamento e estudar a sobrevivência da Bb12 em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. A viabilidade do probiótico e o pH foram avaliados aos 0, 1, 14, 28, 56 e 84 dias após o processamento do sorvete adicionado com 6% de frutooligossacarídeos (SF), sorvete adicionado de 6% inulina (SI), e sorvete adicionado de 3% FOS e 3% inulina (SFI) através de contagens em meio MSR-LP. O ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes às condições gastrintestinais simuladas *in vitro* foi realizado no período de 15 e 84 dias. A população de Bb12 nos sorvetes manteve-se superior a 8 log UFC/g durante todo o período de estocagem estudado e o pH de ambos sorvetes manteve-se em torno de 6,0. A inulina e o FOS contribuíram para a sobrevivência *in vitro*, com destaque para o FOS elevando os índices finais da Bb12 após as 6h em exposição aos sucos entéricos, a formulação SF atingiu log acima de 6,0. Os sorvetes desenvolvidos mostraram-se bons veículos para a Bb12, atendendo à legislação brasileira e Federação Internacional de Laticínios para produtos probióticos e apresentaram habilidade de resistência *in vitro* às condições gastrointestinais simuladas.

Palavras-chaves: Frutooligossacarídeos, inulina, probióticos, pH.

##### ABSTRACT

The probiotic ability to survive in ice-creams during their storage and in the gastrointestinal tract varies according to the species and the strain. Studies realized *in vitro* show that *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12) as a probiotic resists to simulated gastric and enteric juices, especially in the presence of inulin and/or of fructooligosaccharides (FOS). The objectives of this work were to evaluate the Bb12 viability in three potentially symbiot diet goat milk ice-creams, to verify if there was any pH changes during their storage and to study the Bb12 survival in simulated *in vitro* gastrointestinal conditions. The probiotic viability and the pH level were evaluated on the 0, 1<sup>st</sup>, 14<sup>th</sup>, 28<sup>th</sup>, 56<sup>th</sup> and 84<sup>th</sup> days after the processing of the ice-cream which was added with 6% fructooligosaccharides (SF), the ice-cream added

with 6% of inulin (SI), and the ice-cream added of 3% FOS and 3% inulin (SFI) through the MSR-LP environment counting. The micro-organism incorporation to the ice-cream survival trial in the simulated gastrointestinal conditions was done during the period of 15 and 84 days. The Bb12 population in the ice-cream maintained itself at 8 log UFC/g during the whole storage studied period and the pH level of both ice-creams maintained themselves at about 6,0. The inulin and the FOS contributed to the survival *in vitro*, especially to the FOS elevating its final Bb12 levels after 6h of exposure to the enteric juices when the formulation SF reached its log of over 6,0. The developed ice-creams showed to be good vehicles to the Bb12, following the Brazilian legislation and International Dairy Federation rules to probiotic products and showed the ability to resist to simulated *in vitro* gastrointestinal conditions.

Key-words: fructooligosaccharides, inulin, probiotics, pH.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de produtos lácteos probióticos na indústria de laticínios é uma prioridade nos dias atuais, pois agregam alegações funcionais favoráveis a saúde do consumidor. O mercado atual busca inovação e a elaboração de sorvetes dietéticos com adição de culturas probióticas e ingredientes prebióticos pode ampliar as opções de alimentos funcionais para um público carente com restrição de açúcares (KARTHIKEYAN et al., 2013).

O sorvete é considerado um veículo adequado para as culturas probióticas, pois sua composição nutricional contém proteínas do leite, gorduras e lactose. O pH próximo da neutralidade também favorece a satisfatória sobrevivência dos microrganismos durante seu armazenamento (SAAD et al., 2011). Por ser um produto congelado, o sorvete é mais estável comparado aos refrigerados, como os iogurtes e leites fermentados, garantindo a maior taxa de sobrevivência dos probióticos (CRUZ et al., 2011).

Dentre os micro-organismos probióticos mais estudados estão os *Bifidobacterium animalis* (Bb12), nos quais quando consumidos em quantidades adequadas, promovem o equilíbrio da microbiota intestinal, aumentam a imunidade, com a produção de IgA, previnem o câncer do cólon, diminuem a intolerância à lactose e os níveis de colesterol sanguíneo e controlam os níveis de glicose sanguínea em diabéticos (BAROUTKOUB et al., 2010; KABEERDOSS et al., 2011; EJTAHED et al., 2011; MADUREIRA et al., 2011).

O valor terapêutico do probiótico depende das viabilidades das bactérias no momento de seu consumo. Segundo a legislação brasileira é considerado alimento probiótico quando a quantidade de suas células viáveis estiver no mínimo entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g por porção (ANVISA, 2008). Por outro lado, a legislação da Federação Internacional de Laticínios (IDF) preconiza como mínimo de  $10^7$  UFC/g (KARTHIKEYAN et al., 2013).

Os testes de resistência gastrointestinais simulados *in vitro* apresentam-se como uma excelente ferramenta para a avaliação da ação protetora do alimento na sobrevivência das cepas probióticas aos sucos gastrointestinais (SANDERS; MARCO, 2010; SCHILLINGER; GUIGAS; HOLZAPHEL, 2005).

A habilidade da bactéria probiótica em sobreviver no trato gastrointestinal varia de acordo com as espécies e sua cepa. Em adição, as propriedades funcionais desse probiótico podem ser afetadas pela matriz do alimento, porém a capacidade tampão do sorvete e os prebióticos podem ajudar em aumentar a viabilidade dos probióticos durante o trânsito gastrointestinal (RANAADHERRA et al., 2012).

A estratégia de combinar micro-organismos probióticos com ingredientes prebióticos, os chamados simbióticos, em produtos lácteos, aumenta as taxas de sobrevivência de cepas probióticas durante a passagem do trato gastrointestinal (MARTINEZ et al., 2011).

A inulina e os frutooligossacarídeos (FOS) integram o grupo dos prebióticos, pois tanto são carboidratos não digeríveis, como também produzem efeito bifidogênico no cólon intestinal (CRISCIO et al., 2010).

Os objetivos desse estudo foram avaliar a viabilidade da *Bifidobacterium animalis* (Bb12) em sorvete dietético de leite de cabras potencialmente simbiótico, observar se ocorreu alteração do pH durante o armazenamento e verificar a sobrevivência da Bb12 em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

## **4.2 Materiais e Métodos**

### **4.2.1 Processamento dos sorvetes**

Foram desenvolvidos três sorvetes dietéticos, potencialmente simbióticos de leite de cabra, sabor chocolate no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos



da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral-Ce. A formulação denominada SF foi adicionada de Oligofrutose- Biofis FOS® (6%), SI foi acrescentada de Biofis Inulina® (6%) (São Paulo, Brasil) e para a formulação SFI foram utilizados ambos prebióticos contendo 3% de cada prebiótico, totalizando 6%. A proporção dos ingredientes utilizados estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 – Proporção (m/m) dos ingredientes utilizados nas formulações dos sorvetes em percentual.

Ingredientes (%)	Formulações		
	SF	SI	SFI
<b>Fixos</b>			
Leite de cabra em pó desnatado	10,00	10,00	10,00
Creme de leite de cabra (50% gordura)	10,00	10,00	10,00
Cacau em pó	5,00	5,00	5,00
Adoçante em pó	1,44	1,44	1,44
Estabilizante	1,40	1,40	1,40
Emulsificante	0,80	0,80	0,80
<b>Variáveis</b>			
Leite de cabra desnatado pasteurizado	65,29	65,29	65,29
Oligofrutose (FOS)	6,00	-	3,00
Inulina	-	6,00	3,00
<i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i> - Bb12	0,07	0,07	0,07
Total	100,00	100,00	100,00

SF- FOS+ *B. animalis* (Bb12)

SI - inulina + *B. animalis* (Bb12)

SFI - FOS+ inulina + *B. animalis* (Bb12)

Fonte: Elaborado pelo autor.

A cultura láctica probiótica liofilizada *Bifidobacterium animalis* Bb12 foi obtida do distribuidor da Christian Hansen®. O adoçante sucralose em pó- Linea Sucralose®, cacau em pó- Garoto®, emulsificante Emustab®, e liga neutra G3 Kerry® foram adquiridos do mercado local. O leite fluido de cabra desnatado (0,2-0,5% de gordura), creme de leite de cabra (50% de gordura) e leite de cabra em pó desnatado obtido em *spray-dryer* foram obtidos e processados do rebanho próprio da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral-Ce.

Inicialmente, foi realizada a ativação da cultura por 2h a 37 °C após tratamento térmico de leite de cabra durante 3,5 min por 90°C na proporção de 0,07g de Bb12 para cada 100ml de leite. Os ingredientes adoçante, leite em pó, creme de leite, cacau em pó, estabilizante, FOS e /ou inulina e emulsificante foram pesados e adicionados ao leite de cabra desnatado sob agitação na produtora de sorvetes, da marca Finamac, modelo: PP12 com capacidade para 12 litros. A calda base foi

pasteurizada a 70 °C durante 10 min na produtora de sorvetes e homogeneizada para obter uma suspensão de gordura estável e uniforme. Em seguida, resfriada por imersão em água gelada. A cultura foi retirada da estufa e adicionada à calda ao atingir a temperatura de 37 °C e maturada por 3 horas a 4 °C. O congelamento parcial da calda ocorreu na produtora de sorvetes durante batimento, até atingir a temperatura de - 6,2 °C. Os sorvetes foram embalados em potes de polietileno com capacidade para 70 mL, e imediatamente armazenados à temperatura de -18 °C no período de armazenamento por 84 dias.

#### **4.2.2 Viabilidade do *Bifidobacterium animalis* (Bb12)**

Para a determinação da viabilidade do *Bifidobacterium animalis* (Bb12) homogeneizou-se 25 g de sorvete em 225 mL de água peptonada 0,1%, seguindo-se de diluições seriadas até  $10^{-7}$  com o mesmo diluente. As placas contendo o meio Man Rogosa Sharp (MSR-LP) e cisteína foram incubadas em anaerobiose a 37 °C por 72 horas (VINDEROLA et al., 2000).

Amostras das três formulações SF, SFI e SI foram analisadas nos tempos 0, 1, 14, 28, 56 e 84 dias após o processamento do sorvete no Laboratório de Microbiologia da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral - Ce.

#### **4.2.3 Acompanhamento do pH**

O pH foi mensurado em pHmetro digital (Digimed DM-22, São Paulo, Brasil), com eletrodo para amostras semi-sólidas, nos tempos 1, 14, 28, 56 e 84 dias.

#### **4.2.4 Ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes em condições gastrintestinais simuladas *in vitro*.**

A cepa probiótica Bb12 nos sorvetes dietéticos foi submetida às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro* após 15 e 84 dias de armazenamento a -18 °C.

As análises foram conduzidas empregando-se o modelo *in vitro*, utilizando-se sucos gástricos e entéricos simulados e enzimas do TGI (LISERRE, 2007). Nesse procedimento, 25 g de sorvete foram diluídas em 225mL de solução NaCl 0,5%.

Frascos Schott contendo 10 mL dessa diluição foram adicionadas de pepsina (Pepsin from porcine stomach mucosa, Sigma-Aldrich CO. St. Louis, MO, EUA) e lipase (Amano lipase from *Penicillium camemberti*, Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, EUA) até atingirem a concentração de 3g/L e 0,9mg/L, respectivamente (Figura 1- A). O pH foi ajustado para 2,5 com HCl 1N, e as amostras incubadas em banho metabólico TE-053 Dubnoff Tecnal (Piracicaba, Brasil) sob agitação de aproximadamente 150 rpm, a 37 °C por 2h simulando a fase gástrica (Figuras 1- B e C).

Para a simulação da fase entérica 1 (intestino delgado), decorridas 2h da análise, o pH das amostras foi ajustado para 5,0, utilizando-se solução de fosfato de sódio pH 12 (150 mL de 1 N NaOH; 14 g de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{H}_2\text{O}$  destilada q.s.p. 1L) contendo bile (Bile bovine, Sigma-Aldrich) e pancreatina (Pancreatin from porcine pancreas, Sigma-Aldrich), até atingir a concentração de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram reincubadas sob agitação a 37°C por 2h.

Após 4h do início do ensaio, simulando as condições do intestino grosso (fase entérica 2), o pH foi reajustado para 6,0 utilizando-se a mesma solução alcalina e ajustando-se as concentrações de bile e pancreatina para 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram incubadas por mais 2h a 37°C, totalizando 6 horas de ensaio. A retirada das alíquotas da diluição de sorvete contendo os sucos gástricos e entéricos simulados ocorreu após 2h, 4h e 6h do início do ensaio *in vitro*. Os valores de pH das amostras em cada etapa do ensaio foram monitorados em triplicata e registrados seus valores, expressos nos resultados desse trabalho na Tabela 4.

Para determinar a população de micro-organismos sobreviventes ao ensaio *in vitro*, alíquotas de 1 mL de cada fase foram plaqueadas em diluições seriadas e adicionadas o meio MSR-LP e cisteína em seguida, foram incubadas em anaerobiose a 37 °C por 72 horas (VINDEROLA, et al., 2000) (Figura 1 - D, E).

Figura 1: Sequência do ensaio de sobrevivência dos micro-organismos incorporados aos sorvetes em condições gastrintestinais simuladas *in vitro*.



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)

- (A) Diluição dos sorvetes;  
 (B) Ajuste do pH;  
 (C) Amostras em banho metabólico;  
 (D) Plaqueamento; (E) Adição do meio MSR-LP e cisteína. Fonte: Elaborado pelo autor.

### 4.3 Resultados e Discussões

A viabilidade do probiótico é um pré-requisito essencial para a sua funcionalidade no organismo humano, que deve ser mantida desde a fabricação do produto (NOUSIA et al., 2011).

Conforme os resultados apresentados Tabela 2, observamos que ao longo do tempo de vida de prateleira até 84 dias, não houve diferença estatística na viabilidade da *B. animalis subsp. lactis*, manteve-se constante, acima de 8,0 log UFC/g. Essa contagem atende aos parâmetros da legislação brasileira, a qual preconiza  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC) na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante (ANVISA, 2008; KOLIDA & GIBSON, 2011).

Vale ressaltar, que os valores do tempo 0 da tabela 2, referem-se a calda do sorvete, para avaliar se houve perda significativa da população da Bb12, ao comparar com o tempo de 1 dia. Logo, evidenciamos que não houve perda significativa após batimento do sorvete.

Tabela 2. Populações (média  $\pm$  desvio padrão) de *Bifidobacterium animalis* (Bb12) em sorvetes dietéticos com FOS (SF), com FOS e inulina (SFI) e com inulina (SI) aos 0, 1, 14, 28, 56 e 84 dias.

Populações de <i>B. animalis subsp. lactis</i> Bb12 (log UFC/g)			
Tempo (dias)	Tratamentos		
	SF	SFI	SI
0	8,77 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,27	8,89 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,07	8,71 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,05
1	8,42 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,02	8,40 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,31	8,42 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,17
14	8,43 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,14	8,27 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,19	8,39 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,21
28	8,37 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,11	8,28 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,23	8,37 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,25
56	8,56 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,21	8,34 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,29	8,18 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,13
84	8,48 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,20	8,51 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,12	8,33 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,06

<sup>A</sup> letras maiúsculas sobrescritas iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

<sup>a</sup> letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey em uma mesma formulação com tempos diferentes de armazenamento.

SF: + frutooligosacarídeos (FOS); + *B. animalis subsp. lactis* Bb12;

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subsp. lactis* Bb12;

SI: + Inulina; + *B. animalis subsp. lactis* Bb12

Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesta pesquisa, os resultados obtidos foram mais satisfatórios que os relatados por Margarinos et al.(2007), que após desenvolverem sorvete probiótico com Bb12, observaram um decréscimo de 10% nas populações de microorganismos após 60 dias de armazenamento a - 25 °C.

O efeito sinérgico dos probióticos com os prebióticos presentes nesse sorvete pode ter contribuído para a manutenção da viabilidade da Bb12. Oliveira et al. (2009), após a elaboração de leite fermentado simbiótico contendo Bb12 e

oligofrutose (FOS) compararam com amostra controle, obtendo maior contagem da Bb12, de 8,06 log UFC/g, enquanto o controle apresentou 7,63 log UFC/g.

Observando a Tabela 3, o pH dos sorvetes não sofreu alterações durante a vida de prateleira, mantendo-se constante na faixa de 6,0. Segundo Saad et al. (2011) o gênero *Bifidobacterium* tem pH ótimo de crescimento entre 6 e 7, assim como de sobrevivência. O sabor de chocolate também contribuiu para o pH dos sorvetes, não acidificando, como pode acontecer com o uso de frutas cítricas na saborização de sorvetes.

Tabela 3. Valores de pH (média  $\pm$  desvio padrão) dos sorvetes com frutooligossacarídeos (SF), frutooligossacarídeos e inulina (SFI) e inulina (SI) durante a vida de prateleira.

Tempo (dias)	pH		
	Tratamentos		
	SF	SFI	SI
1	6,22 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,01	6,12 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,09	6,10 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,11
14	6,15 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,06	6,08 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,17	6,21 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,24
28	6,24 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,12	6,03 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,02	6,19 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,06
56	6,08 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,02	6,00 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,01	6,08 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,07
84	6,16 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,07	6,00 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,01	6,08 <sup>Aa</sup> $\pm$ 0,13

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas iguais, na mesma linha, não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey em diferentes formulações de sorvetes.

<sup>a</sup> letras minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente a 5% ( $p > 0,05$ ) pelo teste de Tukey em uma mesma formulação com tempos diferentes de armazenamento.

SF: + frutooligossacarídeos(FOS); + *B. animalis subsp. Lactis* Bb12

SFI: + FOS; + inulina; + *B. animalis subsp. lactis* Bb12

SI: + Inulina; + *B. animalis subsp. lactis* Bb12

Fonte: Elaborado pelo autor.

O pH padrão do sorvete é de aproximadamente 7,0, mas do sorvete probiótico pode variar baseado em fatores como a quantidade de leite fermentado usado, tempo de fermentação e tipos de micro-organismos utilizados (CLARKE, 2004; WOOD, 2011).

No trabalho de Ranadheera et al. (2013) os sorvetes probióticos de chocolate à base de leite de cabra, adicionados de Bb12, resultaram no pH de 6,65, em média. Esse resultado foi atribuído ao fato de que houve uma curta fermentação de 1h das culturas no leite de cabra antes de ser incorporado à calda. De forma semelhante, no nosso trabalho, a fermentação durante 2h ocorreu apenas com pequena porção de leite de cabras desnatado, para ativar as culturas probióticas da Bb12 antes da inoculação na calda dos sorvetes. Logo, não houve acidificação do meio, pois após a ativação da cultura, foi inoculada na calda que foi conduzida rapidamente ao freezer para a maturação de 3h até 4 °C. Esse procedimento resultou no pH 6,0 que

favoreceu a viabilidade da Bb12. Neste trabalho que desenvolvemos, investimos na sinergia dos probióticos com os prebióticos, para o público com restrição de açúcares, diferenciando de Ranadherra et al. (2013), por ser apenas adicionado de probióticos.

#### 4.3.1 Ensaios de sobrevivência *in vitro*

O ensaio de sobrevivência *in vitro* simula as condições gastrintestinais durante a passagem do probiótico desde o estômago até atingir o cólon intestinal, que é o principal local de colonização da Bb12 (SAXELI et al., 2010).

Durante o processo de digestão e absorção do alimento, ocorrem variações de pH, de secreções e enzimas que são responsáveis pela diminuição das populações dos probióticos consumidos. A bile é um composto esverdeado, que é sintetizada no fígado e tem o papel de emulsificante. Mas possui ação antimicrobiana, por isso é considerada um dos principais responsáveis pelo desafio dos probióticos à sobrevivência durante a passagem pelo trato gastrintestinal (TGI). Esses efeitos antimicrobianos da bile são aplicados tanto para os microrganismos patogênicos, como para os microrganismos probióticos ingeridos em alimentos (BOGSAN et al., 2013).

Da mesma forma, o ácido clorídrico e a pepsina, que atuam como uma barreira contra microrganismos patogênicos, também podem resultar em diminuição da viabilidade de probióticos no TGI (EL-SHAFEI et al., 2010).

Os resultados do pH estão representados na Tabela 4 e os resultados de sobrevivência da cepa nas Figuras 2 e 3.

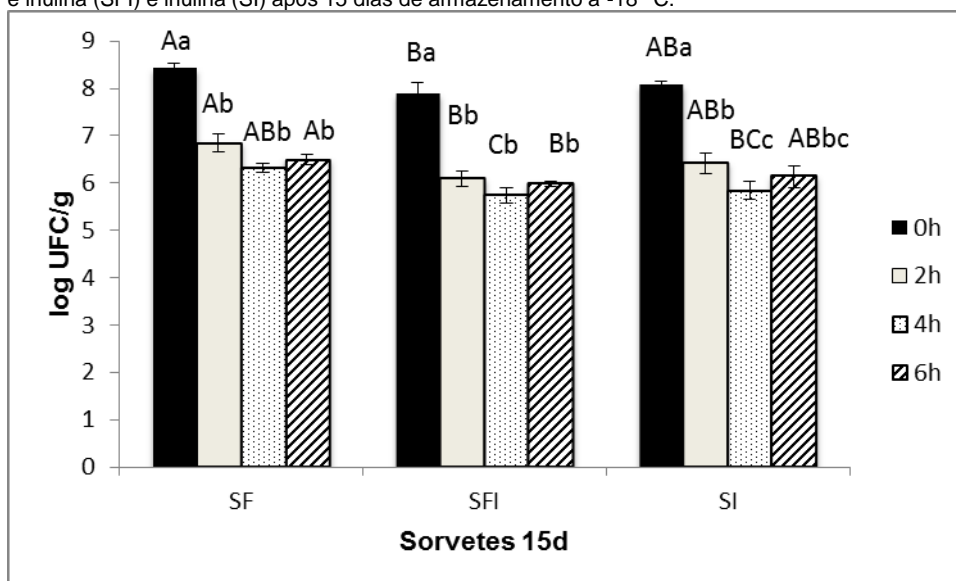
Tabela 4- Controle do pH (média  $\pm$  desvio padrão) durante os testes de sobrevivência as condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro* após 15 e 84 dias de armazenamento a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Armazenamento (dias)	Tempo do teste (horas)	SF	SFI	SI
15	0h	6,65 $\pm$ 0,02	6,65 $\pm$ 0,01	6,89 $\pm$ 0,04
	0 – 2h	2,62 $\pm$ 0,12	2,40 $\pm$ 0,02	2,71 $\pm$ 0,18
	2 – 4h	5,24 $\pm$ 0,02	4,76 $\pm$ 0,03	5,23 $\pm$ 0,06
	4 – 6h	6,19 $\pm$ 0,01	6,17 $\pm$ 0,06	6,36 $\pm$ 0,06

	0h	6,48 ± 0,01	6,27 ± 0,12	6,76 ± 0,01
84	0 – 2h	2,84 ± 0,04	2,57 ± 0,06	2,41 ± 0,04
	2 – 4h	4,69 ± 0,01	4,84 ± 0,01	5,06 ± 0,03
	4 – 6h	5,45 ± 0,03	5,67 ± 0,01	6,12 ± 0,07

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 2- Sobrevivência de *B. animalis subsp. lactis*- Bb12 (média ± desvio padrão) a condições gastrintestinais simuladas *in vitro* nos sorvetes com frutooligossacarídeos(SF), frutooligossacarídeos e inulina (SFI) e inulina (SI) após 15 dias de armazenamento a -18 °C.

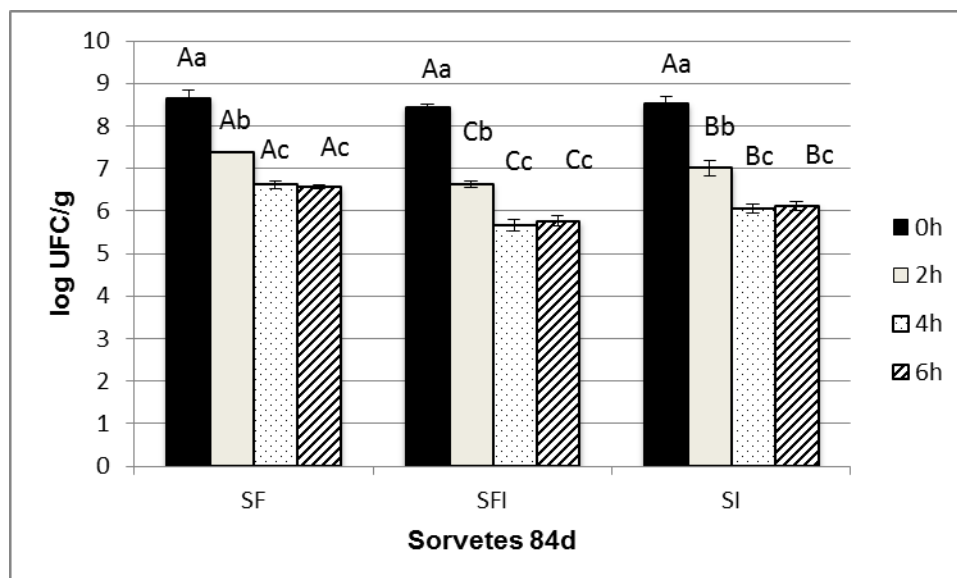


<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sorvete para o 15º dia de armazenamento para cada tempo de coleta: T0(0h), T1(2h), T2(4h), T3(6h). <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre cada tempo de coleta ao longo do ensaio *in vitro* para a mesma formulação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 3- Sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* Bb12 (média ± desvio padrão) nos sorvetes com frutooligossacarídeos (SF) frutooligossacarídeos e inulina(SFI) e inulina(SI) após 84 dias de armazenamento a -18 °C.





<sup>A,B,C</sup> Letras maiúsculas distintas sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes formulações de sorvete para o 84º dia de armazenamento para cada tempo de coleta: T0(0h), T1(2h), T2(4h), T3(6h). <sup>a,b,c</sup> Letras minúsculas distintas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre cada tempo de coleta ao longo do ensaio *in vitro* para a mesma formulação.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao 15º dia de armazenamento a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , todas as formulações de sorvete apresentaram reduções significativas na população de Bb12 após as 2h iniciais do ensaio, que representam a fase gástrica, comparadas ao tempo zero (0h). A formulação SFI apresentou maior redução da população de Bb12 com queda de 1,79 UFC/g. Em seguida, as formulações SI e SF reduziram 1,65 e 1,58 UFC/g em média, respectivamente. No entanto, apesar do SF ter apresentado menor queda na população de bactérias que o SI, não houve diferença significativa entre ambos.

Após as 4h de ensaio, quando os probióticos foram submetidos ao pH 5,0, à pancreatina e à bile durante 2 hs (primeira fase entérica), todas as formulações apresentaram redução das populações da Bb12. No entanto, os sorvetes SF e SFI não apresentaram redução significativa da população de probiótico em relação à fase gástrica.

Entretanto, após 6h de teste, observou-se que houve um aumento da população de *B. animalis* em todas as formulações de sorvete, em comparação com o final da fase entérica 1, ocorrendo a recuperação de uma parte dos microrganismos probióticos, quando submetidos às condições da fase entérica final (6h). Esse resultado foi bastante satisfatório, pois essa fase representa as condições simuladas no intestino grosso, com pH superior a 6,0. A Bb12 tem preferência de colonização e multiplicação no cólon intestinal. A ação dos prebióticos FOS e inulina pode ter favorecido a sobrevivência e recuperação da Bb12 nas formulações SF, SI

e SFI, já que são considerados bifidogênicos, estimulando o crescimento e a resistência desses probióticos nas condições do cólon intestinal. O pH superior a 6,0 também favorece a sobrevivência da Bb12, sendo considerado o pH ótimo de crescimento para a bactéria estudada (COSTA, 2010; GIUNITINI & MENEZES, 2011).

Após os 84 dias de armazenamento dos sorvetes simbióticos a -18 °C, não houve diferença significativa entre as três formulações na contagem da fase inicial (0h), mas houve uma redução significativa após a fase gástrica (2h) em relação ao início do ensaio (Figura 3). O contato dos sorvetes com o pH ácido simulando as condições gástricas humanas, resultou em estresse à Bb12, com redução da população em 1,27 log UFC/g para o SF, 1,81 log UFC/g para o SFI e 1,51log UFC/g para o SI. A presença de FOS na formulação resultou maior efeito protetor nessa fase, já que foi o SF que obteve menor perda da Bb12, com taxa de sobrevivência de 85,3%, demonstrando diferença significativa em relação às outras formulações, que apresentaram taxas de 78,5% para SFI e 82,2% para SI.

Na primeira fase entérica (4h) ocorreu queda significativa das populações de Bb12, tanto entre as fases de cada formulação isolada, como entre as formulações, provavelmente devido à presença dos sais biliares. No entanto, quando comparando as formulações entre si, observa-se que a formulação SF obteve menor perda da população de Bb12 diferindo significativamente das outras formulações.

Assim como ocorreu no 15º dia de armazenamento, na última fase entérica (6h) todas as formulações, com exceção da SF nesse período de 84 dias, também recuperaram em parte a população do probiótico em comparação na fase de 4h. A formulação SF, apresentou uma pequena redução dessa população, porém sem diferir significativamente em relação a primeira fase entérica (4h). Mesmo assim, foi a formulação que obteve a maior população ao final do ensaio, comparado às demais.

No período total de armazenamento estudado, 84 dias, pode-se observar que os FOS de forma isolada (SF) apresentaram efeito protetor para a Bb12 maior que a inulina isolada (SI) ou combinada (SFI). Akalin & Erisir (2008) também, observaram uma maior viabilidade da Bb12 em sorvetes simbióticos com 4% de oligofrutose durante o período de armazenamento de 90 dias a -18 °C em comparação com a inulina. A alta sobrevivência do probiótico no sorvete contendo FOS deve-se ao fato de possuir menor nível de polimerização do que a inulina e os FOS são preferidos

pelas bifidobactérias como fonte de carbono e de energia (ROBERFROID et al., 1998).

Nesse trabalho, a matriz alimentícia escolhida (sorvete com a adição dos prebióticos) foi de fundamental importância para a proteção da Bb12 durante a passagem pelo trato gastrointestinal simulado *in vitro*, além das características intrínsecas do próprio microorganismo.

A cepa da Bb12 apresentou boa viabilidade com taxa média de sobrevivência na fase gástrica (2h) de 80,6%, considerando-se os dois períodos estudados, até atingir o final da última fase entérica (6h) com 74% de taxa de sobrevivência. Nessa fase, houve uma recuperação das populações em comparação a fase entérica inicial (4h). O resultado dessa última fase corroborou com o trabalho de Souza (2010), que desenvolveu 7 formulações de margarina adicionadas de Bb-12, sendo uma delas suplementada com 3% de inulina. Na última fase entérica (6h), a população da bactéria nessa formulação recuperou-se em parte, apresentando população acima de 6 log UFC/g.

A legislação brasileira, preconiza que um produto com alegações probióticas deve conter na recomendação diária do produto pronto para o consumo, uma faixa mínima entre 8 e 9 log UFC/g de células viáveis (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008). Levando-se em conta o consumo diário de pelo menos 60 g de sorvete, a ingestão de 8 log UFC/g supera a porção diária mínima de probióticos recomendada, mesmo o probiótico chegando com 6 log UFC/g no intestino grosso após atravessar a barreira do suco gástrico no estômago e dos sais biliares no intestino delgado.

A inulina e o FOS apresentaram efeito protetor de sobrevivência da Bb12, tendo em vista que são prebióticos bifidogênicos e se ligam à água disponível formando um gel constituídos de rede de partículas cristalinas, oferecendo uma camada protetora aos probióticos, frente às adversidades do trato gastrointestinal (FRANCK, 2008).

Friguetto (2012), produziu sorvetes probióticos e simbióticos adicionados de *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 com contagens iniciais de 8,1 log UFC/g, verificou que após 6h de exposição às condições gastrointestinais simuladas, os índices de sobrevivência apresentaram contagem final de 3,31 log UFC/g para os probióticos e 4,27 log UFC/g para os simbióticos adicionados com inulina. Logo, a inulina

apresentou efeito protetor ao probiótico frente às condições de estresse simuladas *in vitro*.

Em nosso trabalho, o percentual médio de sobrevivência superou os resultados de Friguetto (2012), pois o mesmo encontrou apenas 47,67% de sobrevivência de Lpc-37 *in vitro*, do sorvete adicionado de inulina, já nossos resultados com a Bb12 foram de 74% de sobrevivência *in vitro* em média, referentes a todos os sorvetes simbióticos produzidos.

Segundo Vernazza et al. (2006), a resistência da cepa *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* Bb12 durante a passagem pelo trato gastrointestinal humano pode ser explicada pela presença do gene K. Esse gene pode ser encontrado também em outras bactérias, possui a função protetora a choque térmico e estresse osmótico e principalmente, aumentada a resistência das bifidobactérias quando expostas à ação da bile.

Outros pesquisadores atribuem a resistência dos probióticos ao ambiente ácido na fase gástrica a presença da enzima H<sup>+</sup>-ATPase utilizada por esses microorganismos para manter a homeostase do pH intracelular (CORCORAN et al., 2005). No entanto, no momento que o pH interno atinge o valor limite, as funções celulares são inibidas e a célula morre (MIWA, et al., 2001).

É importante ressaltar, que durante todo o tempo de armazenamento dos sorvetes estudados, a sobrevivência foi favorecida, pois na contagem inicial (0h) de Bb12 em ambos os períodos de 15 e 84 dias a população dessa bactéria esteve entre 8 a 8,65 log UFC/g, ou seja, o armazenamento até 84 dias não reduziu o número de bactérias probióticas. Esse resultado pode ser explicado pelo fato do sorvete ser um produto congelado, estável que garantiu uma taxa de sobrevivência microbiana por longo período de armazenamento (CRUZ et al., 2011).

Nesse trabalho, foi observado que em se tratando de sobrevivência da Bb12 submetida às condições simuladas *in vitro* do trato gastrointestinal humano, pode-se considerar que os FOS e a inulina provavelmente auxiliaram a mesma, exercendo efeito protetor contra a ação dos sucos gástricos e entéricos na concentração de 6% quando usadas em formulações isoladas (SF e SI) ou quando usadas em formulações mistas (3% de cada - SFI).

#### **4.4 Conclusões**

As três formulações testadas dos sorvetes dietéticos simbióticos de leite de cabra, mostraram-se adequadas matrizes alimentícias carreadoras de Bb12, atendendo a contagem preconizada pela legislação brasileira e a Federação Internacional de Laticínios durante o tempo de vida de prateleira. O sabor de chocolate do sorvete simbiótico resultou no pH próximo a neutralidade, auxiliando na manutenção da Bb12 sem sofrer alterações. O uso de FOS e inulina, podem exercer efeitos sinérgicos, favorecendo a viabilidade e a sobrevivência da Bb12, apresentando atividade protetora a esse micro-organismo probiótico em condições simuladas adversas durante a passagem do trato gastrointestinal. Os FOS durante o ensaio de sobrevivência *in vitro* exerceram maior proteção à Bb12 comparados a inulina, principalmente no período final estudado.

#### 4.5. Referências

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos. **Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos**. Brasília, 2008. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em: 24 mar. 2014.
- AKALIN , A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofrutose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v.73, p.1840 -188, 2008.
- BAROUTKOU, A. et al. Effects of probiotic yoghurt consumption on the serum cholesterol levels in hypercholesteromic cases in Shiraz, Southern Iran. **Sci. Res. Essays**, v. 5, n.16, p. 2206 - 2209, 2010.
- BOGSAN,C.S.B. et al. Survival of Bifidobacterium Lactis hn019 and Release of Biogenic Compounds in Unfermented and Fermented milk is affected By Chilled Storage at 4°C . **Journal Probiotics and Health**, v. 1, p. 1- 4 , 2013.
- CLARKE, C. **The science of ice cream**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004. p.177-179.
- CORCORAN, B.M. et al. Survival of probiotic Lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n.6, p. 3060-3067, 2005.
- COSTA, N.M.B; ROSA, C.O.B. **Alimentos Funcionais**. Componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro. Ed. Rubia. 2010.

CRISCIO, T.D. et al. Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. **Journal of Dairy Science**, v.93, p. 4555–4564, 2010.

CRUZ, A.G., et al. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359-388.

EJTAHED, H.S. et al. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. **Nutrition**, p.1–5, 2011. Disponível em :<journal homepage: www.nutritionjrn.com> Acesso em : 13 de abr. 2014.

EL-SHAFEI, K .et al. In vitro assessment of gastrointestinal viability of potentially probiotic Lactobacili. **Journal of American Science**, v.6, n.11, p. 357-367, 2010.

FRANCK, A. **Food applications of prebiotics**. In: Gibson, G.R. Roberfroid, M.B. ed. **HANDBOOK of prebiotics**. Boa Raton: CRC, 2008, P. 437-466.

FRIGHETTO, J.M. **Produção de sorvetes com características simbióticas e avaliação da sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* em condições gastrointestinais simuladas**. Juan Marcel Frighetto. Dissertação de Mestrado. Santa Maria. Rio Grande do Sul. 69 páginas. Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Ciências Rurais, 2012.

GIUNTINI, E.B.; MENEZES, E. W. Fibra alimentar. São Paulo. ILSI- International Life Sciences Institute of Brasil.(Série de publicações ILSI. Brasil: funções plenamente reconhecidas de nutrientes; 18, p.1-24. 2011.

HOMAYONI, A. et al. Factors influencing probiotic survival in ice cream: a review. **International Journal of Dairy Science**.v.1, p.1-10, 2012.

KABEERDOSS, J. et al. Effect of yoghurt containing Bifidobacterium lactis Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin2 in healthy adult volunteers. **Nutrition Journal**. V. 10, p. 138 - 144, 2011, Disponível em <<http://www.nutritionj.com/content/10/1/138>>. Acesso em 10 jul. 2014.

KARTHIKEYAN, N. et al. Augmentation of Probiotic Viability in Ice Cream Using Microencapsulation Technique. **International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology**, v. 2, n.1, p. 76-83, 2013.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Annual Reviews Food Science Technology**, v. 2, p. 373 – 393, 2011.

LISERRE, A.M.; RÉ, M.I.; FRANCO, B.D.G.M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**, v.21, p.1-16, 2007.

MADUREIRA, A.R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Resource International**, v. 44 n.1, p. 465–470, 2011.

MARGARINOS, H. Viability of probiotic micro-organisms (Lactobacillus La5 and Bifidobacterium animalis subsp. Lactis Bb12) in ice cream. **International Journal Dairy Technology**, v. 60, p.128-134, 2007.

MARTINEZ, R.C.R et al. In vitro evaluation of gastrointestinal survival of Lactobacillus amylovorus DSM 16698 alone and combined with galactooligosaccharides, milk and or Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, p.152-158, 2011.

MIWA,T. et al. Regulation of H<sup>+</sup>-ATPase synteses in response to reduced pH in ruminal bactéria.**Current Microbiology**, c.2; p.106-110, 2011.

MOHAMMADI,R. et al. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties: A Review. **Annals of microbiology**.v.61, p.411 - 424, 2011.

NOUSIA, F.G., ANDROULAKIS, P.I., FLETOURIS, D.J., Survival of Lactobacillus acidophilus LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. **Int. J. Dairy Technol.**, v.64, n. 1, p. 130 – 136, 2011.

OLIVEIRA, R.P.S. et al. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotics survival and fatty acids pro files in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, p.467-472, 2009.

RANADHEERA, C.S. et al. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Res. Int.**, v. 49, p. 619–625, 2012.

RANADHEERA, C.S. et al. Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. **Small Ruminant Research**, v. 112; p. 174 – 180, 2013. Disponível em < journal homepage: [www.elsevier.com/locate/smallrumres](http://www.elsevier.com/locate/smallrumres)>. Acesso em : 02 de ag. 2014.

ROBERFROID MB, VAN LOO JAE, GIBSON GR. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 128:11–9.

SAAD, S.M.I.; *et al.* **Probióticos e prebióticos em alimentos. Fundamentos e aplicações tecnológicas.** 1.ed.São Paulo: VARELA, 2011.669 p.

SARDERS, M.E.; MARCO, M. Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science Technology*, v.1, p.65-85, 2010.

SAXELIN, M., et al. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 144 (2), 293–300. 2010.

SCHILLINGER,V; GUIGAS, C.; HOLZAPHEL, H. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt like products. *International Dairy Journal*, v. 15, n.2, p.1289-1297, 2005.

SOUSA, C.H.B. Desenvolvimento de margarina probiótica e simbiótica, viabilidade do probiótico no produto e resistência in vitro. Cinthia Hoch Batista de Sousa. São Paulo. 208p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da

Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. 2010.

SOUSA, G.L. Desenvolvimento de sorvete simbiótico de graviola(*Annona muricata* L.) com teor reduzido de gordura e avaliação da resistência gastrointestinal dos probióticos in vitro. Graziela Leal Sousa. São Paulo.138p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. 2013.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS Institute Inc. 2009. SAS OnlineDoc. 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

VERNAZZA, C.L. GIBSON,G.R.; RASTALL,R.A. Carboidrate preference, acid tolerance in five strains of *Bifidobacterium* . *Journal of Applied Microbiology*. V. 100, p.846-853, 2006.

VINDEROLA, C. G; et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium* , *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.9,1905-1911, 2000.

WOOD, J.M. Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients substituted for sugar. Unpublished Ph.D. Thesis. University of Nebraska-Lincoln. 2011.



## 5 CAPÍTULO 4- AVALIAÇÃO DA RESPOSTA GLICÊMICA EM VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS E DIABÉTICOS, APÓS A INGESTÃO DE SORVETE DIETÉTICO SIMBIÓTICO DE LEITE DE CABRA, SABOR CHOCOLATE.

### RESUMO

Considerando o crescente surgimento de pessoas portadoras de diabetes tipo 2 recentemente, torna-se importante atenuar a resposta glicêmica com produtos dietéticos. Foi produzido um sorvete de leite de cabra dietético sabor chocolate, adicionado de 6% de inulina e  $10^8$  UFC/g de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12). A resposta glicêmica *in vivo* foi avaliada em dois grupos de voluntários, sendo um grupo controle (saudáveis, n = 8) e um grupo experimental (diabéticos tipo 2, n = 6). O grupo controle apresentou diferença significativa na redução da resposta glicêmica comparado ao alimento de referência (glicose), obtendo IG: 38,81 e CG: 1,97. Os níveis médios de glicemia pós-prandial do grupo experimental foram menores nos primeiros 90 minutos após o consumo do sorvete, comparados à glicose, mas não houve diferença significativa. O IG desse grupo foi elevado IG: 80,62, no entanto a CG foi de baixo impacto, 4,1, gerando um efeito positivo associado ao consumo do sorvete. A adição de 6% de inulina no sorvete dietético e a sucralose influenciaram na redução da resposta glicêmica, demonstrando efeito hipoglicêmico, principalmente no grupo controle. A suplementação da inulina em produtos dietéticos pode ser utilizada como ferramenta no controle glicêmico ou na prevenção de diabetes tipo 2.

Palavras-chave: índice glicêmico, carga glicêmica, inulina, diabetes tipo 2.

## ABSTRACT

Considering the recent increase of type 2 diabetes cases, it has become important to lower the glycemic answer in diet products. A symbiotic diet chocolate flavored goat milk ice-cream was made, adding 6% inulin and  $10^8$  UFC/g of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12). The *in vivo* glycemic answer was evaluated in two groups of volunteers, a control group (healthy individuals, n= 8) and a experimental group (diabetic individuals, n= 6). The control group showed a significant difference in the reduction of the glycemic answer compared to the reference food (glucose), obtaining an GI: 38,81 and a GL: 1,97. The average post-prandial glycemia levels of the experimental group were lower on the first 90 minutes after the ice-cream consumption, which compared to the glucose there was no significant difference. This group GI was high GI: 80,62, however the GL was of low impact at 4,1, creating a positive effect associated to the ice-cream consumption. The addition of 6% of inulin in the diet ice-cream and sucralose influenced the glycemic answer reduction, showing a hipoglycemic effect, especially in the control group. The inulin supplementation in diet products can be used as a tool for the glycemic control or in the prevention of the type 2 diabetes.

Key-words: glycemic index, glycemic load, insulin, type 2 diabetes.

### 5.1 Introdução

A habilidade em otimizar o controle glicêmico na prevenção e monitorização do diabetes mellitus tipo 2, é altamente influenciada pelo consumo alimentar. O foco primordial para a educação nutricional consiste no tipo e quantidade de carboidatos consumidos, assim como nas proteínas, lipídeos e fibras, pois a glicemia pós-prandial pode ser influenciada pelos mesmos (ADA, 2014; KIRPITCH et al., 2011).

A inulina é um frutano definido como carboidrato não glicêmico, sendo considerado um prebiótico de baixo nível energético, também classificada como uma fibra solúvel (CUMMINGS; STEPHEN, 2007; SLAVIN et al., 2009). Possui efeito

bifidogênico, contribuindo para o aumento de microrganismos probióticos no cólon intestinal. Apresenta nível de polimerização (DP) médio de 10 e contém em torno de 6 a 10% de açúcares livres, representados pela glicose, frutose e sacarose. A inulina pode ser encontrada em alcachofra de Jerusalém, alho, aspargo, banana, cebola, centeio, cevada, trigo, yacon e outros vegetais (KELLY, 2009; PIMENTEL et al., 2012).

O papel dos frutanos na glicemia ainda não está definido, pois em geral, estudos indicam que o efeito hipoglicêmico depende das condições fisiológicas de cada indivíduo. Vários estudos foram realizados com inulina e verificaram uma relação positiva entre o consumo de inulina e a redução na resposta glicêmica (JACKSON et al., 1999; VAN DOKKUM et al., 1999; CAUSEY et al., 2000; VALENTOVA et al., 2005; REIMER & RUSSELL, 2008).

Probióticos como o *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, vem recentemente sendo utilizados como bioterapêuticos em conjunto com a intervenção dietética, atuando na prevenção e no tratamento da diabetes (PANWAR et al., 2013).

A suplementação com inulina e *B. animalis* subsp. *lactis* Bb12 no desenvolvimento de produtos alimentícios como o sorvete, tornando um produto simbiótico, é uma estratégia que pode ter efeito positivo na resposta glicêmica. Esse efeito pode ser avaliado através do índice glicêmico e da carga glicêmica (KIRPITCH et al., 2011; SADLER, 2011).

O índice glicêmico (IG) é definido como a área sob a curva glicêmica de um alimento teste que geralmente contém 50g de carboidratos disponíveis (ou de 25g se o tamanho da porção do alimento for muito grande) no período de 2h, expressa em comparação a área do alimento de referência (glicose ou pão branco). Pela definição, o alimento referência tem um IG de 100 (BROUNS, et al., 2005).

De acordo com a classificação de Brand-Miller (2003), valores de IG acima de 70 são considerados altos. Fisiologicamente, isto significa que para um IG elevado os carboidratos do alimento provocam uma elevação da quantidade de glicose no sangue rápida e alta. Em contrapartida, valores inferiores a 55 estão associados a IG baixos, provavelmente porque a absorção destes carboidratos é mais lenta, repercutindo-se lentamente na glicemia (GUERREIRO et al., 2010).

Evidências científicas demonstram que alimentos com baixo IG são considerados benéficos para a saúde, principalmente atuando no controle glicêmico.

No Brasil e outros países ocidentais o metabolismo da glicose está aumentado em grande parte da população adulta. Através da baixa resposta glicêmica, esses alimentos tem o papel de controlar o peso e as doenças cardiovasculares (SADLER, 2011).

A carga glicêmica (CG) complementa o IG, informando a quantidade glicêmica do alimento teste em relação ao tamanho da porção consumida, pois é calculada pela multiplicação do IG do alimento pela quantidade de carboidrato disponível contido na porção consumida. Alguns autores consideram um valor que resulta de uma correção no IG (GUERREIRO et al., 2010).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas glicêmicas de voluntários saudáveis e diabéticos após a ingestão de sorvete de leite de cabra dietético simbiótico sabor chocolate.

## **5.2 Materiais e Métodos**

### **5.2.1 Produção do sorvete dietético simbiótico**

Foi desenvolvido um sorvete dietético, potencialmente simbiótico de leite de cabra, sabor chocolate. O processamento foi realizado no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral-Ce. Os ingredientes utilizados foram: cultura láctica probiótica liofilizada *Bifidobacterium animalis* Bb12 – Christian Hansen®, adoçante sucralose em pó- Linea Sucralose®, cacau em pó- Garoto®, emulsificante Emustab®, liga neutra G3 Kerry®, leite fluido de cabra (0,2-0,5% de gordura), creme de leite de cabras (50% de gordura), leite de cabras em pó desnatado obtido em *spray-dryer* na Embrapa Caprinos e Ovinos. O prebiótico utilizado na formulação foi o Biofis Inulina® (6%) (São Paulo, Brasil).

O processamento foi desenvolvido segundo Soler & Veiga (2001); adaptado por Cruz et al. (2011), modificações necessárias para a adição da cultura na calda. Inicialmente, foi realizada a ativação da cultura por 2h a 37 °C após tratamento térmico de uma porção de leite de cabra durante 3,5 min por 90°C. Os ingredientes adoçante, leite em pó, creme de leite, cacau em pó, estabilizante, inulina e emulsificante foram pesados e adicionados ao leite de cabra desnatado sob agitação

na produtora de sorvetes, da marca Finamac, modelo: PP12 com capacidade para 12 litros. A calda base foi pasteurizada a 70 °C durante 10 min na produtora de sorvetes e homogeneizada. Em seguida, resfriada por imersão em água gelada. A cultura foi retirada da estufa e adicionada à calda ao atingir a temperatura de 37 °C e maturada por 3 horas a 4 °C. O congelamento parcial da calda ocorreu na produtora de sorvetes durante batimento, até atingir a temperatura de - 6,2 °C. Os sorvetes foram embalados em potes de polietileno com capacidade para 70 mL e 350 mL imediatamente armazenados à temperatura de -18 °C no período de armazenamento por 84 dias.

### **5.2.2 Análise Microbiológica do sorvete**

A confirmação da segurança microbiológica dos produtos foi realizada através das análises dos micro-organismos indicadores de contaminação, conforme a legislação vigente para gelados comestíveis e produtos para gelados comestíveis. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001). A legislação estabelece que gelados comestíveis de base láctea ou não láctea (a base de água ou polpa de frutas) devem ser analisados quanto à presença de Coliformes a 45 °C/g, estafilococos coagulase positivos/g e *Salmonella* spp. Para a contagem de coliformes, utilizaram-se placas de Petrifilm™ (3M Microbiology, St. Paul, EUA), as quais foram incubadas a 45 °C durante 24 h. A determinação de estafilococos coagulase-positivos foi realizada utilizando-se placas Petrifilm™ Staph, incubadas a 37 °C por 24 h. Para *Salmonella* spp. utilizou-se a metodologia proposta por Andrews et al. (2001).

### **5.2.3 Determinação dos Carboidratos totais disponíveis**

Para quantificar a porção do sorvete que deveria ser consumida pelos voluntários equivalente a 25 ou 50g de carboidratos segundo o protocolo da FAO/WHO (1998), foi determinado inicialmente o total de carboidratos do sorvete simbiótico por cromatografia de alta eficiência (CLAE). As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará (UFC). As curvas de calibração foram construídas partindo de uma solução estoque de 10g/L de

glicose, frutose e lactose diluídas em água MilliQ. A calibração foi obtida usando uma curva de regressão linear e o software StarChrom WS 5,51 (Varian).

#### Preparação da amostra

A preparação da amostra foi realizada segundo Druzian et al. (2005). Foi homogeneizada uma quantidade de 100g de cada amostra em banho-maria, a 30 °C. Em 7,5g de cada amostra líquida, adicionaram-se 3,75mL de água deionizada e 30mL de etanol absoluto. A mistura foi agitada em um Omni Mixer por 1 min, e centrifugada a 2.000rpm por 10 minutos. Reservou-se o sobrenadante e o resíduo foi novamente lavado com 2mL de água. 8mL de etanol foi adicionado e a centrifugação foi repetida. Juntaram-se as partes dos sobrenadantes em um balão volumétrico de 50mL e completou-se o volume com etanol 80%. Uma alíquota foi filtrada com uma membrana para solvente orgânico de 0,45 µm (Merck), e 10 µL foram injetados no cromatógrafo.

As injeções foram realizadas em duplicata e o analito confirmado pelo tempo de retenção do padrão. O sistema Varian Pro Star HPLC é constituído por duas bombas de alta pressão modelo Pro-Star 210, forno Column Oven, a detecção foi realizada no detector do índice de refração (IR) a 35 graus Pro-Star modelo 355 e um injetor automático AutoSample modelo 410 com volume de 20. A separação foi realizada em coluna (30 cm x 7,8 mm).

#### **5.2.4 Composição centesimal do sorvete**

Para a obtenção da composição centesimal do sorvete foram determinados o teor de proteínas, lipídios, umidade e cinzas no Laboratório de Físico-química e de Nutrição da Embrapa Caprinos e Ovinos em Sobral-Ce, segundo Instituto Adolfo Lutz (2005) e os lipídios segundo Bligh & Dyer (1959).

O Valor calórico (Kcal) foi calculado segundo Mahan & Scott-Stump (2005). O teor de carboidratos não disponíveis foi obtido pela diferença.

### **5.2.5 Delineamento do estudo clínico de curta duração com o grupo controle (saudáveis) e o grupo experimental (diabéticos).**

#### *5.2.5.1 Tipo de estudo e localização*

O estudo clínico de curta duração foi realizado com dois grupos: controle (saudável: sem diabetes) e experimental (diabéticos tipo 2), na Embrapa Caprinos e Ovinos, no Centro de Referência de Assistência Social (CRAS) do bairro Vila União e nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) dos bairros Coelce e Pedrinhas no município de Sobral-Ce.

#### *5.2.5.2 Participantes*

O recrutamento, seleção e coleta das glicemias foram realizados no período de março a novembro de 2014. Todos os participantes foram convidados pessoalmente pela pesquisadora nos locais descritos anteriormente.

Critérios de inclusão: para o grupo controle, deveriam apresentar glicemia de jejum normal ( $<100\text{mg/dL}$ ), para o grupo experimental, ser diabético Tipo 2 em uso oral de hipoglicemiantes ou apenas controlado com a dieta. Para ambos os grupos a faixa etária variava entre 40 a 60 anos de idade, com Índice de Massa Corporal -  $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$ . Os voluntários foram pesados e medidos sua altura em balança tipo plataforma para a avaliação desse índice, segundo a WHO (1998). Foram mensurados a Circunferência da Cintura(CC) de todos os voluntários com fita métrica e suas glicemias eventuais no momento da aplicação do questionário.

Os critérios de exclusão foram: pré-diabético para o grupo controle, em uso de insulina para o grupo experimental. Ambos os grupos: insuficiência renal, gestação, fumante, ter prática de atividade física de alto impacto,  $\text{IMC} < 25\text{kg/m}^2$ ,  $\text{IMC} \geq 40\text{Kg/m}^2$ , intolerância total à lactose.

A comprovação da ausência de patologias e gestação nos participantes dos grupos controle e experimental foi obtida por meio de entrevista em formulário próprio (Anexo 6).

Foram recrutados 36 voluntários para participarem da pesquisa, sendo 16 excluídos: pré-diabéticos (n=8), Índice de massa corporal:  $IMC > 40 \text{Kg/m}^2$  (n=2),  $IMC < 25 \text{Kg/m}^2$  (n=2), intolerância total à lactose (n=3), uso de insulina (n=1) e 6 desistentes. Desse total, foram selecionados 14 voluntários, sendo 8 do grupo controle (1 homem e 7 mulheres) e 6 para o grupo experimental (1 homem e 5 mulheres).

#### 5.2.5.3. Aspectos Éticos

O estudo foi submetido ao CONEP (Comissão Nacional de Ética em Pesquisa) na Plataforma Brasil-*on line*, à Comissão Científica da Escola de Formação em Saúde da Família Visconde de Sabóia da Prefeitura Municipal de Sobral e ao Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA) de Sobral-Ce, o qual foi aprovado pelo Parecer consubstanciado n.352.805 (Anexos 1 e 2).

O termo de consentimento livre e esclarecido foi assinado por todos os participantes segundo a Resolução 196/96 do Conselho Nacional da Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 1996) (Anexo 10).

#### 5.2.5.4 Resposta glicêmica

Os voluntários foram submetidos à coleta de sangue capilar em jejum de 10 - 12 horas. A glicemia foi avaliada por meio de uma gota de sangue, a qual foi colocada em uma fita reagente específica para o glicosímetro portátil, marca Accu-Check Active (Roche). Parte das fitas glicêmicas foram doadas pela Prefeitura Municipal de Sobral-Ce (Anexo 7). Esta determinação está de acordo com o protocolo da FAO/WHO (1998).

Para os participantes do grupo controle as glicemias foram coletadas nos seguintes períodos de tempo: 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após a primeira coleta de sangue e da ingestão do sorvete dietético de leite de cabra, sabor chocolate, simbiótico (suplementado de *B.animalis subsp. lactis* - Bb12 e 6% de inulina) ou da glicose (alimento referência) e para os voluntários diabéticos: 0, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos segundo protocolo da FAO/WHO (1998); WOLEVER



*et al.* (1991) e (BROUNS et al., 2005) (Anexos 8 e 9). Esses tempos de coleta dos grupos estudados, variaram porque a resposta glicêmica dos diabéticos é mais demorada, segundo Wolever et al. (1991) os valores basais de glicemia dos mesmos podem chegar somente após 5h, mas na prática os testes glicêmicos dos alimentos são utilizadas 3h de duração (180 min).

Foi seguido o seguinte cronograma para a investigação da resposta glicêmica pós prandial dos sorvetes e do alimento de referência:

Semana 1- avaliação da resposta glicêmica dos indivíduos após ingerir a glicose;

Semana 2- avaliação da resposta glicêmica dos indivíduos após ingerir a glicose;

Semana 3- avaliação da resposta glicêmica dos indivíduos após ingerir o sorvete dietético simbiótico.

Nos dias de coleta, os voluntários descreviam seus recordatórios alimentares dos dias anteriores, nos quais eram registrados em suas fichas individuais para avaliar a influência da dieta após os resultados da resposta glicêmica.

A cada comparecimento semanal dos voluntários foi determinada a glicose de jejum e nos outros 6 tempos, após a ingestão de 25g de glicose diluída em 250 mL de água ou de 293,77g de sorvete equivalente a 25 g de carboidratos totais disponíveis.

#### 5.2.5.5. Atividades de Educação Nutricional

Durante o intervalo da coleta das glicemias, em cada encontro (n=3), a pesquisadora desenvolvia as seguintes atividades com os voluntários, que geralmente eram em duplas:

1º dia - Explicava a importância da pesquisa em *slides*, abordando o conceito de *Diabetes mellitus* (DM), prevalência, os tipos: DM1, DM2 e gestacional, etiologia, diagnóstico, tratamento, os objetivos e metodologia da pesquisa, contendo a hipótese do sorvete dietético simbiótico ser um produto de baixo índice glicêmico, após a conclusão dos dados.

2º dia - Capacitava os voluntários a diferenciar os tipos de alimentos de alto, médio e baixo índice glicêmico através de um vídeo educativo.

3º dia- Realizava educação nutricional através da roda dos alimentos: um material educativo, desenvolvido pelo SESI-Cozinha Brasil-Programa de Educação Alimentar e Nutricional. Para o grupo dos diabéticos foi complementado com uma cesta de alimentos não perecíveis saudáveis, de baixo índice glicêmico, contendo aveia em flocos, farinha de linhaça, arroz integral, leite desnatado, feijão de corda e adoçante sucralose.

Um lanche era servido após a coleta das glicemias em cada encontro, que variava: barra de cereal *diet* ou iogurte desnatado ou coalhada desnatada com adoçante ou leite fermentado com biscoito salgado integral ou uma das frutas: maçã, goiaba e banana.

Com os valores de glicemia obtidos foram calculadas a média da resposta glicêmica de ambos os grupos, as curvas glicêmicas da média dos grupos, o índice glicêmico e a carga glicêmica do sorvete.

#### **5.2.6. Índice Glicêmico**

Foi utilizada a seguinte fórmula para o cálculo do índice glicêmico (IG) do sorvete dietético simbiótico (WOLEVER, 1991):

$$IG = \frac{\text{Aumento da área abaixo da curva do alimento testado}}{\text{Área correspondente após a mesma porção do alimento padrão}} \times 100$$

Para cada voluntário foi construída uma curva glicêmica e em seguida calculada a área de incremento glicêmico abaixo da curva do alimento testado e outra para a glicose. A determinação do IG do sorvete foi realizada a partir da média aritmética simples dos resultados do grupo controle e do grupo experimental, referentes a cada um dos voluntários.

Para o cálculo da área sob a curva do sorvete e da glicose, utilizou-se como auxílio fórmulas desenvolvidas no programa Excel, da marca *Microsoft*. Para a elaboração das referidas fórmulas de cálculo, foram utilizadas as ferramentas de cálculo contidas do próprio programa. Estas foram unidas a conhecimentos matemáticos de fórmulas para determinação de áreas de trapézios e triângulos.

Ao se desenhar o gráfico de cada curva, são traçados segmentos que ligam cada valor de glicemia ao longo do tempo no caso do grupo controle (jejum, 15, 30,

45, 60, 90 e 120 minutos) e do grupo experimental (jejum, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos). Após estes pontos serem ligados e considerando como linha basal a de jejum, forma-se um perfeito polígono, cuja área pode ser segmentada em trapézios e triângulos, podendo ser calculada manualmente.

Considerando que pela matemática, é calculada como “base maior somada à base menor, multiplicado pela altura e dividido por dois” e que a área do triângulo é calculada “pela multiplicação do valor da base pelo valor da altura, dividido por dois”, soma-se as áreas formadas e tem-se o valor das áreas totais de cada produto e ser aplicada na fórmula. De acordo com o protocolo da FAO/WHO (1998), as áreas dos polígonos situadas abaixo da linha de jejum são desconsideradas para o cálculo (VEGA-LÓPEZ et al., 2007).

### **5.2.7. Carga Glicêmica (CG)**

Após a obtenção do índice glicêmico do sorvete em cada grupo, pôde-se determinar a carga glicêmica, segundo Burani (2006) pela fórmula abaixo:

$$CG = \frac{IG \times \text{Porção do CHO disponível (gramas)}}{100}$$

Onde: CG = Carga glicêmica; IG = Índice glicêmico; CHO = Carboidratos.

## **2.8. Análise estatística dos resultados**

Os resultados foram analisados através de Análise de Variância (ANOVA) de medidas repetidas, seguidas pelo teste de Tukey, ao nível de significância 5%. Foi utilizado como ferramenta o programa SAS versão 9.2.

## **5.3. Resultados e Discussões**

### **5.3.1. Composição centesimal e valor energético dos sorvetes**

Para expressar a composição centesimal das amostras do sorvete de chocolate dietético simbiótico de leite de cabra foram determinados os teores de

umidade, proteínas, lipídios totais, cinzas e carboidratos totais disponíveis. Os resultados estão apresentados na tabela abaixo (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados da composição centesimal e valor energético dos sorvetes de chocolate dietéticos simbióticos(SI), de leite de cabra.

Composição (%)	SI
Umidade(%)	65,52
Proteínas(%)	5,61
Lipídios totais(%)	5,43
Cinzas(%)	1,98
Carboidratos disponíveis totais(%)	8,51
Carboidratos não determinados**(%)	12,95
Valor energético total(Kcal)	133,20

Carboidratos não determinados\*\*- obtidos' pela diferença .

SI- sorvete adicionado com 6% de inulina+ *Bb12* concentração de  $10^8$ UFC/g, 5,4g do total correspondem a frutanos presentes em 6% de inulina com grau de pureza de 90% conforme a informação do fabricante –Siba Ingredientes-BIOFIS INULINA.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A quantificação dos carboidratos totais disponíveis resultou no total de 8,51%, representados em sua maioria pelo dissacarídeo lactose: 8,49%, seguido do monossacarídeo frutose: 0,02%. Por essa metodologia, não foi detectada glicose na amostra. A partir desse resultado, foi calculada a porção de sorvete a ser utilizada para determinação da resposta glicêmica, sendo de 293,77g de sorvete equivalente a 25 g de carboidratos totais disponíveis e o alimento de referência 25g de glicose diluída em 250 ml de água.

### 3.2. Parâmetros microbiológicos sanitários

Não foi detectada a presença de coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Sendo assim, as amostras de sorvetes SI desenvolvidos apresentaram-se de acordo com os padrões legais vigentes aprovados pelo Regulamento Técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos, estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2001).

### 3.3. Características dos voluntários

O número de voluntários participantes do grupo controle (n = 8: 1 homem e 7 mulheres) e do grupo experimental (n = 6: 1 homem e 5 mulheres) foi escolhido

baseado na literatura que preconiza um mínimo de 6 voluntários por grupo para realizar o teste do índice glicêmico (FAO/WHO,1998).

O IMC da população mundial está aumentando consideravelmente, e conseqüentemente a CC, sendo ambos fatores de risco para o desenvolvimento da diabetes tipo 2 (WHO,2008; IDF, 2013). Em 2008, mundialmente, 35% dos adultos com idade acima de 20 anos apresentaram sobrepeso (IMC  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>) (WHO,2008). Logo, nesse trabalho, selecionamos os voluntários com IMC de 25kg/m<sup>2</sup> até 37,65kg/m<sup>2</sup> (que não ultrapassasse a classificação obesidade grau II) para observar o efeito na resposta glicêmica do sorvete simbiótico nesse público amostral.

Observando a Tabela 2, o grupo controle revelou um excesso de peso segundo o IMC e valores elevados da CC caracterizando sobrepeso já no limite, pois uma participante apresentou o maior IMC de 37,65kg/m<sup>2</sup> (obesidade grau II). No grupo experimental o maior IMC obtido dos voluntários foi de 28,3Kg/m<sup>2</sup>, ou seja, todos na faixa de sobrepeso, refletindo em circunferência da cintura (CC) média menor que o do grupo controle.

Tabela 2 – Valores médios das características dos sujeitos estudados .

Parâmetro	Grupo controle (n=8)	Grupo experimental(n=6)
Idade (anos)	49,25 $\pm$ 6,54	53,50 $\pm$ 4,93
Peso (kg)	70,69 $\pm$ 11,91	59,65 $\pm$ 2,50
Altura (m)	1,55 $\pm$ 0,06	1,50 $\pm$ 0,04
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29,63 $\pm$ 4,81	26,58 $\pm$ 1,21
CC (cm)	97,75 $\pm$ 9,25	94,50 $\pm$ 6,66
Glicemia Eventual (mg/dl)	90,50 $\pm$ 12,09	144,83 $\pm$ 44,26

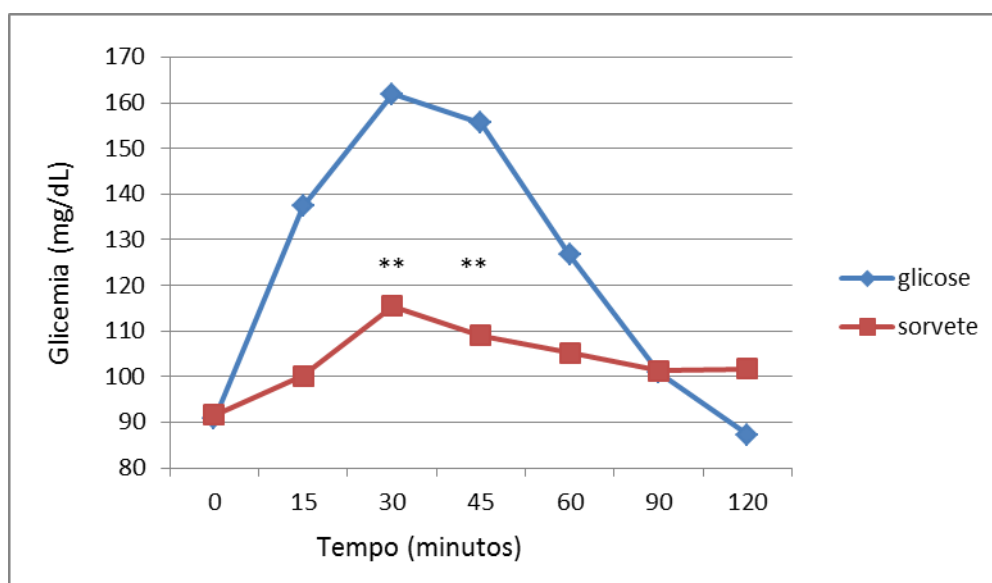
Dados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão.

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### **5.3.4. Avaliação da Resposta Glicêmica**

A resposta glicêmica após a ingestão do sorvete dietético simbiótico no grupo controle foi menor, comparados ao alimento referência, nos primeiros 60 min, sendo que os níveis de glicose sanguínea pós-prandial nos tempos 30 e 45 min foram significativamente menores ( $p < 0,01$ ). Nesses tempos houve uma redução significativa de 29% e 30% na resposta glicêmica, em comparação com a glicose, respectivamente (Figura 1 e Tabela 3).

Figura 1- Média de incremento glicêmico do grupo controle após a ingestão de 25 g de glicose dissolvida em 250 ml de água (equivalente a 25g de carboidrato) e de 293,77 g de sorvete (equivalente a 25 g de carboidrato disponível) na curva de tolerância à



\*\*P<0,01. Os experimentos foram realizados em duplicatas(n=8), em relação a glicose (25 g)  
Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 3- Valor médio de glicemia plasmática da glicose e sorvete simbiótico com inulina (SI) dos grupos estudados.

Tempo (minutos)	Glicemia plasmática (mg/dL)			
	Grupo Controle		Grupo Experimental	
	Glicose	Sorvete	Glicose	Sorvete
Jejum(0)	90,81 ± 6,91	91,63 ± 6,98	127,17 ± 31,29	118,17 ± 23,70
15	137,44 ± 36,20	100,13 ± 10,71	-	-
30	162,00 ± 22,88	115,50 ± 16,67	216,67 ± 64,21	153,67 ± 47,16
45	155,56 ± 14,86	109,00 ± 16,31	-	-
60	126,63 ± 12,77	105,25 ± 13,52	204,33 ± 53,08	157,00 ± 58,53
90	100,88 ± 20,02	101,25 ± 12,35	171,08 ± 57,45	155,33 ± 64,64
120	87,25 ± 15,36	101,75 ± 13,12	144,17 ± 57,88	153,17 ± 60,84
150	-	-	126,33 ± 54,09	149,33 ± 53,88
180	-	-	116,17 ± 49,97	137,83 ± 52,14

Fonte: Elaborado pelo autor.

O pico glicêmico do sorvete foi produzido após os 30 minutos de consumo com queda constante nos valores glicêmicos que se manteve durante os 120 minutos subsequentes do teste (Figura 1). Esse resultado pode ser explicado pelo fato do sorvete ser fonte de fibras dietéticas solúveis, no caso, a inulina.

Carboidratos não digeríveis como a inulina, apresentam uma resposta glicêmica insignificante, reduzindo a velocidade do esvaziamento gastrointestinal e a redução do acesso das enzimas digestivas, produzindo um pico glicêmico prolongado e menor (KIRPITCH et al., 2011; SADLER, 2011).

Silva (2007) demonstrou o efeito hipoglicemiante de yacon *in natura*, através do teste do índice glicêmico com 9 mulheres saudáveis, apresentando 30,55 de índice glicêmico. Da mesma forma, Aybar et al. (2001) e Volpato et al. (2002) reportaram efeitos similares com extrato das folhas e raiz de yacon em ratos diabéticos, respectivamente. Esses efeitos possivelmente são resultados da ação de frutooligossacarídeos e inulina presentes em grande quantidade.

Em nosso estudo, foi obtido o índice glicêmico de 38,81 após os 120 minutos do consumo do sorvete teste, confirmando o baixo índice glicêmico (IG) do produto com o grupo controle. A carga glicêmica (CG) calculada demonstrou ser de baixo impacto glicêmico, apresentando 1,97, levando em consideração que a porção do sorvete consumida é de 60 gramas, contendo 5,1 g de carboidratos disponíveis na porção (Tabela 4).

Capriles (2009) avaliou a resposta glicêmica de 10 voluntários saudáveis após o consumo de pães sem glúten adicionados com 12% de frutanos (6% de frutooligossacarídeos e 6% de inulina) comparados ao pão branco sem glúten. Nesse estudo, a pesquisadora observou que o pão adicionado de frutanos diminuiu a resposta glicêmica obtendo baixo IG 47,92 e baixa CG 8,08. O resultado revelou o efeito dos frutanos em reduzir a velocidade de esvaziamento gástrico e absorção intestinal dos carboidratos disponíveis no pão. A inulina é um bom agente formador de gel, como tal influencia na absorção dos nutrientes, retardando o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito do intestino delgado (MELLO & LAAKSONEN, 2009).

Alimentos de alto IG possuem alta digestibilidade e absorção, promovendo hiperglicemia acompanhada de hiperinsulinemia, que provoca rápida queda de valores glicêmicos abaixo de níveis basais. Nesse estudo, podemos observar que na Figura 1 até os 120 min, as glicemias pós-prandiais permaneceram com valores constantes, não retornaram a glicemia de jejum, como ocorreu com o alimento de referência, de alto IG (SILVA, 2007).

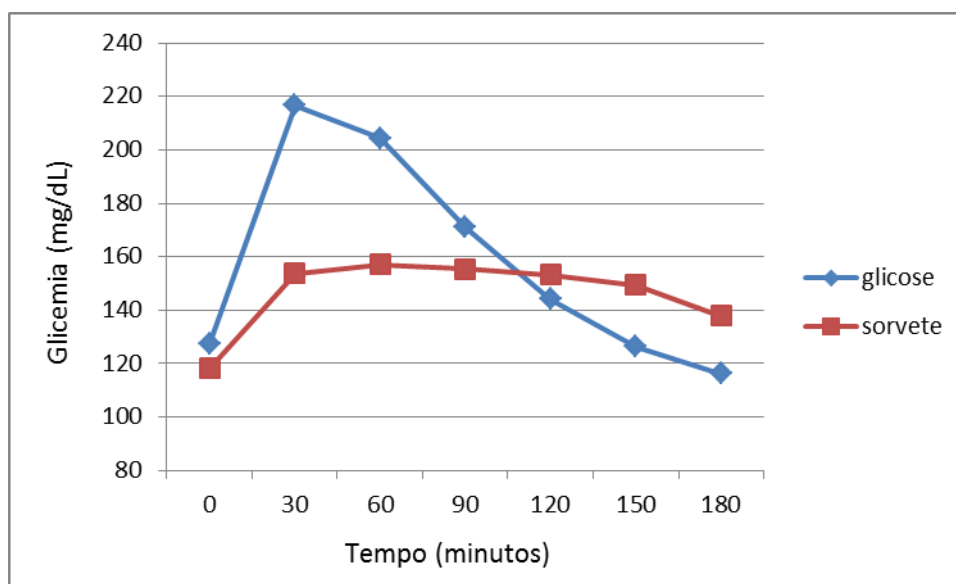
Jenkins et al. (2010) testaram o IG de um suplemento de fibra solúvel composto por goma xantana e alginato de sódio em 10 voluntários saudáveis. Dentre os alimentos que foram suplementados, a granola adicionada com 5% dessa

fibra solúvel apresentou resposta glicêmica significativamente menor comparados com a granola controle.

O enriquecimento da dieta usando fibra solúvel, é recomendado pela Associação Dietética Americana para obter maior benefício na redução do IG da dieta acompanhado da redução da incidência de diabetes tipo 2, doenças coronarianas, câncer de mama e de cólon intestinal. Alimentos com baixo IG trazem benefícios para o controle de peso. Induzem menores níveis de glicose no sangue após as refeições, o que melhora a elasticidade das paredes das artérias, facilita a sua dilatação e melhora assim o fluxo sanguíneo (GUERREIRO et al., 2010; JENKIS et al., 2010).

Na Figura 2, a curva glicêmica dos diabéticos após consumirem o sorvete simbiótico foi menor nos primeiros 90 minutos, mas não houve redução significativa comparada ao alimento de referência, mesmo assim aos 30 minutos houve diminuição de 29% da glicemia pós-prandial.

Figura 2- Média de incremento glicêmico do grupo experimental após a ingestão de 25 g de glicose dissolvida em 250 ml de água (equivalente a 25g de carboidrato) e de 293,77g de sorvete (equivalente a 25 g de carboidrato disponível) na curva de tolerância à glicose.



Os experimentos foram realizados em duplicatas, em relação à glicose (25g) (n = 6).  
Fonte: Elaborado pelo autor.

Nesse grupo experimental, o pico glicêmico do sorvete foi representado após 60 minutos, diferindo do grupo controle e do alimento de referência de 30 minutos, além disso, não atingiu hiperglicemia de 160mg/dl pós-prandial, pois a média chegou a 157mg/dl (Tabela 3). Os valores desejáveis máximos para glicemia pós-prandial



em indivíduos diabéticos (até 2 horas após a alimentação) é de até 180mg/dl (ADA, 2008).

Comparando com o consumo de glicose, no tempo de 60 minutos, ocorreu nesse período uma redução de 23,1% da resposta glicêmica após o consumo do sorvete.

Por outro lado, o IG calculado para esse grupo experimental foi de 80,62, considerado alto segundo a classificação de Brand Miller (2003). No entanto, quando comparado ao IG do grupo controle, considerado baixo (38,81) não houve diferença estatística em nível de significância de 5% (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultados da estatística ( $p > 0,05$ ) do IG e CG dos grupos controle e experimental.

Grupos	Números de voluntários	Média IG	Desvio padrão	Valor de p	CG
Controle	8	38.81 <sup>A</sup>	27.03	0,0585	1,97
Experimental	6	80.62 <sup>A</sup>	47.62		4,1

Fonte: Elaborado pelo autor.

Apesar dos valores médios de IG terem sido discrepantes entre os dois grupos, o grupo experimental apresentou muitas variações nos resultados: dois voluntários apresentaram baixo IG (28,5 e 51,59), um médio IG (65,9) e três alto IG (76,23; 95,20 e 166,26). Com destaque para o voluntário que apresentou valor acima do alimento de referência (glicose IG = 100). No grupo controle, 7 voluntários apresentaram baixo IG (5,34; 8,83; 23,54; 39,90; 43,83; 47,65 e 51,61) e 1 voluntário alto IG (89,76) (Tabela 5).

Tabela 5 - Resultados dos Índices Glicêmicos (IG) dos voluntários estudados.

Voluntários	Grupo Controle	Grupo Experimental
-------------	----------------	--------------------

01	5,34	28,53
02	8,83	51,59
03	23,54	65,91
04	39,90	76,23
05	43,83	95,20
06	47,65	166,26
07	51,61	-
08	89,76	-
Média IG	38,81	80,62

Fonte: Elaborado pelo autor.

Segundo Wollever et al. (2008) o IG deve ser aplicado, de preferência, à população saudável, pois diabéticos de glicemias não controladas apresentam muitas variações na resposta glicêmica. Brouns et al. (2005) sugerem que quando valores individuais de IG apresentarem-se muito discrepantes é recomendado que sejam excluídos (“*outliers*”), pois reduz a acurácia do teste. No entanto, Sadler (2011), sugere como definição apropriada para “*outliers*”, que os valores discrepantes encontrados, representem a soma de dois desvios padrões acima da média. Neste caso, justifica-se a não exclusão do valor do IG = 166, em virtude de que a soma de 2 desvios padrões (2x 47,62) mais a média do IG (80,62), totaliza 175,86, valor acima do encontrado na amostragem (Tabela 4).

Apesar disso, não seria indicado reduzir o número de voluntários diabéticos, ficando fora das recomendações da FAO/OMS (1998) que preconiza o mínimo de 6 pessoas por grupo.

A variabilidade metabólica que ocorre com a ingestão de nutrientes é individual, principalmente em diabéticos, algumas vezes uma pessoa responde melhor a um dado alimento que outra, por isso a importância de monitorar a resposta glicêmica em muitos voluntários (KIRPITCH et al., 2011; SADLER, 2011).

Nosso estudo não teve como critério de inclusão diabéticos com glicemias controladas, confirmadas através do exame de hemoglobina glicosilada (HbA1c) menor de 8%, como foi avaliado no estudo de Alkaabi et al (2011). Esses pesquisadores avaliaram a resposta glicêmica após o consumo de cinco variedades de tâmaras de forma comparativa entre dois grupos: um saudável (n = 13) e outro diabético tipo 2 (HbA1c <8%) (n = 10). Dessa forma, os resultados do índice glicêmico dos dois grupos foram similares e sem diferença significativa de IG para o

grupo saudável: 54,0; 53,5; 46,1 e 55,1 e grupo diabético 46,1; 43,8; 51,8; 50,2 e 53,0.

Já nos cálculos da CG da nossa pesquisa, mostrado na Tabela 4, o grupo experimental apresentou um resultado positivo, levando em consideração a baixa quantidade de carboidratos disponíveis por porção, o valor encontrado foi de 4,1, ou seja, de baixa CG. Dessa forma, a CG para esse grupo foi mais útil que o IG porque revelou o efeito glicêmico do sorvete representado pelo tamanho da porção consumida em adição a qualidade do carboidrato (MEINHOLD, 2010).

Estudos epidemiológicos indicam que a carga glicêmica está associada positivamente com o diabetes tipo 2, agindo principalmente na sua prevenção (CALDAS et al., 2005; MEINHOLD, 2010).

Os benefícios que as fibras solúveis exercem nos portadores de diabetes estão bem evidenciados cientificamente, sendo uma importante estratégia para o controle glicêmico. Segundo Donatto (2006), as fibras solúveis retardam o esvaziamento gástrico através da secreção dos peptídeos derivados do glucagon, GIP (peptídeo inibitório gástrico) e GLP-1 (peptídeo 1 tipo glucagon) favorecendo melhor controle glicêmico.

O GIP é secretado pelas células K presentes no duodeno e no jejuno, e o GLP-1 é secretado pelas células L encontradas no íleo e no cólon. O GLP-1 tem outra importante função de melhorar a sensibilidade à insulina, estimular a produção de insulina e suprimir a secreção de glucagon (CHACRA, 2006; GELONEZE & COLS, 2006; FIGUEREDO, 2009).

O papel das fibras solúveis na redução da glicose pós-prandial e aumento da sensibilidade à insulina em indivíduos diabéticos é frequentemente relatado nos trabalhos científicos, ao passo que o efeito das fibras insolúveis para essa finalidade é descrito como quase nulo (ALBA & AZEVEDO, 2010). Evidências científicas suportam a teoria que os probióticos também exercem ação na redução da resposta glicêmica, pois são potenciais moduladores da flora intestinal que modificam sua composição de forma benéfica e exercem vários benefícios como antihiperlipêmicos, antioxidantes e antiinflamatórios e antidiabéticos (YADAV, 2011).

Diabéticos tipo 2 que consomem dietas ricas em gorduras, constituem uma microbiota intestinal alterada com ruptura da microflora normal, caracterizado pela redução das bactérias colônicas probióticas e predomínio de bactérias Gram negativas. As espécies de bactérias Gram-negativas resultam no aumento de

lipopolissacarídeos, caracterizando um estado de endotoxemia metabólica intestinal (PANWAR et al., 2013).

Esses lipopolissacarídeos são os componentes inflamatórios das membranas das bactérias Gram negativas que se ligam ao receptor 4 (TLR-4)- CD14 formando um complexo patógeno, que ativa o sistema imune e libera citocinas proinflamatórias, aumentando a resistência à insulina. (ESTEVE et al., 2011). Com a suplementação das bactérias probióticas, como a Bb12, ocorre redução da proporção de bactérias Gram-negativas, com melhora da resistência à insulina.

Mazloom et al. (2013) realizaram um estudo clínico com 34 diabéticos tipo 2 com idade variando entre 25-65 anos. Os pacientes foram divididos em dois grupos: de intervenção (probióticos) e placebo. Durante seis semanas o grupo de intervenção consumiu cápsulas de 1500 mg de probióticos contendo *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. bifidum* e *L. casei*. Pacientes do grupo placebo consumiram cápsulas de 1500 mg contendo 1000 mg de estearato de magnésio. Após esse período, o sangue foi coletado e determinado o nível de insulina, que reduziu significativamente no grupo de intervenção.

Moroti et al. (2012) em estudo com humanos randomizado, duplo cego, placebo e controlado, com 20 voluntários (sendo 10 para o grupo placebo e 10 para o grupo simbiótico), de idade entre 50-60 anos, no período de 30 dias, avaliaram o efeito de uma bebida simbiótica em relação aos níveis de glicemia. Os resultados do grupo que consumiu  $10^8$  UFC/ml de *Lactobacillus acidophilus* e  $10^8$ UFC/ml de *Bifidobacterium bifidum* e 2g de oligofrutose mostraram um uma redução significativa de glicemia.

Estudos de curta duração relacionados à resposta glicêmica para avaliar os efeitos hipoglicêmicos dos probióticos são escassos, pois eles precisam ser incorporados à microbiota intestinal para que os efeitos sejam detectados, logo, podemos atribuir esse efeito hipoglicêmico do sorvete testado em grande parte a inulina, não conter adoçantes glicêmicos e pelo fato do produto ser a base de leite.

Kong (2009) avaliou a resposta glicêmica de 10 voluntários saudáveis e eutróficos após o consumo de três tipos de leite fermentado kefir, considerado um produto probiótico. Nesse estudo, os resultados mostraram que quando no kefir eram adicionados adoçantes, o IG aumentou. O kefir de baixa gordura sem adição de sacarose apresentou menor IG, 36, o adoçado com mais sacarose e pouca

glicose revelou IG 48 e o kefir contendo maior teor de glicose e baixo teor de sacarose apresentou IG 60.

Alizadeh et al. (2014) após desenvolver sorvetes de baixo teor em gordura adoçados com sacarose e outro adoçado com stévia avaliou o IG de cada um em 10 voluntários saudáveis. Os resultados mostraram que o IG do sorvete adoçado com stévia foi menor de 72 e o com sacarose 79.

Segundo a tabela internacional de IG, os produtos lácteos tem IG entre baixo e moderado. O sorvete convencional em média tem o IG de 61. (FOSTER-POWER et al., 2002) . O sorvete dietético simbiótico de leite de cabra desenvolvido nesse trabalho não contém sacarose, como o convencional e é adicionado de 6% de inulina e de Bb12 contendo  $10^8$ UFC/g, logo, revelou um baixo IG de 38,8 para o grupo de voluntários saudáveis, mas com IMC médio de  $29,63\text{kg/m}^2$ .

O IMC não interferiu na resposta glicêmica ao sorvete para os voluntários que apresentaram classificação de sobrepeso e obesidade grau I, mas o maior IG de 89,7 foi obtido no caso da única voluntária obesa de grau II ( $37,65\text{Kg/m}^2$ ). Nos testes de IG a recomendação é que o grupo de voluntários sejam saudáveis e eutróficos, mas como o excesso de peso é uma característica muito comum nos diabéticos tipo 2, foi avaliado nessa pesquisa o efeito do sorvete simbiótico na resposta glicêmica nesse público amostral

#### **5.4 Conclusões**

Os resultados deste trabalho, em relação à diminuição da glicemia após o consumo do sorvete dietético simbiótico de leite de cabra permitiram concluir que:

- O sorvete funcional resultou em efeito hipoglicêmico significativo no grupo controle, configurando um produto de baixo IG e de baixa CG.
- No grupo experimental não houve diferença significativa na glicemia pós-prandial em comparação ao alimento de referência, mas a CG obteve baixo impacto glicêmico, favorecendo o controle glicêmico.

A suplementação da inulina no sorvete foi uma estratégia para reduzir a glicose sanguínea desses voluntários, auxiliado pelo uso de adoçante sucralose em substituição a sacarose.

## 5.5. Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001**. A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 30 ago. 2014.

ALBA, V.D. ; AZEVEDO, M.J. Papel das fibras alimentares sobre o controle glicêmico, perfil lipídico e pressão arterial em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre, v. 30, n. 4, p. 363 - 71, 2010.

ALIZADEH M., AZIZI-LALABADI M.; KHEIROURI S. Impact of Using Stevia on Physicochemical, Sensory, Rheology and Glycemic Index of Soft Ice Cream. **Food and Nutrition Sciences**.V.3, p. 390 - 396; 2014.

ALKAABI, J.M., et al. Glycemic indices of five varieties of dates in healthy and diabetic subjects 2. **Nutrition Journal**. 2011, p. 10-59. Disponível em <http://www.nutritionj.com/content>. Acesso em: 03 de set.2014.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). (2008). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 31, p. 55 - 60.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). . Standards of Medical Care in Diabetes .Clinical Practice Recommendations. **Diabetes Care**,v.37 ,Suppl 1 , p. 1 – 67 , 2014.

ANDREWS, W.H. et al. *Salmonella*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: APHA, 2001. p.357-380.

AYBAR. M. et al. Hipoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal diabetic rats. **Journal Ethnopharm**, v .74, p. 125 - 132, 2001.

BLIGH, E.G. ; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, n. 37, p.911-917,1959.

BRAND-MILLER, JC. Glycemic load and chronic disease, **Nutrition Reviews**, v. 61, n. 5 , p. 49-55 , 2003.

BRASIL, 1996. **Resolução 196/96 do Conselho Nacional da Saúde do Ministério da Saúde**. Disponível em <[http://conselho.saude.gov.br/web\\_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/23\\_out\\_verso\\_final\\_196\\_ENCEP2012.pdf](http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/23_out_verso_final_196_ENCEP2012.pdf)> Acesso em: 15 de ag. 2013.

BROUNS, F. et al. Glycaemic index methodology. **Nutr Res Rev**, v.18, n. 27, p.145-171, 2005.

BURANI J. **Gushers and tricklers: practical use of the glycemic index**. 2006. Disponível em: <<http://www.eatgoodcarbs.com/glycemic-index-diabetespresentations.html>>. Acesso em: 22 de set. 2014.

CALDAS G, et al. Diabetes Mellitus: Recomendações Nutricionais. **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia .Sociedade Brasileira de Nefrologia**. Dez.2005.

CAPRILES, V.D. **Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para a intervenção em celíacos**. Tese de doutorado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 2009. 211 p.

CAUSEY JL, et al. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose, and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. **Nutr Res.**, v. 20, p. 191–201, 2000.

CHACRA, A.R. Efeito fisiológico das incretinas. **Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine**. Sumerville.Vol. 6. Num.7. 2006. p. 613-17.

CRUZ, A.G. et al. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359-388.

CUMMINGS, J. H.; STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 5-18, 2007.

DONATTO, F.F.; PALLANCHET, A.; CAVAGLIERI, C.R. Fibras Dietéticas: efeitos terapêuticos e no exercício. **Saúde em Revista**. Piracicaba, v. 8, n. 20, p. 65-71, 2006.

DRUZIAN, J. I.; DOKI C.; SCAMPARINI, A.R. P. Determinação simultânea de açúcares e polióis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-ir) em sorvetes de baixas calorias ("diet"/ "light"). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.2, p. 279-28 DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2011. 123p.

EL-NAGAR 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.

ESTEVE, E.; WIFREDO R.; FERNANDEZ-REALAB, J.M. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with

insulin resistance? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n.1, p. 483 - 490, 2011.

FAO/WHO EXPERT CONSULTATION. **Carbohydrates in human nutrition**. GENEVA: Food and Agriculture Organization, World Health Organization, 1998. 143p.

FAO/WHO- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>. Acesso em 17 jan. 2014.

4, 2005.

FAO/WHO EXPERT CONSULTATION. **Carbohydrates in human nutrition**.

GENEVA: Food and Agriculture Organization, World Health Organization, 1998. 143p.

FIGUEREDO, S.M.; RESENDE, V.A.; DIAS, C. et al. Fibras alimentares: combinações de alimentos para atingir meta de consumo de fibra solúvel/dia. **Revista e-scientia**. Belo Horizonte, v. 2, n. 1, p. 1-18, 2009.

FOSTER-POWELL K, HOLT SHA, BRAND-MILLER JC: International table of glycemic index and glycemic load values. **Am J Clin Nutr**, v. 76, p.5-56,2002.

GELONEZE, B.; LAMOUNIER, R.N.; COELHO, O.R. Hiperglicemia Pós-Prandial: Tratamento do seu Potencial Aterogênico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. São Paulo, v. 87, p. 660-670, 2006.

GENEVA: **Food and Agriculture Organization**, World Health Organization, 1998.

GUERREIRO, S.; ALÇADA, M.; AZEVEDO I. Bebidas açucaradas e glicemia. **Acta Med Port**, v. 23, p. 567-578, 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ . **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4 ed. Brasília – DF: 2005. v.1.

**INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION-IDF**, 2013 Sixth edition, 2013. Online version of IDF Diabetes Atlas. Disponível em:< [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas)>. Acessado em: março de 2014.

JACKSON KG, TAYLOR GRJ, CLOHESSY AM . The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. **Br J Nutr**, v. 82, p.23–30,1999.

JENKINS A. L., KACINIK V., LYON M.; WOLEVER T. M.S . Effect of adding the novel fiber, PGX®, to commonly consumed foods on glycemic response, glycemic index and GRIP: a simple and effective strategy for reducing post prandial blood glucose levels - a randomized, controlled trial. **Nutrition Journal**,p.9-



58,2010.Disponível em < <http://www.nutritionj.com/content/9/1/58>>. Acesso em : 15 de novembro de 2014;

KELLY, G. Inulin type prebiotics: a review. Part 2. **Alternative Medicine Review**, v. 14, n. 1, p. 36-55, 2009.

KIRPITCH, A. R.; MARYNIUK, M. D. The 3 R's of Glycemic Index: Recommendations, Research, and the Real World. **Clinical Diabetes**, v. 29, n. 4, p.155-159, 2011.

KONG K. L. **Effects of kefir on glycemic, insulinemic and satiety responses.(Tese de doutorado)**. Graduate Theses and Dissertations. Iowa State University. Disponível em: <<http://lib.dr.iastate.edu/etd>.> 123 páginas; 2009, Acesso em 12 de abr. 2014.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11.ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MAZLOOM, Z.; YOUSEFINEJAD, A.; DABBAGHMANESH, H. M. Effect of Probiotics on Lipid Profile, Control, Insulin Action, Oxidative Stress, and Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes: A Clinical . **Iran J Med Sci** ; v.38,n. 1., 2013.

MEINHOLD C. L. Low-glycemic load diets: how does the evidence for prevention of disease measure up? **J Am Diet Assoc**. 1818–1819; 2010.

MELLO, V.C.; LAAKSONEN, D.E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes mellitus tipo 2. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo. v 53, n. 5., p. 509-518, 2009.

MOROTI C, SOUZA et al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids Health**, v. 38, n.1, p.11- 29, 2013.

PANWAR, H. et al. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes – prospects and perspectives.**Diabetes/metabolism Research and Reviews**, v.29, p. 103–112, 2013. Published online in Wiley Online Library . Disponível em:<[wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)>. Acesso em 10 de jun. 2014.

PIMENTEL. T.C.; GARCIA S.; PRUDENCIO S. H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 103-118, 2012.

REIMER R ; RUSSELL J. Glucose tolerance, lipids, and GLP-1 secretion in JCR:LA-cp rats fed a high protein fiber diet. **Obesity**. 2008; 16: 40–6.

SADLER,M. Food, glycaemic response and health. IIsi Europe Concise Monograph Series. 40p.2011.

SILVA, A.S.S. **A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifollius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial.[tese]**. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

SLAVIN, J.L. et al. Review of the role of soluble fiber in health with specific reference to wheat dextrin. **J. Int. Med. Res.** V. 37, P. 1–17. 2009.

SOLER, M. P.& VEIGA, P. G. **Sorvetes**. Campinas: ITAL/CIAL, 2001.

VALENTOVA, K.; ERSEN, F.; ULRICHO VA, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5577-5582, 2005.

VAN DOKKUM W, WESENDONK B, SRIKUMAR T. Effect of nondigestible oligosaccharides on large bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. **Eur J Clin Nutr**, v. 53, p. 1–7, 1999.

VEGA-LÓPEZ, S.; AUSMAN, L.M.; GRIFFITH, J.L.; LICHTHENSTEIN, A.H. Values for Commercial White Bread. **Diabetes Care**, v. 30, p. 1412-1417, 2007.

VOLPATO, G.T. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes Mellitus. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p. 35-45, 2002.

WOLEVER, T.M.S. et al, Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. **Am J Clin Nutr**, v. 87, p.1–5, 2008.

WOLLEVER, T.M. et al. The glycemic index: methodology and clinical implications. **Am J Clin Nutr**, v. 54, p.846-854, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and managing. the global epidemic**. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: WHO; 1998.60p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2008. Obesity: situation and trends. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/obesity\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/)> Acesso em: 10 de dez. 2014.

YADAV, H. ; SHALINI, J. ; MAROTTA, F. Probiotics Mediated Modulation of Gut-Flora Might Be a Biotherapeutical Approach for Obesity and Type 2 Diabetes. **Acta Diabetol**, v. 48, p. 257–273, 2011.

## 6. CONCLUSÃO

O uso de inulina e frutooligossacarídeos no desenvolvimento de sorvetes dietéticos simbióticos de leite de cabra sabor chocolate foram ingredientes potenciais como agentes texturizantes e favoreceram na viabilidade e na sobrevivência do *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* (Bb12), demonstrando atividade protetora a esse micro-organismo probiótico às condições simuladas adversas durante a passagem do trato gastrointestinal e apresentaram boa aceitabilidade pelo consumidor.

O sorvete simbiótico adicionado de 6% de inulina, apresentou atenuação da resposta glicêmica para ambos os grupos de voluntários, principalmente no grupo saudável.

Considerando todos esses efeitos positivos do sorvete dietético funcional adicionado de frutanos e do probiótico *B. animalis* (Bb12) a base de leite de cabras, concluímos que o seu uso pode contribuir para uma maior adequação da dieta de diabéticos.

## 7. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2008. Comissões Tecnocientíficas 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: lista das alegações aprovadas.** Disponível em:< [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>. Acesso em : 05 de set. 2012.

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2003. Resolução RDC nº 267, de 25 de setembro de 2003. “Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Industrializadores de Gelados Comestíveis.” Disponível em : < [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br)> Acesso em: 5 de set. 2014.

AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2005 – Resolução RDC nº 266, de 22 de setembro de 2005. “Regulamento Técnico para gelados comestíveis”. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm>>. Acesso em: 10 de ag. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.12, de 02 de janeiro de 2001.** A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 30 de ag. 2014.

ALBA, V.D. ; AZEVEDO, M.J. Papel das fibras alimentares sobre o controle glicêmico, perfil lipídico e pressão arterial em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.** Porto Alegre, v. 30, n. 4, p. 363 - 71, 2010.

ALIZADEH M., AZIZI-LALABADI M.; KHEIROURI S. Impact of Using Stevia on Physicochemical, Sensory, Rheology and Glycemic Index of Soft Ice Cream. **Food and Nutrition Sciences.**V.3, p. 390 - 396; 2014.

ALKAABI, J.M., et al. Glycemic indices of five varieties of dates in healthy and diabetic subjects 2. **Nutrition Journal.** 2011, p. 10-59. Disponível em <http://www.nutritionj.com/content>. Acesso em: 03 de set.2014.

AHMADI, A. et al. Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated lactobacillus acidophilus(la-5) and fructooligosaccharide. **Journal Food Science Technology**, v.51, n.8, p. 1568-1574, 2014.

AKALIN, A.S. et al. Effects of fructooligosaccharide and whey protein concentrate on the viability of starter culture in reduced probiotic yogurt during storage. **Journal of Food Science**, v.72, p.222 – 227, 2007.

AKALIN, A.S.; ERISIR, D. Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. **Journal of Food Science**, v.73, p.1840 - 188, 2008.

AMAR, J. et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment. **EMBO Molecular Medicine**, v.3, n.9, p. 559 - 57, 2011.

AYBAR, M. et al. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal diabetic rats. **Journal Ethnopharm**, v. 74, p. 125 - 132, 2001.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, v. 35, Suppl n. 1, p. 64 - 71. 2012.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). **Standards of Medical Care in Diabetes .Clinical Practice Recommendations Diabetes Care**, v.37, Suppl n. 1 , p.1 - 67, 2008.

ANDREWS, W.H. et al. *Salmonella*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: APHA, 2001. p.357-380.

ANDRIGHETTO ; GOMES, M.I.F.V. Produção de picolés utilizando leite acidófilo. **Braz. J. Food Tech** BAROUTKOU, A. et al. Effects of probiotic yoghurt consumption on the serum cholesterol levels in hypercholesteremic cases in Shiraz, Southern Iran. **Sci. Res. Essays**, v. 5, n.16, p. 2206 - 2209, 2010.

BALZER, J. et al. Sustained benefits in vascular function through flavanol-containing cocoa in medicated diabetic patients. **J Am Coll Cardiol.**, v. 51, p. 2141–2149, 2008.

BLIGH, E.G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.1. n. 37, p.911-917,1959.

BODE, L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama **Glycobiology**, v. 22, n. 9, p. 1147 - 1162, 2012.

BOGSAN, C.S.B. et al. Survival of *Bifidobacterium Lactis* hn019 and Release of Biogenic Compounds in Unfermented and Fermented milk is affected By Chilled Storage at 4°C . **Journal Probiotics and Health**, v. 1, p. 1- 4 , 2013.

BOLLIGER, S.; GOFF, H.; THARP, B. Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 04, p. 303-309, 2000.

BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. Inulin and oligofructose as prebiotics in the prevention of intestinal infections and diseases. **Nutr Res Rev.**, v.19, n. 2, p. 216 - 226, 2006.

BRAND-MILLER, J.C.; NATEL, G; SLAMAS, G. Glycaemic index and health: the quality of the evidence. **Nutrition and health collection**. France. Danone Vitaploe, 47p., 2001.

BRAND-MILLER, JC. Glycemic load and chronic disease, **Nutrition Reviews**, v. 61, n. 5 , p. 49-55 , 2003.

BRASIL, 1996. **Resolução 196/96 do Conselho Nacional da Saúde do Ministério da Saúde**. Disponível em <[http://conselho.saude.gov.br/web\\_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/23\\_out\\_verso\\_final\\_196\\_ENCEP2012.pdf](http://conselho.saude.gov.br/web_comissoes/conep/aquivos/resolucoes/23_out_verso_final_196_ENCEP2012.pdf)> Acesso em: 15 de ag. 2013.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : diabetes mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 160 p.: il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36).

BRASIL. Regulamento técnico referente a gelados comestíveis, preparados, pós para o preparo e bases para gelados comestíveis. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 29 abr. 1999. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/379\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/379_99.htm)>. Acesso em: 09 de out. 2013.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998. Portaria 29/98. Secretaria de Vigilância Sanitária (DOU 30.03.98) Aprova o regulamento técnico referente a alimentos para fins especiais. 1998.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : diabetes mellitus** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 160 p.: il. (Cadernos de Atenção Básica, n. 36).

BROUNS, F. et al. Glycaemic index methodology. **Nutr Res Rev.**, v. 18, n. 27, p.145 - 171, 2005.

BURANI J. **Gushers and tricklers: practical use of the glycemic index**. 2006. Disponível em: <<http://www.eatgoodcarbs.com/glycemic-index-diabetespresentations.html>>. Acesso em: 10 de maio 2014.

BURCELIN, R. et al. Gut microbiota and diabetes: from pathogenesis to therapeutic perspective. **Acta Diabetology**, v.48, p. 257-273, 2011.

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, n.2/3, p.121-129, 2010.

CALDAS G, et al. Diabetes Mellitus: Recomendações Nutricionais. **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia** .**Sociedade Brasileira de Nefrologia**. Dez.2005.

CÂNDIDO, L. M. N.; CAMPOS, A. M. **Alimentos para fins especiais: diabéticos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 423 p.

CANI P.D.; DELZENNE, M. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. **Current Pharmaceutical Design.**, v. 15, p. 1546 - 1558, 2009.

CANI, P.D. et al. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, p. 2374 - 2383, 2007.

CANI P.D. et al. Improvement of glucose tolerance and hepatic insulin sensitivity by oligofructose requires a functional glucagon-like peptide 1 receptor. **Diabetes**, v. 55, p.1484 - 1490, 2006.

CAPRILES, V.D.; SILVA, K.E; FISBERG, M. Prebióticos, probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. **Nutrição Brasil**, Rio de Janeiro, v.4, n. 6, p.327-335, 2005.

CAPRILES, V.D. **Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para a intervenção em celíacos**. Tese de doutorado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 2009. 211 p.

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.

CARDENETTE, G.H.L. **Produtos derivados de banana verde (Musa spp.) e sua influência na tolerância à glicose e na fermentação colônica**. Tese de Doutorado. 2006. 180f. Universidade de São Paulo (USP). São Paulo. 2006.

CARICILLI, A.M.; SAAD, M.J.A. The Role of Gut Microbiota on Insulin Resistance. **Nutrients** **2013**, v. 5, p. 829 - 851. Disponível em <[www.mdpi.com/journal/nutrients](http://www.mdpi.com/journal/nutrients)>. Acesso em maio de 2014.

CAUSEY JL, et al. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose, and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. **Nutr Res.**, v. 20, p. 191–201, 2000.

CHACRA, A.R. Efeito fisiológico das incretinas. **Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine**. Sumerville. Vol. 6. Num.7. 2006. p. 613-17.

CLARKE, C. **The Science of ice cream**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2004.

CORCORAN, B.M. et al. Survival of probiotic Lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n.6, p. 3060-3067, 2005.

CORREIA, R.T.P. et al. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, 2008.

CORREIA, R.T.P.; MAGALHÃES, M.M.A.; PEDRINI, M.R.S.; CRUZ, A.V.F.; CLEMENTINO, I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agronômicas**, Fortaleza, v. 39, n. 02, p. 251-256, 2008.

COUSSEMENT PA. Anion and oligofructose: Safe intakes and legal status. **J Nuts**, v. 129, n.141, p. 25 - 75, 1999.

COSTA, N.M.B; ROSA, C.O.B. **Alimentos Funcionais**. Componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro. Ed. Rubia. 2010.

CRISCIO, T.D. et al. Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. **Journal of Dairy Science**, v.93, p. 4555–4564, 2010.

CRUZ, A.G. et al. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, v.42 n.9, p. 1233–1239, 2009.

CRUZ, A.G. et al. Sorvetes probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2011, p. 359-388.

CUMMINGS, J. H.; STEPHEN, A. M. Carbohydrate terminology and classification. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 61, n. 1, p. 5-18, 2007.

DAI D., et al. The role of oligosaccharides and glycoconjugates in intestinal host defense. **J Pediatr Gastr Nutr.**, v. 30, p. 23 - 33, 2000.

DEN HOND E, GEYPENS B, GHOOS Y. Effect of high performance chicory inulin on constipation. **Nutr Res.**, v. 20, p. 731-736. 2000.

DESIDERI, G. et al. Benefits in Cognitive Function, Blood Pressure, and Insulin Resistance Through Cocoa Flavanol Consumption in Elderly Subjects With Mild Cognitive Impairment The Cocoa, Cognition, and Aging (CoCoA) Study. **Hypertension. Journal of the American Heart Association**, v. 60, p. 794 - 801, 2012.

DONATTO, F.F.; PALLANCHET, A.; CAVAGLIERI, C.R. Fibras Dietéticas: efeitos terapêuticos e no exercício. **Saúde em Revista**. Piracicaba, v. 8, n. 20, p. 65-71, 2006.

DRUZIAN, J. I.; DOKI C.; SCAMPARINI, A.R. P. Determinação simultânea de açúcares e polióis por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-ir) em sorvetes de baixas calorias



("diet"/ "light"). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.2, p. 279-28 DUTCOSKY, S.D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 2011. 123p.

EJTAHED, H.S. et al. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. **Nutrition**, p.1–5, 2011. Disponível em :<journal homepage: www.nutritionjrn.com> Acesso em : 13 de abr. 2014.

EL-SHAFEI, K .et al. In vitro assessment of gastrointestinal viability of potentially probiotic Lactobacili. **Journal of American Science**, v.6, n.11, p. 357-367, 2010.

EL-NAGAR 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.

ESTEVE, E.; WIFREDO R.; FERNANDEZ-REALAB, J.M. Gut microbiota interactions with obesity, insulin resistance and type 2 diabetes: did gut microbiote co-evolve with insulin resistance? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n.1, p. 483 - 490, 2011.

FALCÃO, I. M et al. Estudo da prevalência da diabetes e das suas complicações numa coorte de diabéticos portugueses: um estudo na Rede Médicos-Sentinela. **Rev Port Clin Geral**, v. 24, n.6, p. 79 - 92, 2008.

FAO/WHO EXPERT CONSULTATION. **Carbohydrates in human nutrition**. GENEVA: Food and Agriculture Organization, World Health Organization, 1998. 143p.

FAO/WHO- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf. Acesso em 17 jan. 2014.

FERRI, C.et al. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. **Am J Clin Nutr.**, v. 91, p. 940 - 949, 2010 .

FIGUEREDO, S.M.; RESENDE, V.A.; DIAS, C. et al. Fibras alimentares: combinações de alimentos para atingir meta de consumo de fibra solúvel/dia. **Revista e-scientia**. Belo Horizonte, v. 2, n. 1, p. 1-18, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION FAO/WHO - Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2002. Disponível em:< ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport 2.pdf>. Acesso em 17 jan. 2014.

FOSTER-POWELL K, HOLT SHA, BRAND-MILLER JC: International table of glycemic index and glycemic load values. **Am J Clin Nutr**, v. 76, p.5-56,2002.

FRANCK, A. **Food applications of prebiotics**. In: Gibson, G.R. Roberfroid, M.B. ed. **HANDBOOK of prebiotics**. Boa Raton: CRC, 2008, P. 437-466.

FRIGHETTO, J.M. **Produção de sorvetes com características simbióticas e avaliação da sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* em condições gastrointestinais simuladas**. Juan Marcel Frighetto. Dissertação de Mestrado. Santa Maria. Rio Grande do Sul. 69 páginas. Universidade Federal de Santa Maria. Centro de Ciências Rura GAO, Z. et al. Butyrate improves insulin sensitivity and increases energy expenditure in mice. **Diabetes**, v. 58, p.1509 - 1517, 2009.

GARCIA, A. E. B. **Tendências de mercado para produtos diet e light no setor de chocolates, balas e confeitos**. In: Manual Técnico do Seminário Produtos Diet e Light, Campinas, Junho de 2000, 154 p. is, 2012.

GELONEZE, B.; LAMOUNIER, R.N.; COELHO, O.R. Hiperglicemia Pós-Prandial: Tratamento do seu Potencial Aterogênico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. São Paulo, v. 87, p. 660-670, 2006.

GENEVA: **Food and Agriculture Organization**, World Health Organization, 1998.

GIBSON GR, BEATTY ER, CUMMINGS J. Selective fermentation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. **Gastroenterology**, v.108, p. 975 - 982, 1995;

GIUNTINI, E.B.; MENEZES, E. W. Fibra alimentar. São Paulo. ILSI- International Life Sciences Institute of Brasil.(Série de publicações ILSI. Brasil: funções plenamente reconhecidas de nutrientes; 18, p.1-24. 2011.

GOFF, H. D. **Structure of ice cream**: Dairy Science and Technology website. Disponível em: <[http:// www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html](http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/icstructure.html)>. Acesso em: 12 de dez. 2013.

GOFF, H.D.; HARTEL, R.W. **Ice cream**. 7ed.; New York, Springer, 462p, 2013.

GOMES, C. R. et al. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 614 - 623, 2007.

GONÇALVES, A. A.; EBERLE, I.R. Frozen Yogurt com bactérias probióticas. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.3, p. 291-297, 2008.

GOTTI, R. et al. Analysis of catechins in *Theobroma cacao* beans by cyclodextrin-modified micellarelektrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography A**, New York, v. 11, n.12, p. 345-352, 2006.

GRANGER, C. et al. Influence of formulation on the structural networks in ice cream. **International Dairy Journal**, v.15, p. 255–262, 2005.

GRASSI, D. et al. Protective Effects of Flavanol-Rich Dark Chocolate on Endothelial Function and Wave Reflection During Acute Hyperglycemia. **Hypertension**, v. 60, p. 827 - 832, 2012.

GUERREIRO, S.; ALÇADA, M.; AZEVEDO I. Bebidas açucaradas e glicemia. **Acta Med Port**, v. 23, p. 567-578, 2010.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v.51, p.155 - 163, 2004.

HÄTÖNEN KA, et al. Methodologic considerations in the measurement of glycemic index: glycemic response to rye bread, oatmeal porridge, and mashed potato. **Am J Clin Nutr** HOMAYONI, A. et al. Factors influencing probiotic survival in ice cream: a review. **International Journal of Dairy Science**.v.1, p.1-10, 2012.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION - IDF, 2013 Sixth edition, 2013. Online version of IDF Diabetes Atlas: Disponível em < [www.idf.org/diabetesatlas](http://www.idf.org/diabetesatlas)>. Acesso em : 15 de mar. 2014.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ . **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4 ed. Brasília – DF: 2005. v.1.

INTERNATIONAL DAIRY FOODS ASSOCIATION- IDFA. **Ice cream labeling**. Disponível em:< [http:// www.idfa.org/news--views/ media-kits/icecream/ice-cream-labeling/](http://www.idfa.org/news--views/media-kits/icecream/ice-cream-labeling/)>. Acesso em: 20 de jul. 2014.

ISMAIL, E.A.; AL-SALEH, A. A.; METWALL. Effect of Inulin Supplementation on Rheological Properties of Low-Fat Ice Cream. **Life Science Journal**, v.10, n.3, 2013.

JACKSON KG, TAYLOR GRJ, CLOHESSY AM . The effect of the daily intake of inulin on fasting lipid, insulin and glucose concentrations in middle-aged men and women. **Br J Nutr**, v. 82, p.23–30,1999.

JENKINS, D. J. et al. “Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange”. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, p. 363 -366, 1981.

JENKINS A. L., KACINIK V., LYON M.; WOLEVER T. M.S . Effect of adding the novel fiber, PGX®, to commonly consumed foods on glycemic response, glycemic index and GRIP: a simple and effective strategy for reducing post prandial blood glucose levels - a randomized, controlled trial. **Nutrition Journal**,p.9-58,2010.Disponível em < <http://www.nutritionj.com/content/9/1/58>>. Acesso em : 15 de novembro de 2014;

JUNGERSEN M. et al. The Science behind the Probiotic Strain *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12®. **Microorganisms**, v. 2, p. 92 - 110, 2014 , disponível em:< [www.mdpi.com/journal/microorganisms](http://www.mdpi.com/journal/microorganisms)>. Acesso em : 20 de jun. 2014.

KABEERDOSS, J. et al. Effect of yoghurt containing *Bifidobacterium lactis* Bb12® on faecal excretion of secretory immunoglobulin A and human beta-defensin2 in healthy

adult volunteers. **Nutrition Journal**. V. 10, p. 138 - 144, 2011, Disponível em <<http://www.nutritionj.com/content/10/1/138>>. Acesso em 10 jul. 2014.

KARTHIKEYAN, N. et al. Augmentation of Probiotic Viability in Ice Cream Using Microencapsulation Technique. **International Journal of Advanced Veterinary Science and Technology**, v. 2, n.1, p. 76-83, 2013

KELLY, G. Inulin-type prebiotics – a review. Part 1. **Alternative Medicine Review**, v.13, n.4, p. 315 - 329, 2008.

KIRPITCH, A. R.; MARYNIUK, M. D. The 3 R's of Glycemic Index: Recommendations, Research, and the Real World. **Clinical Diabetes**, v. 29, n. 4, p.155-159, 2011.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Annual Reviews Food Science Technology**, v. 2, p. 373 – 393, 2011.

KONG K. L. **Effects of kefir on glycemic, insulinemic and satiety responses.(Tese de doutorado)**. Graduate Theses and Dissertations. Iowa State University. Disponível em: <<http://lib.dr.iastate.edu/etd>.> 123 páginas; 2009, Acesso em 12 de abr. 2014.

KOOTTE, R.S. et al. The therapeutic potential of manipulating gut microbiota in obesity and type 2 diabetes mellitus. **Diabetes, Obesity and Metabolism.**, v.14, p. 112 - 120, 2012.

KLEESSEN, B. et al. Effects of inulin and lactose on fecal microbiota, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. **Am J Clin Nutr**; v. 65, p. 1397-1402, 1997.

LAMOUNIER, M.L. Sorvete a base de preparado em pó., 2012.103p. **Dissertação de Mestrado em Ciências**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2012.

LISERRE, A.M.; RÉ, M.I.; FRANCO, B.D.G.M. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in modified alginate-chitosan beads and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. **Food Biotechnology**, v.21, p.1-16, 2007.

LOKHANDE, A.T. et al. Goat Milk Ice Cream: A Value Added Milk Product for Livelihood. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**. Disponível em:< <http://www.cibtech.org/jls.htm> >V. 1, n.2, p. 170-172, 2011. Acesso em: 23 de maio 2014.

MADUREIRA, A.R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Resource International**, v. 44 n.1, p. 465–470, 2011.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**. 11. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1242p.

MALAPPA, R. H. et al. Management of metabolic syndrome through probiotic and prebiotic interventions. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v.16, 2012, Disponível em :< www.ijem.in.> Acesso em: 02 de jun 2014.

MARGARINOS, H. Viability of probiotic micro-organisms (Lactobacillus La5 and Bifidobacterium animalis subsp. Lactis Bb12) in ice cream. **International Journal Dairy Technology**, v. 60, p.128-134, 2007.

MARSHALL, R.T., GOFF, H.D., HARTEL, R.W., 2003. **Ice Cream**. SPRINGER, NEW YORK. MAZLOOM, Z.; YOUSEFINEJAD, A.; DABBAGHMANESH, H. M. Effect of Probiotics on Lipid Profile, Control, Insulin Action, Oxidative Stress, and Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes: A Clinical . **Iran J Med Sci.**, v. 38, n. 1, 2013.

MARTINEZ, R.C.R et al. In vitro evaluation of gastrointestinal survival of Lactobacillus amylovorus DSM 16698 alone and combined with galactooligosaccharides, milk and or Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb-12. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, p.152-158, 2011.

MEYER, D, STASSE-WOLTHUIS, M. The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences for gut health. **Eur J Clin Nutr.**, v.1, p. 1277 - 1289, 2009.

MEINHOLD C. L. Low-glycemic load diets: how does the evidence for prevention of disease measure up? **J Am Diet Assoc.** 1818–1819; 2010.

MELLO, V.C.; LAAKSONEN, D.E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes mellitus tipo 2. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabologia**. São Paulo. v 53, n. 5., p. 509-518, 2009.

MOROTI C, SOUZA et al. Effect of the consumption of a new symbiotic shake on glycemia and cholesterol levels in elderly people with type 2 diabetes mellitus. **Lipids Health**, v. 38, n.1, p.11- 29, 2013.

MIREMADI, F. & SHAH, N.P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. **International Food Research**, v. 19, n. 4, pg. 1337-1350, 2012.

MIWA,T. et al. Regulation of H<sup>+</sup>-ATPase syntheses in response to reduced pH in ruminal bactéria.**Current Microbiology**, c.2; p.106-110, 2011.

MOHAMMADI,R. et al. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties: A Review. **Annals of microbiology**.v.61, p.411 - 424, 2011.

MURPHY, O. Non-polyol low digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. **British Journal of Nutrition**, v. 85, p. 47 - 53, 2001.

NAIR K. K.; KHARBS; THOMPKISON, D.K. Inulin dietary fiber with funcional and health atributes- a review. **Food Reviews International**, London, v. 26, n. 2, p.189 - 203, 2010.

NOUSIA, F.G., ANDROULAKIS, P.I., FLETOURIS, D.J., Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. **Int. J. Dairy Technol.**, v.64, n. 1, p. 130 – 136, 2011.

OLIVEIRA, R.P.S. et al. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotics survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, p.467-472, 2009.

ORAFTI. Active foods ingredients. **The role of inulin and oligofructose in a low glycaemic diet**, Belgium, 2005. Encarte técnico.

ORDONEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. v.2. Artmed. 2005, 280p.

PANDIYAN, C. et al. Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic ice cream. **International Food Research Journal**, v.19, n.4, p.1729-1732, 2012.

PANWAR, H. et al. Probiotics as potential biotherapeutics in the management of type 2 diabetes – prospects and Perspectives. **Diabetes Metab Res Rev.**, v. 29, p.103 – 112, 2013. Disponível em :<Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)>. Acesso em 03 de julho de 2014.

PARK, Y.W. **Components in Goat Milk. In: Bioactive Components in Milk and Dairy Products Bioactive**, Cap. 3. p.43-81, Ed. Wiley-Blackwell, Geórgia, 2009.

PAULA, C.M. **Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)**. São Paulo, 2012. 84p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

PAULA, C.M. et al. **Processamento de creme de leite de cabra padronizado pasteurizado**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p. (Embrapa Caprinos e Ovinos - Comunicado Técnico, n.124).

PIMENTEL. T.C.; GARCIA S.; PRUDENCIO S. H. Aspectos funcionais, de saúde e tecnológicos de frutanos tipo inulina. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 103-118, 2012.

PSZCZOLO, D.E. “31 ingredients developments for frozen desserts.” **Food Technology**, v.56, p.46-65, 2002.

RANADHEERA, C.S. et al. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat’s milk ice cream and yogurt. **Food Res. Int.**, v. 49, p. 619–625, 2012.

RANADHEERA, C.S. et al. Production of probiotic ice cream from goat’s milk and effect of packaging materials on product quality. **Small Ruminant Research**, v. 112; p. 174 – 180, 2013. Disponível em < journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres>. Acesso em : 02 de ag. 2014.

REIMER R ; RUSSELL J. Glucose tolerance, lipids, and GLP-1 secretion in JCR:LA-cp rats fed a high protein fiber diet. **Obesity**. 2008; 16: 40–6.

ROBERFROID MB, VAN LOO JAE, GIBSON GR. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr* 128:11–9.

ROBERFROID, MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr.*, v.71, n. 6, p.168-177, 2000.

ROBINSON, R. K. The potential of inulin as a functional ingredient. *British Food Journal*, Bradford, v. 97, n. 4, p. 30-32, 1995.

RENHE, I.R.T. et al. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, Porto Alegre, v.23, n.2, p.119-126, 2008.

RIBEIRO, A.C., RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. *Small Rumin. Res.*, v.89, n.2, p. 225 – 233, 2010.

SAAD, S.M.I.; *et al.* **Probióticos e prebióticos em alimentos. Fundamentos e aplicações tecnológicas.** 1.ed.São Paulo: VARELA, 2011.669 p.

SADLER,M. Food, glycaemic response and health. Ilsi Europe Concise Monograph Series. 40p.2011.

SALMERON, J. et al. Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diab. Care*, v. 20, p. 545 - 550, 1997.

SANTOS, G. G.; SILVA, M.R. Mangaba (*Hancornia speciosa Gomez*) ice cream prepared with fat replacers and sugar substitutes. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.32, p.621-628, 2012.

SARDERS, M.E.; MARCO, M. Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science Technology*, v.1, p.65-85, 2010.

SAXELIN, M., et al. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 144 (2), 293–300. 2010.

SCHEFFEL S.R. et al. Prevalência de Complicações Micro e macrovasculares e de seus fatores de risco em pacientes com diabetes melito tipo 2 em atendimento ambulatorial. *Rev Assoc Med Bras.*, v. 50, n.3, p. 263 - 267, 2004.

SCHILLINGER,V; GUIGAS, C.; HOLZAPHEL, H. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt like products. *International Dairy Journal*, v. 15, n.2, p.1289-1297, 2005.

SILANIKOVE, N. et al. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. *Small Ruminant Research*, v.89, p.110-124, 2010.

SILVA, A.S.S. **A raiz da yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepping & Endlicher) como fonte de fibras alimentares, sua caracterização físico-química, uso na panificação e sua influência na glicemia pós-prandial.**[tese]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2007.

SILVA, F. M. et al. Papel do índice glicêmico e da carga glicêmica na prevenção e no controle metabólico de pacientes com diabetes melito tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v.53, n.5, p. 112- 117, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA de DIABETES,(SBD). Diretrizes. Tratamento e acompanhamento do Diabetes mellitus. 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA de DIABETES, (SBD). Diretrizes 2013-2014. Tratamento e acomp SOFJAN, R.P., HARTEL, R.W. Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. **International Dairy Journal**, v.14, n.3, p. 255–262, 2004.

SLAVIN, J.L. et al. Review of the role of soluble fiber in health with specific reference to wheat dextrin. **J. Int. Med. Res.** V. 37, P. 1–17. 2009.

SOLER, M. P.& VEIGA, P. G. **Sorvetes**. Campinas: ITAL/CIAL, 2001.

SOLER, M. P.; VEIGA, P. G. **Sorvetes**. Campinas: ITAL/CIAL, 2001.

SOUKOLINS, C; LEBESI, D; TZIA, C. Enrichment of ice-cream with dietary fibre: Effects on reological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. **Food Chemistry**, v.115, p. 665 - 671, 2009.

SOUSA, G. L. Desenvolvimento de sorvete simbiótico de graviola(*Annona muricata* L.) com teor reduzido de gordura e avaliação da resistência gastrointestinal dos probióticos in vitro. Graziela Leal Sousa. São Paulo.138p. **Tese (Doutorado)**. anhamento do Diabetes mellitus. Ed. 3, 378p. 2014.

SOUSA, C.H.B. Desenvolvimento de margarina probiótica e simbiótica, viabilidade do probiótico no produto e resistência in vitro. Cinthia Hoch Batista de Sousa. São Paulo. 208p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. 2010.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS - SAS Institute Inc. 2009. SAS OnlineDoc. 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SPLENDA. Catálogo Sucralose.2000.

STRONG, K. et al. Preventing chronic diseases: how many lives can we save? **Lancet**, v.366, p.1578 - 1582, 2005.

SUCRALOSE. Disponível em: <<http://www.caloriecontrol.org/sucralos.html>> Acesso em: 2 ago. 2012.

THARP, B. W, et al. **Ampliando o perfil nutricional do sorvete**. Disponível em: <[www.insumos.com.br/sorvetes\\_e\\_casquinhas/materias/85.pdf](http://www.insumos.com.br/sorvetes_e_casquinhas/materias/85.pdf)>. Acesso em: 16 maio de 2012. 2009.

TOMOTAKE, H. et al. Comparison between Holstein cow's milk and Japan- ese-Saenen goat's milk in fatty acid composition, lipid digestibility and protein profile. **Biosci Biotechnol Biochem.**, v. 70, n. 11, p. 2771-2774, 2006.



TUOHY, K.M. et al. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics—assessment of efficacy. **Curr Pharm Des**, v. 11, n.1, p.75-90, 2005.

VAN DOKKUM W, WESENDONK B, SRIKUMAR T. Effect of nondigestible oligosaccharides on large bowel functions, blood lipid concentrations and glucose absorption in young healthy male subjects. **Eur J Clin Nutr**, v. 53, p. 1–7,1999.

VALENTOVA, K.; ERSEN, F.; ULRICHO VA, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5577-5582, 2005.

VAN LOO L, J. et al. On the presence of inulina and oligofructose as natural ingredients in the western diet". **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.35, p. 525 – 552, 1995.

VEGA-LÓPEZ, S.; AUSMAN, L.M.; GRIFFITH, J.L.; LICHTHENSTEIN, A.H. Values for Commercial White Bread. **Diabetes Care**, v. 30, p. 1412-1417, 2007.

VOLPATO, G.T. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes Mellitus. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p. 35-45, 2002.

VERNAZZA, C.L. GIBSON,G.R.; RASTALL,R.A. Carboidrate preference, acid tolerance in five strains of *Bifidobacterium* . *Journal of Applied Microbiology*. V. 100, p.846-853, 2006.

VINDEROLA, C. G; et al. Viability of probiotic (*Bifidobacterium* , *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.9,1905-1911, 2000.

VIEIRA-SANTOS, I. C. R. et al. Complicações crônicas dos diabéticos tipo 2 atendidos nas Unidades de Saúde da Família, Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Maternal Infantil** , p. 427 - 433, 2008.

VILOSLADAA, E. D. et al. Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of dextran sodium sulfate induced colitis. **Clinical Nutrition**, v. 25, p. 477- 488, 2006.

WALKER, WA. Role of nutrients and bacterial colonization in the development of intestinal host defense. **J Pediatr Gastroenterol Nutr.**, v. 30, p. 2 - 7, 2000.

WANG, Y. Prebiotics: present and future in food science and technology. **Food Research International**, Essex, v.42, p. 8 - 12, 2009.

WOLLEVER, T.M. et al.The glycemic index: methodology and clinical implications. **Am J Clin Nutr**, v. 54, p.846-854,1991.

WOLEVER, T.M.S. et al, Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. **Am J Clin Nutr**, v. 87, p.1–5, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: WHO; 1998.60p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). 2008.Obesity: situation and trends. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/obesity\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/obesity_text/en/)> Acesso em: 10 de dez. 2014.

WOLEVER, T. M. S. et al. The glycemic index: methodology and clinical implications. **Am. J. of Clin. Nutr.**, v. 54, p. 846 - 854, 1991.

WOLLGAST, J.; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 449 - 459, 2000a.

WOLLGAST, J.; ANKLAM, E. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. **Food Research International**, v. 33, n. 6, p. 423 - 447, 2000b.

WOOD, J. M. **Sensory evaluation of ice cream made with prebiotic ingredients substituted for sugar**. (2011). Nutrition & Health Sciences. Dissertations & Theses. Paper 18. Disponível em: <<http://digitalcommons.unl.edu/nutritiondiss/18s>>. Acesso: 10 de out. 2012.

YADAV, H. ; SHALINI, J. ; MAROTTA, F. Probiotics Mediated Modulation of Gut-Flora Might Be a Biotherapeutical Approach for Obesity and Type 2 Diabetes. **Acta Diabetol.**, v. 48, p. 257 - 273 , 2011.

XINY I,E.; PEI, Z.J.; SCHMIDT,K. Ice cream foam formation an stabilization : a review. **Food Reviews International**, v.26, p.122-137, 2010.

## APÊNDICE A- DADOS CURRICULARES DO AUTOR



SIGAA - Sistema Integrado de Gestão de Atividades Acadêmicas  
 UFC - Universidade Federal do Ceará  
 PRPPG - Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
 Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza - CE- CEP 60020-181



**Histórico Escolar - Emitido em: 09/05/2017 às 18:42h**

### Dados Pessoais

Nome: **MASU CAPISTRANO CAMURÇA PORTELA** Matrícula: **9965190**  
 Data de Nascimento: 11/07/1973 Local de Nascimento: FORTALEZA/CE  
 Identidade: 90003050330 Órgão Emissor: SSP Nacionalidade: BRASILEIRA  
 Nome do Pai: JOAO CAMURÇA DE ASSIS  
 Nome da Mãe: MARIA ELIETE CAPISTRANO CAMURCA  
 Endereço: RUA PRINCESA ISABEL, 805 - BL B Apto 405 Bairro: CENTRO  
 Município: FORTALEZA UF: CE

### Dados do Curso

Programa: PROGRAMA DE POS-GRADUACAO EM BIOTECNOLOGIA (RENORBIO)  
 Curso: DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA (RENORBIO) Currículo: BI062  
 Autorização do Curso:  
 Data da Publicação:  
 Área de Concentração: BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL  
 Linha de Pesquisa:  
 Orientador: 1452648 - SUELI RODRIGUES  
 Status: DEFENDIDO Mês/Ano Inicial: MAR/2010 Forma Ingresso: SELECAO  
 Prazo para Conclusão: FEV/2015 Mês Atual: 60ª Média Final: 8.71  
 Mês/Ano de Saída: --- Motivo Saída: ---  
 Data da Defesa: 26/02/2015

### Disciplinas/Atividades Cursadas/Cursando

Início	Fim	Componente Curricular		CH	CR	Freq %	Nota	Situação
9/2010	11/2010	NCO0022	AVANCOS EM BIOQUIMICA E BIOFISICA	64	4	96.87	8.5	APROVADO
9/2010	3/2011	IND0077	MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL	48	3	100.00	8.5	APROVADO
9/2011	11/2011	NCO0122	ESTAGIO-DOCENCIA I	32	2	100.00	10.0	APROVADO
1/2012	6/2012	NCO0044	BIONEGOCIOS E MARCOS LEGAIS EM BIOTECNOLOGIA	48	3	100.00	9.2	APROVADO
1/2015	1/2015	NCO0277	SEMINÁRIOS DE TESE EM ANDAMENTO I	16	1	100.00	-	APROVADO
1/2015	1/2015	NCO0288	SEMINÁRIOS DE TESE EM ANDAMENTO II	16	1	100.00	-	APROVADO
7/2012	2/2015	NCO0266	TESE	256	16	100.00	-	APROVADO
1/2015	2/2015	NCO0299	ATIVIDADE DE TESE	16	1	100.00	-	APROVADO
--	--	AJP7000	TECNOLOGIA E PRESERVAÇÃO DE ALIMENTOS	64	4	93.75	8.4	APROVT
--	--	AJP7022	ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO	64	4	98.43	8.3	APROVT
--	--	AJP7222	CONTROLE DE QUALIDADE NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	48	3	85.41	8.3	APROVT
--	--	NCO0011	AVANCOS EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR	64	4	100.00	9.0	APROVT
--	--	NCO0033	BIOINFORMÁTICA	48	3	100.00	8.0	APROVT
--	--	NCO0133	ESTAGIO-DOCENCIA II	32	2	100.00	10.0	APROVT
Créditos Exigidos:		48	Créditos Integralizados:	51	Créditos Pendentes:		0	
Carga Horária Exigida:		768	Carga Horária Integralizada:	816	Carga Horária Pendente:		0	

### Dados da Defesa

Título: Produção de sorvete dietético de leite de cabras, com características simbióticas e avaliação do seu efeito funcional.

Palavras-Chave: Sorvete dietético, inulina, frutooligosacarídeos, BB12

Páginas: 171

Data: 26/02/2015

Grande Área: Multidisciplinar

Área: Biotecnologia

Sub-Área:

Especialidade:

Membros: Presidente - 1452648 - SUELI RODRIGUES - UFC  
 Externo à Instituição - DANIELE MARIA ALVES TEIXEIRA - IFPI  
 Externo à Instituição - EDY SOUSA DE BRITO - EMBRAPA  
 Externo à Instituição - MARIA CRISTIANE RABELO - EMBRAPA  
 Externo à Instituição - SELENE DAIHA BENEVIDES - EMBRAPA

## ANEXO A- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA ESCOLA DE FORMAÇÃO EM SAÚDE DA FAMÍLIA.



PREFEITURA MUNICIPAL DE SOBRAL  
SECRETARIA DA SAÚDE E AÇÃO SOCIAL  
COMISSÃO CIENTÍFICA

### DECLARAÇÃO

Pelo presente instrumento de declaração vimos informar que o projeto de pesquisa intitulado: ELABORAÇÃO DE SORVETE FUNCIONAL DIET, DE LEITE DE CABRA, POTENCIALMENTE PROBIÓTICO, COM BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS E INGREDIENTES PREBIÓTICOS, com autoria de: **Masu Capistrano Camurça Portela**, classificado como pesquisa de Doutorado, foi submetido à Comissão Científica da Secretaria da Saúde de Sobral tendo recebido parecer favorável para sua implementação, por reconhecimento de sua importância e relevância para as políticas públicas de saúde em nossa cidade.

Sobral, 27 de Março de 2013.

  
Angelo Brito Rodrigues

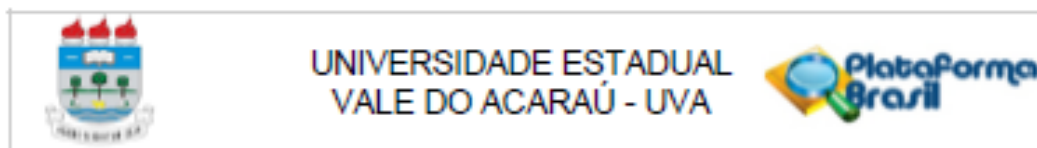
Gerente do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Saúde - NEPS

COMISSÃO CIENTÍFICA  
Escola de Formação em Saúde  
da Família Visconde de Sabóia  
SECRETARIA DA SAÚDE

Processado pela versão FREE de STOIK  
Mobile Doc Scanner de [www.stoik.com](http://www.stoik.com)



## ANEXO B- PARECER CONSUBSTANCIADO NO 352.805 APRESENTADO PELO COMITÊ DE ÉTICA DA UVA.



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Elaboração de sorvete funcional diet, de leite de cabras, potencialmente probiótico, com *Bifidobacterium animalis* e Ingredientes prebióticos.

**Pesquisador:** Masu Capistrano Camurça Portela

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 15779713.2.0000.5053

**Instituição Proponente:** EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA

**Patrocinador Principal:** EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA

#### DADOS DO PARECER

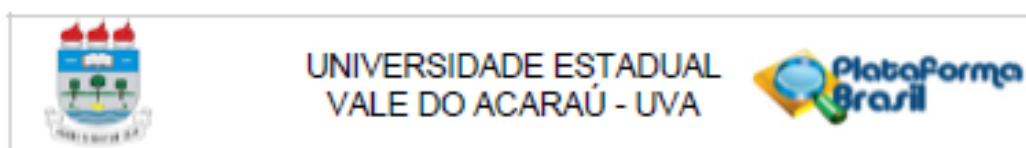
**Número do Parecer:** 352.805

**Data da Relatoria:** 04/09/2013

#### Apresentação do Projeto:

O estudo que se propõe faz parte do doutoramento em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará cursado pela pesquisadora responsável por esse projeto. Será desenvolvido um ensaio clínico de curta duração que deverá ser avaliado a resposta glicêmica em 10 diabéticos insulino não dependentes e 10 não diabéticos para efeito comparativo após o consumo de sorvete dietético simbiótico. Os participantes do ensaio serão recrutados na Unidade Básica de Saúde de Sobral-Ceará do bairro da Coelce. Antes de realizarmos esse estudo iremos primeiramente testar a análise sensorial em 30 diabéticos com as quatro formulações do sorvete de chocolate dietético e será selecionado o sorvete simbiótico mais aceito pelos diabéticos. O sorvete mais aceito sensorialmente será avaliado então a resposta glicêmica com 10 diabéticos já recrutados anteriormente. Em contrapartida, para verificar tanto a aceitação sensorial como testar o tempo de vida de prateleira 15, 60 e 90 dias dos sorvetes, na Embrapa Caprinos e Ovinos será realizada essa avaliação sensorial em 30 provadores não diabéticos, totalizando 90 provadores no final do teste de aceitação. Esperamos que os resultados sejam satisfatórios tanto na aceitação sensorial com médias de pelo menos 7,0 que é considerado um produto aceitável principalmente em relação a textura e ao sabor, mesmo sendo um produto dietético. Além disso, também aguarda-se que esse produto possa ser considerado de baixo índice glicêmico após avaliar a resposta glicêmica. Com

Endereço: Av Comandante Maurício Rocha Pente, 150  
 Bairro: Derby CEP: 62.041-040  
 UF: CE Município: SOBRAL  
 Telefone: (88)3677-4255 Fax: (88)3677-4242 E-mail: uva\_comitedeetica@hotmail.com



Continuação do Parecer: 352.005

esses resultados satisfatórios, buscar-se-á patentear o sorvete dietético.

#### **Objetivo da Pesquisa:**

##### **Objetivo Geral:**

Desenvolver formulações de sorvetes de chocolate dietéticos, a base de leite de cabras com potencial probiótico e prebiótico através da utilização de *Bifidobacterium animalis*(Bb12).

##### **Objetivos Específicos:**

Estabelecer o cálculo do valor nutricional dos sorvetes através das análises físico-químicas das proteínas, carboidratos, lipídios, cinzas, fibras, sólidos totais, umidade e valor energético.

Monitorar o pH da vida de prateleira estimada do sorvete: 1, 14, 28, 56 e 84 dias.

Realizar análise microbiológica dos sorvetes quanto a presença de *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e Coliformes termotolerantes.

Determinar o efeito da adição de FOS, Inulina e FOS mais Inulina na textura, no tempo de derretimento e overrun do sorvete.

Verificar a viabilidade do *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*(Bb12) no tempo 1, 14, 28, 56 e 84 dias de estocagem(-18°C) dos sorvetes comparando o efeito da adição de FOS e Inulina.

Realizar análise sensorial com adultos não diabéticos durante o tempo de vida útil do sorvete: 0,60 e 90 dias, comparando a aceitabilidade do sorvete adicionado com FOS, outro adicionado com Inulina e adicionado com FOS mais Inulina. As mensurações sensoriais serão: sabor, textura, cor, aroma, aceitação global.

Realizar análise sensorial com adultos diabéticos, comparando com os resultados dos adultos não diabéticos.

Avallar a resposta glicêmica pós-prandial do sorvete dietético simbiótico mais afeito sensorialmente pelos diabéticos.

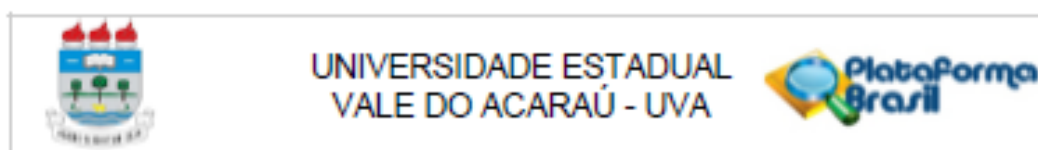
Determinar a sobrevivência do *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*(Bb12) em meio ácido e básico simulando as condições gastrointestinais humanas *in vitro*.

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

##### **Riscos:**

O estudo clínico envolverá mínimos riscos para os voluntários da pesquisa. Geralmente portadores de diabetes já estão habituados a exames de glicemia com pequenas pontadas no dedo, com o objetivo de monitoração da glicemia. Para evitar desconfortos abdominais, devido ao jejum prolongado, será servido um lanche aos voluntários como forma de compensação e agradecimento na participação da pesquisa. O consumo do sorvete simbiótico a ser testado na resposta glicêmica só será realizado após o resultado dos contaminantes microbiológicos com resultado negativo de

Endereço: Av Comandante Maurício Rocha Pente, 150  
 Bairro: Derby CEP: 62.041-040  
 UF: CE Município: SOBRAL  
 Telefone: (88)3677-4255 Fax: (88)3677-4242 E-mail: uva\_comitedeetica@hotmail.com



Continuação do Parecer: 352.005

Salmonela, Staphilococcus aureus e coliformes termotolerantes(microorganismos recomendados pela literatura como sendo prováveis contaminantes em sorvetes). Logo, o sorvete será processado através das boas práticas de fabricação, garantida sua segurança microbiológica.

**Benefícios:**

Havendo resultados satisfatórios , ou seja, um sorvete dietético funcional que tenha uma baixa resposta glicêmica, o mesmo será patenteado podendo até ser comercializado com o objetivo de ser uma opção de produto industrializado saudável para diabéticos. Seria mais um reforço na dietoterapia do controle glicêmico desses pacientes.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa de doutoramento que visa desenvolver produto na área alimentar com fins industriais e comerciais, sendo bem delineado metodologicamente.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O protocolo de pesquisa apresenta todos os itens exigidos para deflagrar o processo de apreciação ética.

**Recomendações:**

Ao final da pesquisa, a pesquisadora deverá inserir o relatório final utilizando-se do botão -Notificações-, como Notificação de Evento, no item - Enviar Notificação-, guia disponível no menu - Ajuda-, Guia De Orientação Para Inserção De Notificação De Evento nesta plataforma.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Após apresentação e discussão do parecer pelo relator, o colegiado decidiu por classificar o protocolo como aprovado.

Endereço: Av Comandante Maurício Rocha Pente, 150  
 Bairro: Derby CEP: 62.041-040  
 UF: CE Município: SOBRAL  
 Telefone: (88)3677-4255 Fax: (88)3677-4242 E-mail: uva\_comitedeetica@hotmail.com

## ANEXO C- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE DA ANÁLISE SENSORIAL.



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

#### 1. INFORMAÇÕES DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome:			
Documento de Identidade nº:			Sexo: ( ) M ( ) F
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:		Estado:
CEP:	Telefones:		

#### 2. DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto de Pesquisa: "Elaboração de sorvete funcional diet, de leite de cabras, potencialmente probiótico, com <i>Bifidobacterium animalis</i> e Ingredientes prebióticos".	
Nome do pesquisador responsável: Masu Capistrano Camurça Portela	
Cargo/Função: Bolsista de Doutorado em Biotecnologia	Nº do Registro do Conselho Regional: CRN- 2796
Instituição: Universidade Federal do Ceará (UFC)	

#### 3. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PROVADOR SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

##### Justificativa, objetivos e procedimentos

Você foi convidado a participar da análise sensorial de um sorvete dietético de leite de cabra e cacau. A base desse produto é o leite de cabra, um alimento rico em nutrientes, o qual apresenta baixo teor de colesterol, elevado índice de cálcio e proteínas quando comparado ao leite bovino. É uma alternativa para substituir o leite bovino em inúmeras preparações. Para conferir sabor ao sorvete, utilizou-se o cacau, um fruto tropical muito apreciado pelo sabor exótico. O desenvolvimento deste sorvete é realizado pela doutoranda Masu Capistrano Camurça Portela (Nutricionista), sob a orientação da Profª. Drª. Suelli Rodrigues. O produto foi elaborado e acondicionado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos, na Unidade de Processamento de Produtos Lácteos e Laboratório de Ciência de Alimentos da Embrapa Caprinos e Ovinos, em Sobral (CE). Caso você tenha interesse em participar, acomode-se junto a uma das cabines do Laboratório de Análise Sensorial.

O produto a ser avaliado nessa análise possui em sua formulação: leite de cabra, cacau em pó, espessantes e estabilizantes, creme de leite, leite em pó de leite de cabra e adoçante sucralose. As formulações podem estar adicionadas de polidextrose, frutooligossacarídeos ou inulina (fibras alimentares solúveis que trazem benefícios à função intestinal). Todos os ingredientes da formulação são utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, são de grau alimentício. Além disso, os produtos foram adicionados de microrganismos probióticos que contribuem com a função intestinal (*Bifidobacterium animalis*).

Para participar desta análise, você: deve ter entre 20 e 60 anos; gostar de produtos lácteos (iogurtes, queijos, sobremesas), não possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância ou qualquer outro tipo de restrição aos ingredientes (como doença crônica ou tratamento médico com uso de medicamentos que podem interagir); não deve estar gripado, resfriado ou indisposto ou ter entrado em contato há menos de 1 hora com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte. Atendendo a essas condições, você poderá participar da análise sensorial do sorvete probiótico de leite de cabra e cacau em pó.

Você receberá uma amostra e uma ficha de avaliação. A amostra contém aproximadamente 20g de sorvete. Prove a amostra e registre na ficha sua opinião com relação ao produto de uma maneira geral circulando o número na escala de 1 a 9, onde 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo. Em seguida, escreva o que você mais gostou e o que menos desgostou na amostra.

##### Desconfortos e riscos

Os riscos desse estudo são mínimos. Pelo fato do sorvete possuir em sua composição microrganismos que auxiliam na função intestinal, bem como a fibra alimentar utilizada, sendo reconhecidos como seguros, os possíveis





## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

desconfortos são mínimos. Adicionalmente, não foram encontradas evidências de risco ou desconforto relacionado à análise sensorial em estudos desse tipo.

### Benefícios esperados

Não há nenhum benefício direto. Porém, você contribuirá para o desenvolvimento de alimentos com características sensoriais adequadas às expectativas de potenciais futuros consumidores.

### 4. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Caso você não queira continuar participando da pesquisa, a qualquer momento você pode desistir, sem que haja qualquer penalidade. Havendo qualquer dúvida com relação aos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, você deve comunicar ao grupo de pesquisa, a qualquer momento. É assegurado que todas as informações pessoais serão confidenciais, o sigilo e privacidade também são garantidos, mesmo que os resultados sejam publicados em periódicos científicos.

Não haverá remuneração financeira aos participantes das análises sensoriais.

### 5. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Masu Capistrano Camurça Portela e Sueli Rodrigues  
Universidade Federal do Ceará- Departamento de Biotecnologia, Av. Mister Hull, s/n. Fortaleza-CE CEP: 60020-181  
Tel:(85)33669656

Karina Maria Olbrich dos Santos  
Embrapa Caprinos e Ovinos. Estrada Sobral-Groaliras Km 04. CEP 62030-970 Sobral-CE Telefone: (88) 3112-7444

### 6. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

.....  
.....

### 7. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

"Estou ciente do objetivo do teste, não apresento reação alérgica ou intolerância aos ingredientes, tenho entre 20 e 60 anos, não tenho nenhuma doença crônica (como diabetes, hipotireoidismo, hipertensão ou outras), não estou fazendo tratamento médico (tomando algum medicamento) e aceito participar dessa análise."

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

\_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Assinatura do sujeito de pesquisa

Assinatura do pesquisador responsável  
Masu Capistrano Camurça Portela

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade Estadual Vale do Acaraú(UVA). Av.Comandante Maurocéllo Rocha Pontes, 150 – Bairro Derby - Sobral-CE CEP:62.042-280.Telefone para contato: (88) 3677-42-55. Telefone da pesquisadora responsável:(85)33669656.

**ANEXO D- FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL.**

Nome: _____	
Idade: _____	Data: _____/_____/_____
<b>Produto: "Sorvete dietético de leite de cabra, sabor chocolate." Nº amostra:</b> _____	
Por favor, prove a amostra que você acabou de receber, e em seguida, avalie usando a escala abaixo descrevendo o quanto gostou ou desgostou do produto.	
9 = gostei muitíssimo	
8 = gostei muito	O que achou da textura do produto? _____
7 = gostei moderadamente	O que achou do sabor do produto? _____
6 = gostei ligeiramente	O que achou do produto de uma maneira geral? _____
5 = nem gostei nem desgostei	
4 = desgostei ligeiramente	
3 = desgostei moderadamente	
2 = desgostei muito	
1 = desgostei muitíssimo	
Cite a característica que você mais gostou na amostra 😊 . Comente: _____	
Cite a característica que você menos gostou na amostra ☹️ . Comente: _____	

## Anexo E- Formulário de Pesquisa



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA DIABÉTICOS

#### 1. INFORMAÇÕES DO SUJEITO DA PESQUISA

Nome:		
Documento de Identidade nº:	Sexo: ( ) M ( ) F	
Data de Nascimento: / /		
Endereço:	Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:	Estado:
CEP:	Telefones:	

#### 2. DADOS SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto de Pesquisa: "Elaboração de sorvete funcional <i>free</i> , de leite de cabras, potencialmente probiótico, com <i>Bifidobacterium animalis</i> e ingredientes prebióticos".		
Nome do pesquisador responsável: Masu Capistrano Camurça Portela		
Cargo/Função: Bolsista de	Nº do Registro do Conselho Regional: CRN- 2796	
Doutorado em Biotecnologia		
Instituição: Universidade Federal do Ceará (UFC)		

#### 3. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PROVADOR SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

##### Justificativa, objetivos e procedimentos

Você foi convidado a participar da análise sensorial de um sorvete dietético de leite de cabra e cacau. A base desse produto é o leite de cabra, um alimento rico em nutrientes, o qual apresenta baixo teor de colesterol, elevado índice de cálcio e proteínas quando comparado ao leite bovino. É uma alternativa para substituir o leite bovino em inúmeras preparações. Para conferir sabor ao sorvete, utilizou-se o cacau, um fruto tropical muito apreciado pelo sabor exótico. O desenvolvimento deste sorvete é realizado pela doutoranda Masu Capistrano Camurça Portela (Nutricionista), sob a orientação da Profª. Drª. Sueli Rodrigues. O produto foi elaborado e acondicionado de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos, na Unidade de Processamento de Produtos Láticos e Laboratório de Ciência de Alimentos da Empresa Caprinos e Ovinos, em Sobral (CE). O produto a ser avaliado nessa análise possui em sua formulação: leite de cabra, cacau em pó, espessantes e estabilizantes, creme de leite, leite em pó de leite de cabra, adoçante sucralose e inulina (fibra alimentar solúvel que traz benefícios à função intestinal). Todos os ingredientes da formulação são utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, são de grau alimentício. Além disso, os produtos foram adicionados de microrganismos probióticos que contribuem com a função intestinal (*Bifidobacterium animalis*).

Para participar desta análise, você: deve ter acima de 20 anos; gostar de produtos lácteos (iogurtes, queijos, sobremesas), não possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância, ser diabético tipo II, não está grávida, não ser portador de doença renal, não deve estar gripado, resfriado ou indisposto ou ter entrado em contato há menos de 1 hora com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte. Atendendo a essas condições, você poderá participar da análise sensorial do sorvete probiótico de leite de cabra e cacau em pó.

Você receberá uma amostra e uma ficha de avaliação. A amostra contém aproximadamente 30g de sorvete. Prove a amostra e registre na ficha sua opinião com relação ao produto de uma maneira geral, quanto ao sabor e a textura na escala de 1 a 9, onde 1 = desgostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo. Em seguida, escreva o que você mais gostou e o que menos gostou na amostra.

#### Desconfortos e riscos

Os riscos desse estudo são mínimos. Pelo fato do sorvete possuir em sua composição microrganismos que auxiliam na função intestinal, bem como a fibra alimentar utilizada, sendo reconhecidos como seguros, os possíveis desconfortos são mínimos. Adicionalmente, não foram encontradas evidências de risco ou desconforto relacionado à análise sensorial em estudos desse tipo.

#### Benefícios esperados

Não há nenhum benefício direto. Porém, você contribuirá para o desenvolvimento de alimentos com características sensoriais adequadas às expectativas de potenciais futuros consumidores.

#### 4. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

Caso você não queira continuar participando da pesquisa, a qualquer momento você pode desistir, sem que haja qualquer penalidade. Havendo qualquer dúvida com relação aos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, você deve comunicar ao grupo de pesquisa, a qualquer momento. É assegurado que todas as informações pessoais serão confidenciais, o sigilo e privacidade também são garantidos, mesmo que os resultados sejam publicados em periódicos científicos.

Não haverá remuneração financeira aos participantes das análises sensoriais.

#### 5. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Masu Capistrano Camurça Portela e Sueli Rodrigues  
Universidade Federal do Ceará- Departamento de Biotecnologia,Av. Mister Hull,s/n. Fortaleza-CE CEP:  
60020-181

[Telefone:\(85\)33669656](tel:(85)33669656)

Karina Maria Olbrich dos Santos  
Empresa Caprinos e Ovinos. Estrada Sobral-Groalhas Km 04. CEP 62030-970 Sobral-CE  
Telefone: (88) 3112-7444

#### 6. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

.....  
.....  
.....

#### 7. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

"Estou ciente do objetivo do teste, não apresento reação alérgica ou intolerância aos ingredientes, tenho acima de 20 anos, sou diabetes tipo II, não tenho insuficiência renal. Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa."

\_\_\_\_\_, de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito de pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável  
Masu Capistrano Camurça Portela

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade Estadual Vale do Acaraú(UVA). Av.Comandante Maurocéllo Rocha Pontes, 150 – Bairro Derby - Sobral-CE CEP:62.042-280.Telefone para contato: (88) 3677-42-65. Telefone da pesquisadora responsável:(85)33669656.

## ANEXO F- FORMULÁRIO DE PESQUISA



## FORMULÁRIO DE PESQUISA

Nome: \_\_\_\_\_ Gênero: ( ) Masculino ( ) Feminino

Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_. Idade: \_\_\_\_\_

Estado civil: ( ) solteiro (a) ( ) casado (a) ( ) viúvo (a) ( ) divorciado(a) ( )

Profissão: \_\_\_\_\_

1- Qual sua escolaridade?

Analfabeto ( ) 1º grau incompleto ( ) 1º grau completo ( )

2º grau incompleto ( ) 2º grau completo ( ) Superior incompleto ( )

Superior completo ( ) Pós-graduação ( )

2- Qual a sua renda?

( ) < 1 salário mínimo ( ) 1 salário mínimo ( ) 2- 4 Salários ( ) 5-7 Salários

( ) mais de 8 salários mínimos

3- Você gosta de leite de cabras?

SIM ( ) NÃO ( ) NÃO SEI, NUNCA CONSUMI ( )

4- Você tem intolerância à lactose?

SIM ( ) NÃO ( )

5- Você gosta de sorvete de chocolate?

SIM ( ) NÃO ( )

6- Você tem hábito de consumir sorvetes dietéticos?

SIM ( ) NÃO ( )

7- Você toma adoçantes? Qual você usa? \_\_\_\_\_

SIM ( ) NÃO ( )

8- Você tem diagnóstico de diabetes há quanto tempo?

---

9- Como foi feito esse diagnóstico?

---

10- Como você monitora sua glicemia? Tem glicosímetro? Mede sua glicemia com que frequência?

---

11- Você toma hipoglicêmicos orais?

Qual(is)? \_\_\_\_\_

SIM ( ) NÃO ( )

12- Você usa insulina?

---

SIM, SEMPRE ( ) NÃO ( ) ÀS VEZES ( )

13- Faz acompanhamento médico?

SIM ( ) NÃO ( )

14- Qual a frequência do acompanhamento médico?

Semanal ( ) Quinzenal ( ) Mensal ( ) Semestral ( ) Anual ( )

15- Após a descoberta do diabetes, já teve algum problema de visão? Qual? \_\_\_\_\_

SIM ( ) NÃO ( )

16- Teve alguma amputação?

SIM ( ) NÃO ( )

17- Teve AVC?

SIM ( ) NÃO ( )

18- Teve infarto?

SIM ( ) NÃO ( )

19- Você está grávida (caso seja mulher)?

SIM ( ) NÃO ( )

20- Você é fumante?

SIM ( ) NÃO ( )

21- Você é hipertenso?

SIM ( ) NÃO ( )

22- Faz uso de anti-hipertensivo? Qual?

SIM ( ) NÃO ( )

23 Você tem prisão de ventre?      24 Você tem insuficiência renal?

SIM ( ) NÃO ( )

SIM ( ) NÃO ( )

25- Consome álcool

( ) sim ( ) não Quantas vezes na semana: \_\_\_\_\_ Quantidade: \_\_\_\_\_

26-Prática atividade física? ( ) sim ( ) não Qual? \_\_\_\_\_

Com qual frequência?

( ) diariamente

( ) três vezes na semana

( ) às vezes (raramente)

27-Quantas refeições realiza diariamente?

( ) Até 3 ( ) 4 a 5 ( ) mais de 5.

Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ CC: \_\_\_\_\_

Glicemia eventual: \_\_\_\_\_

FONTE: Adaptado de PIATI; FELICETTI, LOPES, 2009.

**ANEXO G- DOAÇÃO DE FITAS GLICÊMICAS**

ESTADO DO CEARÁ  
MUNICÍPIO DE SOBRAL  
SECRETARIA DA SAÚDE E AÇÃO SOCIAL  
Central de Abastecimento Farmacêutica  
CNPJ: 11.407.563/0001-15

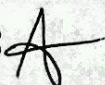
Sobral 08 de março de 2013

Venho através deste comunicar que concedemos 300 fitas de glicemia ao projeto de doutorado intitulado "Elaboração de sorvete funcional diet de leite de cabras, potencialmente probiótico com *Bifidobacterium animalis* e ingredientes prebióticos". Foram doadas as 300 fitas de glicemia no dia 08.03.2013 à Masu Capistrano Camurça, doutoranda deste projeto

Atenciosamente,

Ana Maria Salomão  
Farmacêutica da CAF

Ana Maria Salomão  
Farmacêutica Generalista  
CRF 4807



Processado pela versão FREE de STOIK  
Mobile Doc Scanner de [www.stoik.com](http://www.stoik.com)



## ANEXO H- COLETA DE GLICEMIA DOS VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA - RENORBIO

“Elaboração de sorvete funcional *diet*, de leite de cabras, potencialmente probiótico, com *Bifidobacterium animalis* e ingredientes prebióticos”.

Nome: _____	Voluntário N <sup>o</sup> : _____	_____
Idade: _____ anos	Sexo( ) M ( ) F	Data da 1 <sup>a</sup> Coleta: ____/____/____

## GLICEMIAS CAPILARES

Concentrado de Glicose								
Medição 1 ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	15	30	45	60	90	120
Medição 2 ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	15	30	45	60	90	120
Sorvete								
Medição ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	15	30	45	60	90	120

## ANEXO I- COLETA DE GLICEMIA DOS VOLUNTÁRIOS DIABÉTICOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA - RENORBIO

“Elaboração de sorvete funcional *diet*, de leite de cabras, potencialmente probiótico, com *Bifidobacterium animalis* e ingredientes prebióticos”.

Nome: _____	Voluntário N <sup>o</sup> : _____	_____
Idade: _____ anos	Sexo( ) M ( ) F	Data da 1 <sup>a</sup> Coleta: ____/____/____

## GLICEMIAS CAPILARES

Concentrado de Glicose								
Medição 1 ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	30	60	90	120	150	180
Medição 2 ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	30	60	90	120	150	180
Sorvete								
Medição ____/____/____	Tempo (min) Valor (mg/dl)	0	30	60	90	120	150	180

## ANEXO J- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS VOLUNTÁRIOS DA RESPOSTA GLICÊMICA



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS VOLUNTÁRIOS DA RESPOSTA GLICÊMICA

**Título da Pesquisa:** "Elaboração de sorvete funcional *diet*, de leite de cabras, potencialmente probiótico, com *Bifidobacterium animalis* e ingredientes prebióticos."

**Pesquisadores :** Masu Capistrano Camurça Portela e Profa. Dra. Sueli Rodrigues .  
Departamento de Biotecnologia. Universidade Federal do Ceará-.Av. Mister Hull,s/n.  
Fortaleza-CE CEP: 60020-181 .Telefone:(85)33669656.

Karina Maria Olbrich dos Santos

Embrapa Caprinos e Ovinos. Estrada Sobral-Groaíras Km 04. CEP 62030-970 Sobral-CE  
Telefone: (88) 3112-7444.

**Objetivos da Pesquisa:**

1. Desenvolver sorvetes dietéticos de chocolate, ricos em *Bifidobacterium animalis* e prebióticos.
2. Avaliar a resposta glicêmica do sorvete pelos voluntários diabéticos e não diabéticos. A resposta glicêmica mede o aumento de glicose no sangue após o consumo de um alimento.

**Participação da pesquisa:** A participação neste estudo implica nos seguintes procedimentos:

- Realizar em três dias (1 x por semana) um exame denominado curva glicêmica para qual o voluntário ficará 10- 12 h em jejum(jejum noturno) a partir do dia anterior. Serão ofertados os seguintes produtos: glicose (2 dias) e alimento teste(1 dia).
  - Será coletada uma amostra de sangue capilar da polpa digital (obtida por uma picada em um dos dedos da mão, com material limpo e descartável), em jejum e após a ingestão do produto serão colhidas alíquotas de 30, 60, 90, 120, 150, 180 minutos aos diabéticos aos não diabéticos: 15,30, 45, 60, 90, 120 minutos.
  - O voluntário deverá ficar em repouso durante o período do exame( 2-3 horas).
- Solicitamos sua colaboração durante três sessões, sendo duas vezes para avaliação da resposta glicêmica da glicose e uma para o sorvete a ser testado.

**Benefícios:** os resultados desse estudo poderão ser úteis para pessoas diabéticas, no desenvolvimento de sorvetes dietéticos simbióticos.

**Riscos:** Durante a execução do projeto, todos os materiais utilizados serão descartáveis. Esta pesquisa não envolve riscos a integridade física do voluntário. O sorvete dietético de chocolate a ser consumido foi desenvolvido em rígido controle de higiene. Além disso, você será questionado anteriormente a respeito de prováveis intolerâncias e aversões ao produto, para evitar que você consuma algo que não goste ou cause intolerâncias.

**Compensações:** Você receberá um lanche como forma de agradecimento pela participação nesta fase do estudo. Após a conclusão desta fase experimental, será informado(a) dos principais resultados obtidos.

**Confiabilidade:** será garantido total sigilo a respeito da sua participação nesta pesquisa.

**Direito de recusa:** poderá desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, sem que isso ocasione quaisquer prejuízos.

**Consentimento pós-esclarecido:**

"Estou ciente do que foi exposto sobre o projeto de pesquisa. Declaro que após conveniente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de pesquisa."

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

Masu Capistrano Gamurça Portela

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Universidade Estadual Vale do Acaraú(UVA). Av.Comandante Maurocéllo Rocha Pontes, 150 – Bairro Derby - Sobral-CE CEP:62.042-280.Telefone para contato: (88) 3677-42-55. Telefone da pesquisadora responsável:(85)33669656.