



Sorvete de umbu e mangaba: vida de prateleira e viabilidade do *Bacillus clausii*

*Umbu and mangaba ice cream: shelf life and viability of *Bacillus clausii**

Hennie Beatriz dos Santos Conceição¹; Caroline dos Santos Melo²; Igor Macedo Ferreira³; Ana Mara Oliveira e Silva⁴; Michelle Garcêz de Carvalho⁵

Resumo: Objetivou-se avaliar a vida de prateleira de duas formulações de sorvete de umbu e mangaba adicionado de frutooligosacarídeo (F1: sem *Bacillus clausii*; F2: com *Bacillus clausii*), além de verificar a viabilidade do *Bacillus clausii*. A composição centesimal foi avaliada apenas na F2 no dia 1 de estocagem. Ambas as formulações foram caracterizadas quimicamente (atividade do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil, Ferric Reducing Antioxidant Power, fenólicos totais), físico-quimicamente (pH, acidez total e sólidos solúveis totais - SST) e microbiologicamente (bactérias psicrófilas, coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp.). Observou-se também a viabilidade de *B. clausii* nos dias 1, 30, 60 e 150 de estocagem sob congelamento (-18°C). O sorvete apresentou maior percentual em umidade (56,91g/100g) e os teores de macronutrientes se aproximaram aos dos sorvetes industrializados. O *B. clausii* permaneceu viável ($1,1 \times 10^8$ UFC/g de sorvete) ao longo dos 150 dias conferindo propriedade funcional ao sorvete. As características químicas e físico-químicas variaram entre as formulações, exceto os SST. As formulações de sorvete permaneceram estáveis microbiologicamente durante a estocagem. Sendo assim, o sorvete proposto é uma matriz viável para o *B. clausii* e uma nova opção de sorvete com propriedade funcional.

Palavras-chaves: Sorvete; prebiótico; probióticos; frutas regionais.

Abstract: The objective was to evaluate the shelf life of two formulations of umbu and mangaba ice cream added with fructooligosaccharide (F1: without *Bacillus clausii*; F2: with *Bacillus clausii*), in addition to checking the viability of *Bacillus clausii*. The proximate composition was evaluated only at F2 on day 1 of storage. Both formulations were characterized chemically (activity of the radical 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil, Ferric Reducing Antioxidant Power, total phenolics), physically-chemically (pH, total acidity and total soluble solids - SST) and microbiologically (bacteria psychrotrophils, total and thermotolerant coliforms, coagulase positive Staphylococci and *Salmonella* sp.). The viability of *B. clausii* was also observed on days 1, 30, 60 and 150 of storage under freezing (-18 ° C). Ice cream had a higher percentage of moisture (56.91g / 100g) and the macronutrient content was close to that of industrialized ice cream. *B. clausii* remained viable (1.1×10^8 UFC / g of ice cream) over the 150 days conferring functional property to the ice cream. Chemical and physical-chemical characteristics varied between formulations, except for SST. The ice cream formulations remained microbiologically stable during storage. Therefore, the proposed ice cream is a viable matrix for *B. clausii* and a new ice cream option with functional properties.

Keywords: Ice cream; prebiotic; probiotics; regional fruits.

*Autor correspondente. E-mail: michellegarcezpi@hotmail.com

Recebido em 20.03.2020. Aceito em 30.03.2020

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20200006>

¹Hennie Beatriz dos Santos Conceição, Discente do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Nutrição, Campus São Cristóvão, SE, Brasil, CEP:

49100-000. Telefone: (79) 3194-7498. E-mail: biaa.color@hotmail.com

²Caroline dos Santos Melo, Discente do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Nutrição, Campus São Cristóvão, SE, Brasil, CEP: 49100-000. Telefone: (79) 3194-7498. E-mail: carolinemelonutri19@gmail.com

³Igor Macedo Ferreira, Técnico do laboratório de microbiologia de alimentos do Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Sergipe, Campus São Cristóvão, SE, Brasil, CEP: 49100-000. Telefone: (79) 3194-7498. E-mail: engigormacedo@gmail.com

⁴Ana Mara Oliveira e Silva, Doutora em Ciência de Alimentos, Professora do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Nutrição, Campus São Cristóvão, SE, Brasil, CEP: 49100-000. Telefone: (79) 3194-7498. E-mail: anamaraufs@gmail.com

⁵*Michelle Garcêz de Carvalho, Doutora em Ciência de Alimentos, Professora do Curso de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe, Departamento de Nutrição, Campus São Cristóvão, SE, Brasil, CEP: 49100-000. Telefone: (79) 3194-7498. E-mail: michellegarcezpi@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O sorvete é gelado comestível produzido a partir da emulsão de gorduras e proteínas ou de uma mistura de água e açúcares. Podem ser adicionados de outros ingredientes desde que não o descaracterizem (BRASIL, 2005). É um produto considerado calórico devido à presença de carboidratos, proteína e gordura do leite e em sua maioria possui baixo teor de antioxidantes, fibras alimentares e minerais (ERKAYA et al., 2010).

O mercado brasileiro de sorvetes está dividido entre os produtos industrializados e os fabricados em escala artesanal (Silva; Bolini, 2006), estando entre as inovações no desenvolvimento de sorvetes a substituição de aditivos por polpa de frutas (GRANATO et al., 2018).

Das frutas consumidas no Nordeste brasileiro, destaca-se o umbu (*Spondias*

tuberosa Arruda Câmara) e a mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), as quais são consumidas *in natura* ou na forma de doces, geleias, sucos, licores e sorvetes (GANGA et al., 2009; LINS NETO et al., 2010).

O umbu é originário da região semi-árida brasileira, possui coloração verde-amarelado, formato ovóide com sabor doce (LORENZI et al., 2006), apresentando sólidos solúveis em torno de 15,5°Brix, é um fruto ácido devido seu pH (2,43) (BASTOS et al., 2016) e fonte de ácido ascórbico com 24,10 mg vitamina C/100g de polpa *in natura* (IBGE, 2004). A mangaba é encontrada na floresta amazônica, caatinga, cerrado e mata atlântica. Seu fruto é uma baga, apresenta variação do tamanho, formato, coloração entre amarelada ou esverdeada (GANGA et al., 2009). Apresenta em média 33mg de vitamina C/100g de polpa *in natura*

(IBGE, 2004), além disso, é considerado um fruto muito ácido devido seu pH (3,93) e apresentando sólidos solúveis em torno de 17,04°Brix (NASCIMENTO et al., 2014).

Além da adição de polpas de frutas como inovações da indústria sorveteira, tem-se adicionado ingredientes alimentares como prebióticos e probióticos os gelados comestíveis com o propósito de torná-los funcionais (CRUZ et al., 2009). Os prebióticos são fibras não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro estimulando seletivamente o crescimento e atividade de uma ou mais bactérias benéficas, *Lactobacillus e Bifidobacterium*, do trato gastrointestinal, melhorando a saúde do seu hospedeiro”, como os frutooligossacarídeo (FOS) (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Os probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo (BRASIL, 2018). As espécies de bactérias formadoras de esporos, como *Bacillus*, *Sporolactobacillus* e *Brevibacillus* são ótimas opções de utilização de probióticos em alimentos processados uma vez que os esporos são resistentes a fatores intrínsecos dos alimentos como, por exemplo, pH, temperatura (HONG et al., 2005). Das bactérias probióticas esporuladas usadas o *Bacillus* sp. é o gênero mais utilizado no

mercado atual com destaque para o *Bacillus clausii* (LAKSHMI et al., 2017). Diante do exposto, a elaboração de sorvete com umbu e mangaba, é mais uma nova opção de produto com frutas regionais, além de ser um produto com potencial para propriedades funcionais. Assim, objetivou-se avaliar a vida de prateleira de formulações de sorvete de umbu e mangaba, adicionado de frutooligossacarídeo, além de verificar a viabilidade do *Bacillus clausii* no sorvete congelado por durante 150 dias de estocagem.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Elaboração do sorvete

Para a elaboração do sorvete foram utilizados os seguintes ingredientes: polpa de umbu pasteurizada, polpa de mangaba pasteurizada, ovo em pó, leite UHT, creme de leite, açúcar cristal, frutooligossacarídeo, liga neutra, *Bacillus clausii*, emulsificante e gordura hidrogenada. As formulações não serão demonstradas devido ao pedido de patente do produto proposto. Todas as formulações continham 5% de frutooligossacarídeo por porção do produto pronto (60g).

2.1.1 Concentração das polpas de umbu e mangaba

Usou-se polpa de umbu e mangaba da mesma marca e lote comercial. Antes da desidratação, cada embalagem das polpas foi higienizada (solução clorada a

200ppm/10 minutos), seguido do enxágue, adição da polpa em panela de inox e cocção em fogão por 90°C/ 60 minutos, com agitação constante, resfriamento, acondicionamento em sacos de polietileno e congelamento a -18°C até o início do preparo do sorvete. Esse procedimento teve como objetivo reduzir a umidade até 50%, sendo essa realizada em separado na polpa de umbu e polpa de mangaba.

2.1.2 Processamento do sorvete

Todos os ingredientes foram pesados em balança semi-analítica e reservados sob refrigeração (4°C). Os ingredientes (exceto emulsificante e a liga neutra) foram misturados em liquidificador com velocidade 3 por 2 minutos, em seguida adicionados em panela de inox e submetidos à pasteurização a 80°C/ 5 minutos com agitação constante, seguida do resfriamento em banho de gelo até 5°C. A calda resultante da pasteurização foi filtrada em peneira de inox e acondicionada em potes de polietileno com tampa, e mantida sob refrigeração (<5°C) por 8h para que ocorresse o processo de maturação da calda. Posteriormente, foi adicionado à calda maturada, o emulsificante e a liga neutra. Foram misturados em batedeira por 2 minutos, em seguida misturados em sorveteira por 15 minutos sob refrigeração (<5°C). Posteriormente, a calda transferida para os potes de polietileno com tampa, e

submetidos ao congelamento em freezer (-18°C) por 5 horas (SOUZA et al., 2010). Foram elaboradas duas formulações com as seguintes descrições: F1 (sem *Bacillus clausii*) e F2 (com *Bacillus clausii*), as quais foram mantidas sob congelamento a -18±2°C (GE SMART FRESH 410, BRASIL) e avaliadas nos dias 1, 30, 60 e 150.

2.2 Adição do *Bacillus clausii* ao sorvete

Os esporos do *Bacillus clausii* foram adquiridos comercialmente em farmácia sob a forma de flaconetes (Enterogermina®), contendo segundo informações do fabricante, 10⁹ UFC de esporos do microrganismo por unidade de flaconete (5mL). A ativação do *Bacillus clausii* foi realizada em meio Brain Herat Infusion (BHI) na proporção 1:1 v/v, por 24h a 37°C em banho-maria (SOUZA, 2017).

Após a ativação do *B. clausii* adicionaram-se 10mL do mesmo em cada 50g da formulação 2. Da amostra inoculada com *B. clausii* retiraram-se 25g para diluição em 225mL de solução salina a 0,9% obtendo-se a diluição 10⁻¹, posteriormente seguiu-se com o preparo das diluições até a diluição 10⁻⁷. Posteriormente foram semeadas em triplicata cada amostra. As placas com meio de cultura Mueller Hinton (MH) (30mL), receberam 0,5mL da amostra diluída e foi feito o espalhamento na placa

(plaqueamento superficial) com auxílio da alça de Drigalski até o meio de cultura ter absorvido todo o conteúdo da amostra. Foram incubadas as placas invertidas, em estufa a 31°C/48 horas em atmosfera normal (sem remoção de oxigênio). Finalizada a incubação, foram selecionadas as placas com 25 a 250 colônias para calcular o número de UFC/g ou mL, em função do número de colônias, volume da diluição e diluição inoculada. Foram separadas de cada placa 3 colônias típicas de *B. clausii*. As colônias obtidas foram submetidas ao teste de catalase e coloração Gram (SILVA et al., 2010). Verificou-se a viabilidade do *B. clausii* no sorvete de umbu e mangaba (formulação 2) ao longo de 150 dias de estocagem.

2.3 Composição centesimal e valor calórico do sorvete

A composição centesimal (BRASIL, 2008) e o valor calórico (Damiani et al., 2009) foram determinados apenas na formulação 2 (com *Bacillus clausii*), no primeiro dia de estocagem. A umidade foi determinada pelo peso constante após secagem em estufa a 105°C; proteínas foram avaliadas pelo método de determinação de nitrogênio pelo processo de digestão de *Kjeldahl* e utilizando o valor de conversão de nitrogênio igual a 6,38; lipídios totais determinados pelo método de extrator de *Soxhlet*, utilizando éter como reagente.

Além disso, através de cálculos por diferença, foram determinados os carboidratos totais (CT: 100 - (umidade + cinzas+ proteínas + lipídios), sendo todos os valores expressos em g/100g. O valor calórico total foi estimado conforme os valores de conversão: 4kcal/g para proteínas e carboidratos e 9kcal/g para os lipídios (BRASIL, 2003).

2.4 Vida de prateleira do sorvete: avaliação físico-química, química e microbiológica

As formulações de sorvete de umbu e mangaba foram avaliadas em triplicata nos dias 1, 30, 60 e 150 dias de estocagem. Foram adotados os seguintes parâmetros físico-químicos (Brasil, 2008) e químicos: pH, com auxílio de um potenciômetro (Jenway, 3505, Inglaterra); sólidos solúveis totais (SST) expressos em °Brix; fenólicos totais por meio do método Folin-Ciocalteu (SWAIN; HILLIS, 1959); DPPH (% de varredura do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil) de acordo com a metodologia de Brand-Williams *et al.* (1995) e FRAP (Poder de Redução do Ferro) de acordo com a metodologia de BENZIE & STRAIN (1996). Para a análise de fenólicos totais, DPPH e FRAP foram preparados extratos na proporção de 1g de amostra/10mL de solução de metanol/água (80:20). O conteúdo de fenólicos totais foi expresso em mmol de Equivalentes de ácido gálico/100g amostra. O DPPH foi

expresso em micromol de EqTrolox/100g, correspondente à quantidade de amostra necessária para neutralizar 50% da solução de DPPH. O FRAP foi expresso em kg Equivalente de Sulfato Ferroso/100g de amostra.

No que se refere a avaliação microbiológica as formulações de sorvete foram analisadas quanto as bactérias psicotróficas, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* sp. As bactérias psicotróficas e *Staphylococcus* coagulase positiva foram expressas em unidades formadoras de colônias (UFC)/g de sorvete, os coliformes totais e termotolerantes foram expressos em número mais provável (NMP)/ g de sorvete, enquanto que a *Salmonella* sp. foi expressa em ausência ou presença em 25g de sorvete (SILVA et al., 2010). Os padrões microbiológicos foram verificados com base na RDC nº 12 de 2 janeiro 2001 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001).

2.5 Análise Estatística

Os dados experimentais foram apresentados como médias \pm desvio padrão (n=3). Quando apropriado, a comparação de médias entre os dois sorvetes, no mesmo dia de análise, foi realizada por teste t-Student não pareado. Comparações múltiplas de médias (ANOVA unifatorial seguida do teste de Tukey) foi empregada para avaliar o efeito do tempo de

refrigeração (0 a 150 dias) nas propriedades físico-químicas e químicas dos sorvetes. Paraisso, a homocedasticidade de todo o conjunto de dados foi formalmente atestada pelo teste de Brown-Forsythe usando o *software* Statistica v. 13.3 (Statsoft, Tulsa, EUA). Valores de probabilidade (p-valor) abaixo de 0,05 foram considerados significativos nas análises inferenciais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição centesimal e valor calórico do sorvete de umbu e mangaba com *Bacillus clausii*

Na Tabela 1, está disposta a composição centesimal e o valor calórico do sorvete de umbu e mangaba com *Bacillus clausii*. O sorvete de umbu e mangaba com *B. clausii* apresentou a umidade como maior componente (56,91g/100g de sorvete), seguido dos carboidratos totais (22,48g/100g de sorvete), lipídios (16,10g/100g de sorvete), proteína (4,04g/100g de sorvete), cinzas (0,47g/100g de sorvete) e valor calórico (251,01Kcal/100g de sorvete) (Tabela 1). O sorvete de umbu e mangaba apresentou teores de macronutrientes (lipídios, proteínas e carboidratos) próximos ao referenciado pelo IBGE (2004) para sorvete industrializado de qualquer sabor.

O conteúdo de umidade do sorvete (Tabela 1) pode ser atribuído as frutas que compõem o sorvete uma vez que

a mangaba possui 82,40% de umidade (Silva et al., 2008) e umbu 91,3% de umidade (Santos et al., 2010), e essas foram utilizadas no lugar de aditivos (saborizantes e corantes). O elevado teor de umidade, influencia a atividade de água na matriz alimentar contribuindo para sobrevivência de bactérias probióticas (BURITI, 2005). Já os carboidratos influenciam as propriedades sensoriais e características reológicas do sorvete, atribuindo sabor doce, aumentando viscosidade, proporcionando suavidade da

textura e determinando o ponto de congelamento (Mosquim, 1999; Kato, 2002; Souza et al., 2010) além de serem utilizados como fonte de energia pelo *Bacillus clausii* (NIELSEN et al., 1995). Os lipídios favorecem a estabilidade da emulsão do sorvete, além de agregar sabor e textura ao sorvete (ROLON et al., 2017).

Contudo, as proteínas contribuem para formação das bolhas de ar que são fundamentais para aeração do sorvete (SOUZA et al., 2010).

Tabela 1. Composição centesimal e valor calórico do sorvete de umbu e mangaba (F2: Formulação com *Bacillus clausii*).

Avaliações	Sorvete de umbu e mangaba*	Sorvete industrializado de qualquer sabor [#]
Umidade	56,91±0,21	-
Cinzas	0,47±0,01	-
Lipídios	16,10±0,36	11,00 g
Proteínas	4,04±0,45	3,60 g
Carboidratos totais	22,48±0,55	25,13 g
Energia	251,01±2,65	206,00 Kcal

*Média e desvio padrão. Umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos totais: são expressos em (%): g/100g; Energia: expressa em kcal/100g de amostra. [#]Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2008-2009).

3.2 Vida de prateleira do sorvete: Avaliação físico-química, química e microbiológica.

Na Tabela 2 estão as características físico-químicas e químicas do sorvete de umbu e mangaba com e sem *Bacillus clausii* avaliados durante 150 dias de estocagem.

Dos parâmetros avaliados os SST foi o único que não variou entre as formulações. Acidez e o pH não variaram ao longo da estocagem na formulação 1.

Contudo, observa-se que a acidez foi menor nos dias 1 e 150 na formulação 2. Já o pH da formulação 1 foi maior durante os 150 dias, sendo igual ao da formulação 2 apenas do dia 60 de estocagem. As formulações de sorvete de umbu e mangaba podem ser classificadas como um produto muito ácido (Franco; Landgraf, 2005), além disso, a formulação com *Bacillus clausii* (F2) apresentou em sua maioria um menor pH (Tabela 2), podendo estar relacionado a adição do probiótico ao

sorvete, o qual estava na forma diluída como está descrito no item 2.2 ou como também pode ser explicado pela presença das polpas de frutas que podem ter influenciado o pH e acidez (CORREIA et al., 2008). Apesar do pH ideal do *Bacillus*

clausii para desenvolvimento ser 8,0 (Nielsen et al., 1995), esse probiótico produz esporos que resistem aos fatores intrínsecos, como pH ácido da matriz alimentícia (HONG et al., 2005).

Tabela 2. Características físico-química e químicas do sorvete de umbu e mangaba sem e com *Bacillus clausii* ao longo de 150 dias de estocagem.

Resposta	Tempos (dias)	F 1*	F 2*	P-valor ¹
Acidez	1	15,64±0,42 ^a	14,58±0,36 ^b	0.030
	30	16,57±0,46 ^a	16,66±0,25 ^a	0.788
	60	11,62±0,15 ^a	11,39±0,13 ^a	0.120
	150	11,56±0,01 ^a	10,26±0,25 ^b	0.003
	P-valor ²	<0.001	<0.001	
pH	1	3,48±0,08 ^a	3,31±0,01 ^b	0.017
	30	3,57±0,04 ^a	3,29±0,00 ^b	0.000
	60	3,31±0,03 ^a	3,33±0,01 ^a	0.349
	150	3,51±0,06 ^a	3,28±0,02 ^b	0.003
	P-valor ²	0,002	0,002	
Sólidos Solúveis Totais (SST)	1	27,00±1,00 ^a	26,67±0,58 ^a	0.643
	30	27,33±0,58 ^a	26,33±0,58 ^a	0.101
	60	26,00±1,73 ^a	27,33±1,15 ^a	0.329
	150	29,67±0,58 ^a	26,67±0,58 ^a	0.551
	P-valor ²	0,018	0,480	
DPPH	1	63,44±3,11 ^a	65,98±1,29 ^a	0.260
	30	90,77±0,61 ^a	88,49±0,17 ^b	0.003
	60	42,44±3,42 ^b	62,46±3,06 ^a	0.002
	150	79,30±2,12 ^a	58,12±3,52 ^b	0.017
	P-valor ²	<0.001	<0.001	
FRAP	1	1494,00±15,37 ^a	1403,17±9,25 ^b	0.001
	30	1262,17±38,48 ^a	1226,33±35,64 ^a	0.302
	60	1239,67±42,32 ^a	1175,00±15,25 ^a	0.067
	150	1481,83±77,59 ^a	1302,25±16,13 ^a	0.147
	P-valor ²	<0.001	<0.001	
Fenólicos Totais	1	0,20±0,01 ^a	0,11±0,00 ^b	0.000
	30	0,13±0,01 ^a	0,13±0,01 ^a	0.852
	60	0,12±0,00 ^b	0,15±0,01 ^a	0.003
	150	0,14±0,00 ^b	0,16±0,02 ^a	0.003
	P-valor ²	<0.001	0,002	

*Média e desvio padrão. Acidez total: expressos em g de ácido cítrico/100g de amostra; Sólidos solúveis totais (SST): expressos em °Brix. Fenólicos totais (FT): expresso em mmol de equivalentes de ácido gálico/100g amostra; DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil): expresso em micro mol equivalente de trolox/100 g de amostra; FRAP (Redução do ferro): expresso em Kg equivalente de sulfato ferroso/100 g de amostra.¹Letras diferentes na linha indicam diferença significativa pelo teste t-Student não pareado; ²Valor de probabilidade obtido pela análise de variâncias (ANOVA) unifatorial. F1 (Formulação 1): sem *Bacillus clausii*; F2 (Formulação 2): com *Bacillus clausii*.

O DPPH foi igual entre as formulações de sorvete apenas no dia 1, variando estatisticamente (p<0,05) sendo

menor e maior no dia 60, na formulação 1 e formulação 2, respectivamente. O FRAP da formulação 1 permaneceu estável

durante a estocagem, sendo esse parâmetro menor na formulação 2 apenas no dia 1, e estável nos outros dias de estocagem. Os fenólicos totais, apenas no dia 30, não variam entre as formulações de sorvete de umbu e mangaba, além disso, verifica-se que a atividade dos fenólicos regrediu na formulação 1 e progrediu na formulação 2 ao longo da estocagem (Tabela 2).

O DPPH, FRAP e fenólicos totais referem-se à atividade antioxidante nos alimentos (WU et al., 2005). Os compostos antioxidantes (flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, vitamina E) influenciam na conservação de alimentos, elevando a vida de prateleira dos produtos de 15 a 200%, pois reagem com radicais livres reduzindo ou evitando as reações de degradação (SOARES, 2002).

Na Tabela 3, estão expostos a estabilidade microbiológica das formulações de sorvete de umbu e mangaba (sem *Bacillus clausii* - F1 e com *Bacillus clausii* - F2) ao longo de 150 dias de estocagem.

Observa-se que os resultados das bactérias psicotróficas e *Staphylococcus* coagulase positiva foram $<1 \times 10^2$ (estimado) UFC/ g de sorvete de umbu e mangaba, enquanto que os coliformes totais e coliformes termotolerantes foram <3 NMP/g de sorvete de umbu e mangaba. A *Salmonella* sp foi ausente em 25g de sorvete de umbu e mangaba.

Demonstrando que as formulações de sorvete foram processadas em condições higiênico-sanitárias adequadas (Tabela 3).

Esses resultados evidenciam que não houve crescimento de colônias típicas de nenhuma das bactérias avaliadas, mas mesmo não havendo crescimento delas, os resultados precisam ser expressos (APHA, 2001; SILVA et al., 2010). De acordo com a RDC nº 12, sorvete a base de leite, só pode conter até 50NMP de coliformes termotolerantes/g de sorvete, 500 UFC de *Staphylococcus* coagulase positiva/g de sorvete e ausência de *Salmonella* sp em 25 g de sorvete (BRASIL, 2001), confirmando que o sorvete de umbu e mangaba (Tabela 3) atende aos padrões microbiológicos estabelecimentos pela legislação, sendo apropriado para o consumo humano, como também, essas característica podem contribuir para a viabilidade do probiótico uma vez que não houve competição de substratos com outros microrganismos.

Embora a Legislação brasileira (BRASIL, 2001) não preconize limites para a contagem de bactérias aeróbias psicotróficas em sorvete, elas, assim como as bactérias do grupo dos coliformes podem ser usadas como indicadores de qualidade microbiológica dos alimentos. A avaliação do *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp, se faz necessário para prevenir a ocorrência de doenças, uma vez que em determinados níveis podem

ocasionar toxinfecção alimentar (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Tabela 3. Avaliação microbiológica do sorvete de umbu e mangaba sem e com *Bacillus clausii* ao longo de 150 dias de estocagem.

Parâmetros*	Tempos (dias)	F1	F2
Bac. Psicrotróficas	1	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	30	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	60	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	150	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
Coliformes totais	1	<3	<3
	30	<3	<3
	60	<3	<3
	150	<3	<3
Coliformes termotolerantes	1	<3	<3
	30	<3	<3
	60	<3	<3
	150	<3	<3
<i>E. coagulase</i> positiva	1	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	30	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	60	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
	150	<1 X 10 ² (estimado)	<1 X 10 ² (estimado)
<i>Salmonella</i> sp.	1	Ausência	Ausência
	30	Ausência	Ausência
	60	Ausência	Ausência
	150	Ausência	Ausência

*Média da triplica de cada diluição. Os coliformes são expressos em NMP/ g de sorvete. As bactérias psicrotróficas e *Staphylococcus coagulase* positiva foram expressas em UFC/ g de sorvete. A *Salmonella* sp foi expressa em ausência ou presença em 25g de sorvete. F1 (Formulação 1): sem *Bacillus clausii*; F2 (Formulação 2): com *Bacillus clausii*.

Os resultados apresentados pelo sorvete de umbu e mangaba (Tabela 3) se contrapõe ao encontrado por Pazianotti et al. (2010) uma vez que esse identificou em amostras de sorvetes artesanais e industriais comercializados na região de Arapongas-PR, contaminação com coliformes totais e coliformes termotolerantes acima dos padrões estabelecidos, especulando que a

contaminação poderia ser da pasteurização ineficiente do leite, equipamentos e utensílios contaminados, baixa qualidade da água ou operação inadequada dos manipuladores.

3.3 Viabilidade do *Bacillus clausii* em sorvete

A viabilidade do *Bacillus clausii* no sorvete de umbu e mangaba está disposta na Tabela 4.

Tabela 4. Número de UFC do *Bacillus clausii* no sorvete de umbu e mangaba ao longo de 150 dias de estocagem.

Tempos (dias)	UFC do <i>Bacillus clausii</i> /g de sorvete
1	$5,0 \times 10^8$
30	$5,0 \times 10^8$ (estimado)
60	$5,0 \times 10^8$ (estimado)
150	$1,0 \times 10^8$ (estimado)

UFC: Unidades formadoras de *Bacillus clausii*/g de sorvete

Diante dos resultados apresentados na Tabela 4, verifica-se que o *Bacillus clausii* permaneceu viável ao longo dos 150 dias de estocagem do sorvete de umbu e mangaba, variando de $1,0 \times 10^8$ a $5,0 \times 10^8$ UFC *Bacillus clausii*/g de sorvete. Sendo assim, de acordo com a legislação brasileira, para que um alimento tenha propriedade probiótica, esse deve possuir uma quantidade mínima entre 10^8 a 10^9 UFC/g (BRASIL, 1999), sendo ainda necessário a comprovação analítica e clínica dessas propriedades funcionais ou de saúde para que seja possível alegar essa informação no rótulo do alimento (BRASIL, 2018). Diante disso, o sorvete de umbu e mangaba mostrou ser é um meio propício para a viabilidade do *Bacillus clausii* apresentando assim propriedade funcional (Tabela 4). Além disso, prova que os esporos do *Bacillus clausii* são resistentes aos fatores intrínsecos do produto avaliado, como temperatura e pH (HONG et al., 2005).

4. Conclusão

O sorvete de umbu e mangaba com *Bacillus clausii*, apresentaram teores lipídicos, proteicos e de carboidratos totais próximos aos encontrados em sorvetes industrializados. Dos parâmetros avaliados os SST foram os únicos que não variaram entre as formulações ao longo da estocagem de 150 dias. No que se refere a atividade antioxidante, observa-se que o sorvete proposto é fonte significativa de compostos bioativos.

As formulações de sorvete de umbu e mangaba, permaneceram sem crescimento microbiano ao longo da estocagem. Já no que se refere as unidades formadoras de colônias do *Bacillus clausii*, esse manteve-se com contagem de colônias para caracterizar o sorvete como um produto com propriedade funcional, indicando que o sorvete proposto é uma matriz propícia para a viabilidade do *B. clausii*.

A adição do *Bacillus clausii* e FOS elevou o valor comercial do sorvete pois

conferiu ao sorvete a propriedade funcional, sendo essa uma nova opção alimento funcional, como também uma nova forma

Referências

1. APHA. American Public Health Association. Committee on Microbiological for Foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.
2. BASTOS, J.S. et. al. Características físico-químicas da polpa de umbu (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara) comercial: Efeito da concentração. **Journal of Bioenergy and Food Science**, Macapá, v.3, n.1, p.11-16, jan./mar., 2016.
3. BENZIE, I.; STRAIN, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p.70-76, 1996.
4. BRAND-WILLIAMS, W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie**, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.
5. BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução n. 19 de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 maio 1999.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 03 de janeiro de 2001.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 de dezembro de 2003.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. RDC 266, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para gelados comestíveis e preparados para gelados comestíveis. **Diário Oficial da União**. Brasília, 23 de setembro de 2005.
9. BRASIL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, p. 1020, 2008.
10. BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº 241, de 26 de julho de 2018. Regulamento técnico sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 de julho de 2018.
11. BURITI, F.C.A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico** [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo (USP), 2005. 86 p.
12. CORREIA, R.T.P. et al. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 29, n.2, 2008.

de aproveitamento de dois frutos regionais, o umbu e a mangaba.

13. CRUZ, A.G. et al. Ice-cream as a probiotic food carrier. **Food Research International**, [s.l.], v. 42, n. 9, p.1233-1239, nov. 2009.
14. DAMIANI, C. et al. Perfil de compostos voláteis de frutos peki frescos cortados armazenados sob diferentes temperaturas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 435-439, junho de 2009.
15. ERKAYA, T. et al. Influence of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) addition on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream. **Food Research International**, [s.l.], v. 45, n. 1, p.331-335, jan. 2012.
16. FRANCO, B.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu. 2005.184 p.
17. GANGA, R.M.D. et al. Parâmetros genéticos em progênies de *Hancornia speciosa* Gomes do Cerrado. **Sci. For.**, Piracicaba, v. 37, n. 84, p. 395-404, dez. 2009.
18. GIBSON, G.R et al. Dietary Modulation of Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, junho. 1995. doi: 10.1093/jn/125.6.1401.
19. GRANATO, D. et al. Effects of herbal extracts on quality traits of yogurts, cheeses, fermented milks, and ice creams: a technological perspective. **Current Opinion In Food Science**, [s.l.], v. 19, p.1-7, fev. 2018.
20. HONG, H.A. et al. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 4, p. 813–835, Sep. 2005. doi: 10.1016/j.femsre.2004.12.001.
21. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 – POF. Rio de Janeiro, 2004.
22. KATO, N.M. **Propriedades tecnológicas de formulações de sorvete contendo concentrado proteico de soro (CPS)** [tese] Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2002. 50f.
23. LAKSHMI, S.G. et al. Safety assessment of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore-forming probiotic. **Toxicol Rep**, v. 4, n. 1, p. 62–71, Jan. 2017.
24. LINS NETO, E.M.F. et al. Conhecimento e manejo tradicional de umbu (*Spondias tuberosa* Anacardiaceae): espécie endêmica do semiárido nordestino. **Economic Botany**, v. 64, n. 1, p. 11–21, 2010.
25. LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas de consumo in natura**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 640 p.
26. MOSQUIM, M.C.A. **Fabricando sorvete com qualidade**. São Paulo: Varela, 1999. 62p.
27. NASCIMENTO, R.S.M. et al. Caracterização física e físico-química de frutos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) no oeste da Bahia. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande, v. 18, n. 8, p. 856-860, Aug. 2014.
28. NIELSEN, P. et al. Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains: proposal for nine new species. **Microbiology**, v. 141, p. 1745-1761, 1995.
29. PAZIANOTTI, L. et al. Características microbiológicas e físico-químicas de sorvetes artesanais e industriais comercializados na região de Arapongas-PR. **Revista do**

Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 65, n. 377, p. 15-20, 2010.

30. ROLON, M.L. et al. Effect of fat content on the physical properties and consumer acceptability of vanilla ice cream. **J. Dairy Sci**, v. 100, p. 5217–5227, 2017.

31. SANTOS, M.B. dos et al. Caracterização e qualidade de frutos de umbu-cajá (*Spondias tuberosa* X *S. mombin*) provenientes do Recôncavo Sul da Bahia. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1089-1097, Dec. 2010.

32. SILVA, K.; BOLINI, H. M. A. Avaliação sensorial de sorvete formulado com produto de soro ácido de leite bovino. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 116-122, Mar. 2006.

33. SILVA, M.R. et al. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 6, p. 1790-1793, Sept. 2008.

34. SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. 624 p.

35. SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 15, n. 1, p.71-81, jan. 2002.

36. SOUZA, J.C.B. et al. Ice cream: composition, processing and addition of probiotic. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 21, n. 1, p. 155-165, jan./mar. 2010.

37. SOUZA, A.L.C. **Desenvolvimento de novos produtos probióticos a partir do caju (*Anacardium occidentale* L.)** [tese] São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe. 2017. 110f.

38. SWAIN, T; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.: the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Agriculture and Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

39. WU, LI-CHEN et al. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 95, n. 2, p.319-327, mar. 2006.