



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR  
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS  
CAMPUS POMBAL**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO MINAS FRESCAL  
ADICIONADO DE BACTÉRIAS (*Lactobacillus acidophilus*)**

**SOARES ELIAS RODRIGUES LIMA**

**POMBAL- PB  
2013**

**SOARES ELIAS RODRIGUES LIMA**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO MINAS FRESCAL  
ADICIONADO DE (*Lactobacillus acidophilus*)**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande, como um dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dra. Gerla Castello Branco Chinelate  
**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup>. MSc. Estefânia Fernandes Garcia

**Pombal – PB  
2013**

**Soares Elias Rodrigues Lima**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO MINAS FRESCAL  
ADICIONADO DE (*Lactobacillus acidophilus*)**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Universidade Federal de Campina Grande do Campus de Pombal, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

**APROVADA EM** \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

**Prof<sup>a</sup> MSc. Estefânia Fernandes Garcia – UATA/CCTA/ UFCG  
Presidente**

---

**Prof<sup>a</sup> Dra. Mônica Tejo Cavalcanti – UATA/CCTA/ UFCG  
Examinadora Interna**

---

**Prof<sup>a</sup> Dra. Gerla Castello Branco Chinelate – UATA/CCTA/ UFCG  
Examinadora Externa**

**POMBAL-PB**

**2013**

*Dedico este trabalho a minha família pelo carinho e por estarem ao meu lado em todos os momentos que mais precisei.*

**Dedico.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por sempre iluminar meu caminho durante esta longa caminhada, me ajudando a vencer todos os obstáculos e conseguir esta vitória;

A minha orientadora Profa. Dra. Gerla Castelo Branco Chinelate por toda dedicação, apoio e seus ensinamentos prestados na concretização desta monografia;

A minha co-orientadora Profa. Estefânia Fernandes Garcia pelo apoio e seus ensinamentos prestados na concretização desta monografia;

A todos os professores que me acompanharam durante a graduação, pela paciência, ensinamentos e dedicação nas aulas, todos de forma muito especial contribuíram para a minha formação profissional e para a realização deste trabalho, a todos vocês os meus mais sinceros e eternos agradecimentos;

Aos meus pais Dileuza e Expedito, pelo amor e dedicação que sempre tiveram comigo, por estarem ao meu lado em todos os momentos me apoiando e incentivando, vocês são o que eu tenho de mais precioso;

Aos meus Tios pelo apoio, incentivo, sobretudo de forma especial e particular a Nilson Lima e Maria Eulina, você foram determinantes em toda minha jornada, meu orgulho e exemplo;

Aos meus irmãos Paulo, Luine e Kassia que sempre estiveram ao meu lado acreditando que eu seria capaz, pelo apoio e confiança em mim depositada, o meu muito obrigado;

A Gabriela, Amanda e Janailson, pelo apoio durante a realização das análises deste trabalhos;

Aos amigos que fiz no decorrer do curso, Danise, Natália, Pierre, Wiaslan, Gardênia e Angra, por estarem ao meu lado durante esses cinco anos que se passaram, vocês foram de fundamental importância para que este trabalho se concretizasse, a todos o meu eterno agradecimento;

Aos meus colegas de apartamento, Elysson, Angleib, e Tadeu, pelo apoio e confiança em mim depositada, o meu muito obrigado;

Finalmente, a todos que de forma direta e indireta fizeram parte desta longa jornada, meus eternos e sinceros agradecimentos, Muito obrigado.

## RESUMO

O papel cada vez mais influente da indústria alimentícia sobre a dieta e estilo de vida da população vem acompanhado do desafio de atender a demanda dos consumidores por produtos com apelo funcional. Entre esses produtos o queijo minas frescal tem se mostrado um excelente veículo para microrganismos probióticos por ser uma variedade não maturada, para o consumo imediato e de curta durabilidade no mercado. Este trabalho teve como objetivo Caracterizar os aspectos físico-químicos, funcionais, microbiológicos e sensoriais de queijos Minas Frescal adicionado de bactérias lácticas. O leite foi adquirido de uma fazenda da região de Pombal, sendo transportado em caixas isotérmicas até o Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal, onde foi armazenado sob refrigeração até o momento do processamento dos queijos. Foram utilizadas culturas liofilizadas, seguindo as instruções do fabricante (1% p/v). Em todos os tratamentos, empregou-se “Coalho Brasil”, na proporção de 50 g/100L de leite, baseado no poder de coagulação a 36°C, tendo sido acrescentado após a adição da(s) cultura(s). A salga dos queijos foi realizada com a adição de sal na parte superficial do queijo. Durante a dessoragem foi realizado processo de viragem dos produtos (2 vezes, no total). Após o término das viragens, os queijos foram embalados em potes de polietileno próprios para a embalagem de alimentos (500 g), e armazenados sob refrigeração a 5±1°C, por até 28 dias. De acordo com os resultados físico-químicos obtidos, o tratamento Q1 teve uma queda do pH e um pequeno aumento da acidez. A umidade nos dois tratamentos Q1 e Q2 tiveram redução quanto à umidade. Os queijos apresentaram uma excelente qualidade microbiológica, indicando boas condições higiênico-sanitárias de processamento e eficiência do tratamento térmico utilizado. A análise de viabilidade mostrou que o queijo apresenta potencial probiótico com populações acima do mínimo requerido para um produto probiótico. A avaliação sensorial mostrou que o queijo probiótico teve boa aceitação pelos consumidores para os atributos analisados.

**Palavras - chave:** queijo minas frescal, probiótico, *Lactobacillus acidophilus*

## ABSTRACT

The increasingly influential role in the food industry about the diet and lifestyle of the population comes with the challenge of meeting consumer demand for products with functional appeal. Among these products cheese frescal has been an excellent vehicle for probiotic microorganisms to be a variety not matured, for immediate consumption and short durability on the market. This study aimed to characterize the physical-chemical, functional, microbiological and sensory Minas Frescal added lactic acid bacteria. The milk was purchased from a farm in the region of Pombal, being transported in cool boxes to the Technology Laboratory of Animal Products, which was stored under refrigeration until the time of processing of cheese. Lyophilized cultures were used followed the manufacturer's instructions (1% w / v). In all treatments, we used "Rennet Brazil" in the ratio of 50 g/100L milk based on coagulation power at 36 ° C and was added after the addition (s) of culture (s). The salted cheeses was carried out with the addition of salt on the surface of the cheese. During dessora was carried out turning process of the products (2 times in total). After completion of turns, the cheeses were packed in polyethylene pots suitable for food packaging (500 g) and stored at  $5 \pm 1$  ° C for up to 28 days. According to the results obtained physico-chemical, treatment Q1 had a decrease in pH and a small rise in acidity. The moisture in both Q1 and Q2 treatments decreased as moisture. The cheeses showed excellent microbiological quality, indicating good sanitary conditions and processing efficiency of thermal treatment used. The feasibility study showed that the cheese has potential probiotic with populations above the minimum required for a probiotic product. Sensory evaluation showed that probiotic cheese was well accepted by consumers for the attributes analyzed.

**Keywords:** minas fresh cheese, probiotic, *Lactobacillus acidophilus*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Etapas principais empregadas na fabricação de queijo minas frescal.....	26
<b>Figura 2</b> – Frequência das notas da escala hedônica para aparência das amostras Q1 e Q2.....	36
<b>Figura 3</b> – Frequência das notas da escala hedônica para cor das amostras Q1 e Q2.....	36
<b>Figura 4</b> – Frequência das notas da escala hedônica para aroma das amostras Q1 e Q2.....	37
<b>Figura 5</b> – Frequência das notas da escala hedônica para sabor das amostras Q1 e Q2.....	38
<b>Figura 6</b> – Frequência das notas da escala hedônica para textura das amostras de Q1 e Q2.....	38
<b>Figura 7</b> – Frequência das notas da escala hedônica para avaliação global das amostras de queijo Q1 e Q2.....	39

## APÊNDICE

<b>Figura 1A</b> – Ficha de avaliação sensorial utilizando Escala Hedônica para os atributos aparência, cor, aroma, sabor, textura e avaliação global. Fonte: Elaboração, própria, 2013.....	48
--	----

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Tratamentos empregados na fabricação dos queijos minas frescal.....	25
<b>Tabela 2</b> – Parâmetros físico-químicos (média ± desvio-padrão) obtidos para o queijo Q1(sem adição de culturas) e Q2 (com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ), após 1, 7, 14, 21, e 28 dias de armazenamento a 5±1°C.....	31
<b>Tabela 3</b> – Parâmetros físico-químicos (média ± desvio-padrão) obtidos para o queijo Q1(sem adição de culturas) e Q2 (com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ), após 1, 7, 14, 21, e 28 dias de armazenamento a 5±1°C.....	32
<b>Tabela 4</b> – Populações de <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> , Coliformes e <i>Salmonella</i> obtidas para Q1(sem adição de culturas), após 1, 7, 14, 21e 28 dias de armazenamento refrigerado a 5±1°C.....	34
<b>Tabela 5</b> – Populações de <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Staphylococcus coagulase positiva</i> , Coliformes e <i>Salmonella</i> obtidas para Q2 (com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ), após 1, 7, 14, 21e 28 dias de armazenamento refrigerado a 5±1°C.....	35
<b>Tabela 6</b> – Perfil sensorial e aceitação dos queijos Q1(sem adição de culturas) e Q2 (com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> ).....	39

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>13</b>
2.1 Geral .....	13
2.2 Específicos .....	13
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>14</b>
3.1 Queijo .....	14
3.2 Queijo Minas Frescal .....	15
3.3 Alimentos Funcionais .....	17
3.4 Probióticos.....	19
3.4.1 <i>Lactobacillus Acidophilus</i> .....	21
3.5 Queijo Probiótico .....	22
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>25</b>
4.1. Amostras .....	25
4.2. Elaboração dos queijos minas frescal .....	25
4.3. Análises físico-químicas.....	27
4.3.1 Acidez titulável em ácido láctico e pH .....	27
4.3.2 Umidade .....	27
4.3.3 Cinzas .....	27
4.3.4 Gordura .....	27
4.3.5 Proteínas bruta.....	28
4.4. Análises microbiológicas.....	28
4.4.1 Análises de viabilidade das bactérias lácticas .....	28
4.4.1 Avaliação da qualidade microbiológica .....	29
4.5. Análise sensorial .....	29
4.5. Análise estatística .....	30
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
5.1. Parâmetros físico-químicos .....	31
5.2. Parâmetros microbiológicos .....	33
5.3. Análise sensorial .....	35
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	<b>41</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>42</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A arte de fabricação de queijo teve início num passado remoto, por volta de 8.000 anos antes do nascimento de Cristo (BEREFORD, 2001). Sua descoberta está relacionada ao uso de recipientes ou sacos feitos com o couro do estômago de animais, onde o leite era guardado e transportado, sendo coagulado pelas enzimas presentes (PERRY, 2004).

O queijo minas frescal, produto genuinamente brasileiro, teve sua fabricação iniciada no século XVIII, no estado de Minas Gerais (EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS- EPAMIG, 1987). É um dos queijos mais populares do Brasil, sendo produzido em larga escala e consumido por todas as camadas da população em diversas refeições durante o ano todo. É uma variedade não maturada, para o consumo imediato e de curta durabilidade no mercado (FURTADO, 1999).

De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o queijo Minas Frescal é caracterizado como um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como queijo semi-gordo (25 a 44% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade (não inferior a 55%) a ser consumido fresco, de consistência branda e macia, com ou sem olhaduras mecânicas, de cor esbranquiçada, de sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5,0 Kg (BRASIL, 2004).

Atualmente vários estudos sobre alimentos funcionais e de seus componentes tem se tornado frequente. Logo, com o crescimento da demanda de produtos com alegações funcionais, faz com que as indústrias de alimentos busquem inovações e o desenvolvimento de novos produtos que sejam saborosos, visualmente atrativos e que, ao mesmo tempo, visem a saúde e o bem estar. (SAAD *et al*, 2011).

O principal motivo da escolha do consumidor pelos alimentos funcionais é o desejo crescente por alimentos que ajudam a prevenir doenças crônicas como as cardiovasculares, doença de Alzheimer e da osteoporose, ou para otimizar a saúde, por exemplo, aumentar a energia e estimular o sistema imunológico (KHAN, 2013).

Dentre os alimentos funcionais, estão os probióticos, que são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001;).

Muitos estudos têm evidenciado o papel benéfico de *Lactobacillus acidophilus* no hospedeiro. A utilização de espécies de *Lactobacillus* assim como outros microrganismos probiótico em produtos lácteos tem estimulado a pesquisa considerável nos últimos anos pelo potencial efeito de promoção da saúde. Num esforço para ampliar os produtos probióticos, pesquisadores e empresas têm-se esforçado para a fabricação de queijos que mantêm viabilidade das culturas probióticas (BURITI, 2005a).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Caracterizar os aspectos físico-químicos, microbiológicos e sensoriais de queijos minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar as variáveis físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e funcionais dos queijos elaborados durante o período de armazenamento;
- Verificar as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em queijo minas frescal no produto após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$  por até 28 dias;
- Identificar se a adição de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em queijo minas frescal influenciou as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Queijo**

O queijo é um dos alimentos mais antigos da história da humanidade. Existem relatos de seu consumo em Murais de tumbas egípcias e em passagens bíblicas por volta de 7.000 anos a.C (BEREFORD, 2001; PERRY, 2004).

Sua descoberta está relacionada ao uso de recipientes ou sacos feitos com o couro do estômago de animais, onde o leite era guardado e transportado. A coagulação era promovida pelas enzimas presentes no couro, originando uma massa branca, de sabor agradável. Com o passar do tempo o seu processo de fabricação foi adaptado, adicionando sabores e armazenando em ambientes para a realização da maturação, denominando como queijo esse produto. (PERRY, 2004; ANDRANDE, 2006).

No Brasil a fabricação do queijo teve origem com a colonização portuguesa e em 1790, o comércio de queijo já era citado. No Sertão Nordeste, no início do século XIX, o queijo consumido era de excelente qualidade enquanto fresco, tornando-se duro e coriáceo ao fim de quatro ou cinco semanas de fabricado. Verificava-se ainda que o queijo era recebido pelos mascates como forma de pagamento das mercadorias que traziam, o que parecia comprovar o excedente do produto, naquela época, na região (AQUINO, 1983).

Todos os tipos de queijos fabricados no mundo são definidos como o produto fresco ou maturado obtido por separação do soro depois da coagulação do leite. (ORDÓÑEZ, 2005). Tais variedades podem ser classificadas de acordo com a forma de elaboração, consistência, tipo do leite, processo de maturação e sabor (PERRY, 2004).

Segundo os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos, entende-se por queijo o produto fresco ou maturado obtido por separação parcial do soro de leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas e bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias ou

especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e corantes (BRASIL, 1996).

No processo de fabricação, o coalho utilizado em todos os tipos de queijo, tem como função coagular a caseína presente no leite. A principal enzima responsável por essa ação é a quimosina, também chamada de renina, uma fosfoproteína de ação proteolítica, sintetizada pelas principais células do estômago, presente nos ruminantes jovens (DAMODARAN, 2010). Ela atua hidrolisando ligações peptídicas da caseína, transformando-a em *para*-caseína, que precipita em presença de íons  $\text{Ca}^{+2}$  formando, então, a coalhada. Este processo é dependente da temperatura, do pH e do teor de cálcio do leite. A temperatura ótima de ação do coalho é em torno de 40°C, porém, costuma-se utilizar temperaturas ligeiramente mais baixas (em torno de 35°C), para evitar que a coalhada fique muito dura. Outro método de coagulação da caseína é adicionar ácido ao leite em quantidade suficiente para igualar o pH do meio ao ponto isoelétrico da proteína (pH 4,5). Neste pH as micelas de caseína agregam-se e precipitam. Esse método fornece queijos de qualidade inferior aos produzidos pelo método enzimático (PERRY, 2004).

O queijo constitui uma fonte proteica bastante adequada e normalmente contém todos os aminoácidos essenciais, além de quantidades apreciáveis de minerais e sais, sendo os mais importantes o cálcio, o ferro e o fósforo. O queijo também contém quase todas as vitaminas essenciais, exceto a vitamina C, que é destruída durante o processo de elaboração (SCORTT, 1991). O queijo ainda é considerado uma ótima fonte de vitamina A (OLIVEIRA, 1981).

### **3.2 Queijo Minas Frescal**

O queijo minas frescal é um dos mais populares do Brasil, sendo produzido em larga escala e consumido por todas as camadas da população em diversas refeições durante o ano todo. É uma variedade não maturada, para o consumo imediato e de curta durabilidade no mercado, pois é altamente perecível mesmo sob refrigeração (SANGALETTI, *et al.*, 2009; PINTO *et al.*, 2011).

De acordo com o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal, o queijo minas frescal é caracterizado como um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como queijo semi-gordo (25 a 44% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade (não inferior a 55%) a ser consumido fresco, de consistência branda e macia, com ou sem olhaduras mecânicas, de cor esbranquiçada, de sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5,0 Kg (BRASIL, 2004).

Em 2004 o Brasil produziu cerca de 445.000 toneladas de queijos. Destes, aproximadamente 29.000 toneladas corresponderam à produção da variedade Minas Frescal, sendo assim um dos queijos mais produzido no país (EMBRAPA, 2011). Suas principais características são sabor agradável e ligeiramente ácido, de aroma leve e delicado. Este queijo é do tipo fresco, de alta umidade e pH maior que 5,0. Estas características somadas à manipulação durante a fabricação tornam-no um meio propício à contaminações microbiológicas e reações bioquímicas.

A fabricação tradicional do queijo minas frescal sofreu modificações ao longo do tempo, visando melhorias na qualidade do produto final, aumento de rendimento de fabricação, maior vida útil, padronização e segurança de consumo. Por ser um queijo de tecnologia simples, facilmente elaborado e de fabricação artesanal, diferentes procedimentos de produção são adotados pelos fabricantes. Assim, há queijos feitos por adição somente de coalho, outros feitos pelo método tradicional, com adição de cultura láctica, queijos fabricados com adição de ácido láctico em substituição à cultura e, ainda, queijos obtidos pelo processo de ultrafiltração (DIAS, 2009).

O leite utilizado na produção de queijos frescos precisa ser obrigatoriamente pasteurizado, de boa qualidade e, tanto quanto possível, livre de contaminação bacteriana ou por agentes químicos como antibióticos, herbicidas, pesticidas, etc. No caso dos antibióticos, se estes forem administrados ao gado, passarão ao leite e poderão inibir a sua coagulação ou alterar o tempo de maturação dos queijos devido à alterações na microbiota láctica.

Durante a fabricação do queijo minas frescal podem ocorrer perigos que irão comprometer o produto final, dentre eles destacam-se: alta contaminação

microbiológica da matéria-prima, recontaminação do leite pós-pasteurizado, temperaturas inadequadas de fabricação e de armazenamento. Assim, as boas práticas de fabricação e as medidas de sanificação durante o processamento são cruciais para a garantia de um produto de qualidade (SANGALETTI *et al*, 2009).

Quando comercializado em embalagens plásticas convencionais, o queijo minas frescal apresenta vida de prateleira pequena, normalmente duas semanas, mesmo em temperaturas adequadas de refrigeração. Um dos grandes problemas na sua comercialização é a liberação do soro, que afeta não só a aparência, como também a qualidade do produto. O produto apresenta grande susceptibilidade às contaminações microbianas, que podem ocorrer a partir do leite utilizado como matéria-prima, ou por recontaminações durante ou após o processamento. As contaminações, aliadas às alterações químicas e sensoriais decorrentes da atividade enzimática de origem microbiana, podem, em poucos dias, tornar o queijo inaceitável ou até mesmo impróprio para o consumo (ISEPON, SANTOS e SILVA, 2003).

De acordo com Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) as tolerâncias para os padrões microbiológicos vigentes do queijo minas frescal são de  $5 \times 10^2$  UFC de coliformes de origem fecal/g e *Staphylococcus coagulase positiva*/g, e ausência em 25g de *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes* (BRASIL, 2001).

### **3.3 Alimentos Funcionais**

O papel cada vez mais influente da indústria alimentícia sobre a dieta e estilo de vida da população vem acompanhado do desafio de atender a demanda dos consumidores por produtos que sejam saborosos, visualmente atrativos e que, ao mesmo tempo, visem à saúde e o bem estar. Entre esses alimentos, estão aqueles que podem ser denominados funcionais, por resultarem em benefícios clínicos ou de saúde comprovados, não previstos na nutrição convencional além de efeitos nutricionais conhecidos (SAAD *et al*, 2011). No entanto, deve ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde e não à cura de doenças (ROBERFROID, 2007).

Estudos sobre alimentos funcionais e de seus componentes tem se tornado frequente. O crescente aumento do mercado de alimentos funcionais demonstra uma

sociedade que tem buscado a incorporação de uma dieta a um estilo de vida saudável, pois além de serem nutritivos, podem estar associados à prevenção de doenças e promoção da saúde (KOMATSU, 2008).

As pesquisas com alimentos funcionais começaram no início da década de 80 no Japão aonde foi desenvolvido pela primeira vez o seu conceito no final da década de 80 quando o Ministério da Saúde e Previdência Social elaborou uma regulamentação criando uma categoria de alimentos que promovem benefícios específicos à saúde, claramente separando-os das drogas (YAMAGUCHI, 2009).

Os alimentos funcionais são como 'alimentos para os quais pode ser satisfatoriamente demonstrado que eles afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo, além de garantirem efeitos nutricionais adequados, conduzindo a uma melhoria do estado geral de saúde e bem estar e/ou a uma redução do risco de doenças' (European Commission Concerted Action on Functional Food Science in Europe, 1999).

No Brasil, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, alimento funcional é definido como todo aquele alimento ou ingrediente que, além de funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

Um alimento funcional pode ser classificado de acordo com o alimento em si ou conforme os componentes bioativos neles presentes como, por exemplo, os probióticos, as fibras, os fitoquímicos, as vitaminas e os minerais essenciais, além de determinados peptídios e proteínas (SAAD *et al*, 2011).

São vários os fatores que vêm estimulando o desenvolvimento de alimentos funcionais ao longo dos últimos anos. Dentre eles, destacam-se principalmente: o aumento da expectativa de vida em países desenvolvidos (cujas populações necessitarão de cuidados hospitalares por maior período de tempo), o elevado custo dos serviços de saúde, os avanços na tecnologia de alimentos e ingredientes, a necessidade que as instituições públicas de pesquisa têm em divulgarem os resultados de suas investigações e a maior cobertura dos diferentes tipos de mídia dada a essas descobertas e às questões de saúde (KOMATSU, 2008).

SANDERS (1998), enumerou seis causas para o aumento da procura por alimentos funcionais, a saber: os consumidores optam por prevenir ao invés de curar

doenças; aumento dos custos médicos; os consumidores estão mais cientes sobre a relação entre a saúde e a nutrição; envelhecimento da população; desejo de combater os males causados pela poluição, por microrganismos e agentes químicos no ar, na água e nos alimentos e aumento das evidências científicas sobre a sua eficácia.

O principal motivo da escolha do consumidor pelos alimentos funcionais é o desejo crescente por alimentos que ajudam a prevenir doenças crônicas como as cardiovasculares, doença de Alzheimer e da osteoporose, ou para otimizar a saúde, por exemplo, aumentar a energia e estimular o sistema imunológico (KHAN, 2013).

A suplementação de componentes com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituíam os alimentos funcionais de primeira geração. Nos últimos anos, por outro lado, esse conceito voltou-se principalmente para aditivos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal. Os prebióticos e os probióticos são atualmente os aditivos alimentares que compõem esses alimentos funcionais (ZIEMER; GIBSON, 1998).

Com o crescimento da demanda de produtos com alegações funcionais, isso faz com que as indústrias de alimentos busquem inovações e o desenvolvimento de novos produtos. (MICHIDA *et al*, 2006).

### **3.4 Probióticos**

A microbiota intestinal é definida como a microbiota normal que conserva e promove o bem estar e a ausência de doenças, especialmente do trato gastrointestinal. A correção das propriedades da microbiota autóctone desbalanceada constitui a racionalidade da terapia por probióticos (ISOLAURI *et al.*, 2004).

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, afetam positivamente a saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001;).

Tais microrganismos, para serem considerados probióticos e serem adicionados a alimentos, além de atuarem favoravelmente no produto ao qual foram adicionados, devem atender a alguns requisitos, como sobreviver à passagem através do trato gastrointestinal humano e, também, serem capazes de se

desenvolver no intestino humano. Isto significa que tais micro-organismos devem resistir à ação do baixo pH, suco gástrico e pancreático e à bile. O micro-organismo deve, ainda, preferencialmente, possuir capacidade de adesão às células intestinais do hospedeiro, ter origem na microbiota intestinal humana sadia, ser capaz de estabilizar a microbiota intestinal e não possuir propriedades patogênicas (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

Entre os benefícios a saúde do hospedeiro atribuídos a ingestão de culturas probióticas estão: Controle da microbiota intestinal; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrointestinal à colonização de patógenos; diminuição da população de patógenos consequente a produção de ácido acético e láctico, de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose; estimulação do sistema imune; alívio da constipação; aumento da absorção de minerais; produção de vitaminas (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). É importante mencionar que os efeitos sobre a saúde são dependentes da cepa presente na formulação do produto e que não existe uma cepa probiótica que confira, simultaneamente, todos os efeitos benéficos atribuídos aos probióticos (SHAH, 2007).

FULLER (1989) enumerou três possíveis mecanismos de atuação dos probióticos: i) a supressão do número de células viáveis através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, da competição por nutrientes e por sítios de adesão; ii) a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática; iii) o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos.

De acordo com a legislação brasileira para ser considerado um alimento funcional probiótico a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC), na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia. Os microrganismos que podem ser adicionados aos alimentos com a alegação de contribuir para o equilíbrio da flora intestinal são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhamnosus*,

*Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008).

Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menos escala, *Enterococcus faecium*, são as mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrintestinal do humano saudável. O íleo terminal e o cólon parecem ser, respectivamente, o local de preferência para colonização intestinal dos lactobacilos e bifidobactérias (CHARTERIS *et al.*, 1998; BIELECKA *et al.*, 2002).

Uma microbiota intestinal saudável e microecologicamente equilibrada resulta em um desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, o que irá assegurar melhoria na qualidade de vida do indivíduo (SAAD, 2006).

#### **3.4.1 *Lactobacillus Acidophilus***

Muitos estudos têm evidenciado o papel benéfico de *Lactobacillus acidophilus* no hospedeiro. A utilização de espécies de *Lactobacillus* assim como outros microrganismos probiótico em produtos lácteos tem estimulado a pesquisa considerável nos últimos anos pelo potencial efeito de promoção da saúde. Num esforço para ampliar os produtos probióticos, pesquisadores e empresas têm-se esforçado para a fabricação de queijos que mantêm viabilidade das culturas probióticas (BURITI, 2005).

São diversos os efeitos atribuídos aos probióticos, de modo geral, os *Lactobacillus* podem colaborar na digestão da lactose em indivíduos com intolerância a esse dissacarídeo, reduzir a constipação e a diarreia infantil, ajudar na resistência a infecções por salmonela, prevenir a “diarreia do viajante” e aliviar a síndrome do intestino irritável (KOMATSU, 2008).

Segundo SERVIN & COCONNIER (2003), cepas de *Lactobacillus* isoladas no trato digestivo humano revelaram-se capazes de inibir 4 espécies de bactérias anaeróbicas conhecidas como agentes etiológicos de infecções gastrentéricas: *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* e *Clostridium difficile*. Estudos *in vitro* realizados com *L. acidophilus* e outros representantes dos grupos

*Lactobacillus* e *Bifidobacterium* revelaram a inibição da multiplicação de *H. pylori* isolados de casos clínicos. Além disso, *L. acidophilus* foi ativo contra infecções experimentais com *Salmonella enteritidis* subsp. *typhimurium* e *Shigella flexneri* em ratos gnobióticos, além de conferir proteção contra infecções estomacais com *H. felis*, inibindo a colonização do estômago e eliminando lesões gástricas.

### **3.5 Queijo Probiótico**

O queijo é um dos produtos alimentícios mais versáteis disponíveis atualmente. É agradável a muitos paladares e adequado a todas as faixas etárias. Sua versatilidade oferece oportunidades para muitas estratégias de mercado, como, por exemplo, a possibilidade de ser um alimento carreador de bactérias probióticas. Entretanto, o desenvolvimento de queijos probióticos implica, obrigatoriamente, no conhecimento de todas as suas etapas de processamento, bem como do nível de influência no processamento, seja positiva ou negativa, e na sobrevivência desses micro-organismos durante a vida de prateleira dos produtos (CRUZ *et al*, 2009).

O pH do queijo, a sua alta atividade de água, a sua matriz sólida, com uma concentração relativamente elevada de lipídios presentes são características que podem auxiliar na manutenção da viabilidade dos microrganismos probióticos, bem como oferecer proteção às bactérias probióticas durante a sua passagem pelo trato gastrointestinal humano. Outras características, como a baixa concentração de sal e a ausência de substâncias conservantes, observadas em alguns tipos de queijos, como o queijo minas frescal, oferecem excelentes condições para a sobrevivência e multiplicação de cepas probióticas (BURITI *et al*, 2005).

Um queijo probiótico deve apresentar o mesmo desempenho que um queijo convencional, ou seja, a incorporação dos microrganismos probióticos não deve resultar em perda da qualidade do produto. Neste contexto os níveis de proteólise e lipólise do queijo com apelo funcional devem ser semelhantes, ou até melhores, que o queijo convencional (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

Existem duas opções para adição da bactéria probiótica durante o processamento do queijo, opções estas que podem afetar diretamente a sobrevivência desses microrganismos: a bactéria probiótica pode ser adicionada antes da fermentação (junto com a cultura iniciadora) ou após essa etapa. A primeira

etapa implica na realização de testes preliminares para conhecimento das concentrações de células probióticas que são perdidas no soro, durante o processo de dessoragem. A quantidade ideal do inóculo probiótico deve ser averiguada, de acordo com o processo a ser empregado. Se a segunda opção for escolhida, um resfriamento imediato (inferior a 8°C, preferencialmente) deve ser realizado, uma vez que a atividade metabólica da cultura starter é drasticamente reduzida nessa temperatura (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011).

Devido ao seu processo de fabricação os queijos frescos parecem ser perfeitamente apropriados para a veiculação de bactérias probióticas, por ser um produto não maturado, ser submetido à temperatura de refrigeração durante o armazenamento e possuir relativamente vida de prateleira reduzida (HELLER et al., 2003).

Vários trabalhos foram publicados relatando o desenvolvimento de queijos frescos contendo culturas comprovadamente e potencialmente probióticas.

Buriti *et al.* (2005a) avaliaram a viabilidade do *L. Acidophilus* La-5, isolado ou em co-cultura com uma cultura lática mesófila do tipo O, durante a produção do queijo Minas frescal, e observaram populações superiores a  $1 \times 10^6$  UFC/g, durante todo período de armazenamento.

Ribeiro *et al.* (2009) avaliaram as características físico-químicas e sensoriais; e estudar a sobrevivência da bactéria probiótica *L. acidophilus* La 145 durante a vida de prateleira do queijo minas frescal produzidos a partir de retentados de ultrafiltração. A adição de *L. acidophilus* não alterou as características físico-químicas e sensoriais do produto sendo uma nova alternativa de alimento probióticos.

Souza *et al.* (2006) e Souza e Saad (2009), estudaram a viabilidade de *L. acidophilus* La-5 com *S. thermophilus* adicionados ao queijo minas frescal e as implicações desta adição na textura do produto final, proteólise e propriedades relacionadas. O queijos produzidos apenas com La-5 apresentaram populações superiores a  $1 \times 10^6$  UFC/g, alcançando  $1 \times 10^7$  UFC/g, após os 14 dias de armazenamento refrigerado. Além disso, a adição da cepa La-5 resultou em boa aceitação dos queijos minas frescal, melhorando o desempenho sensorial desses produtos durante o armazenamento refrigerado

Back *et al.*, (2013) avaliaram a viabilidade dos micro-organismos probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium sp.* adicionados a diferentes formulações de queijo Minas Frescal com baixo teor de lactose durante os 21 dias de vida de prateleira do produto, bem como avaliar a composição físico-química dos queijos. Apesar das contagens de *Lactobacillus acidophilus* (4,38+0,01 a 7,88 +0,07 log UFC/g) não terem atingido o valores mínimos de  $10^6$  UFC/g em todos os dias de armazenamento dos queijos, a população de *Bifidobacterium sp.* (6,05+0,08 e 7,90+0,04 log UFC/g) manteve-se acima de 6,00 log UFC/g para todas as formulações desenvolvidas, conferindo assim característica probiótica aos queijos, sendo assim uma alternativa inovadora ao mercado de intolerantes a esse carboidrato.

Diversos autores testaram a incorporação de diferentes bactérias probióticas em outros tipos de queijos, entre eles e o Cream Cheese (BURITI *et al.*, 2007; BURITI *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2008), Petit Suisse, (MARUYAMA *et al.*, 2006), Cheddar (ONG; SHAH, 2009), e Cottage (PARODIA, 2010).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Pombal. A elaboração dos queijos foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal. O desenvolvimento dos ensaios sensoriais, físico-químicos e microbiológicos foram realizados nos laboratórios da Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos/Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar(UATA/CCTA) e no Centro Vocacional Tecnológico (CVT).

### 4.1 Amostras

O leite foi adquirido de uma fazenda da região de Pombal no qual é realizada ordenha mecânica, sendo transportado em caixas isotérmicas até o Laboratório de Tecnologia de Produtos de Origem Animal, onde foi armazenado sob refrigeração até o momento do processamento dos queijos. Os tratamentos empregados na fabricação dos queijos minas frescal são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Tratamentos empregados na fabricação dos queijos minas frescal

QUEIJOS	TRATAMENTOS
Q1	Sem adição de cultura probiótica
Q2	Com adição de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-5)

### 4.2 Elaboração dos queijos minas frescal

As principais etapas empregadas na fabricação do queijo minas frescal encontram-se esquematizadas na Figura 1.

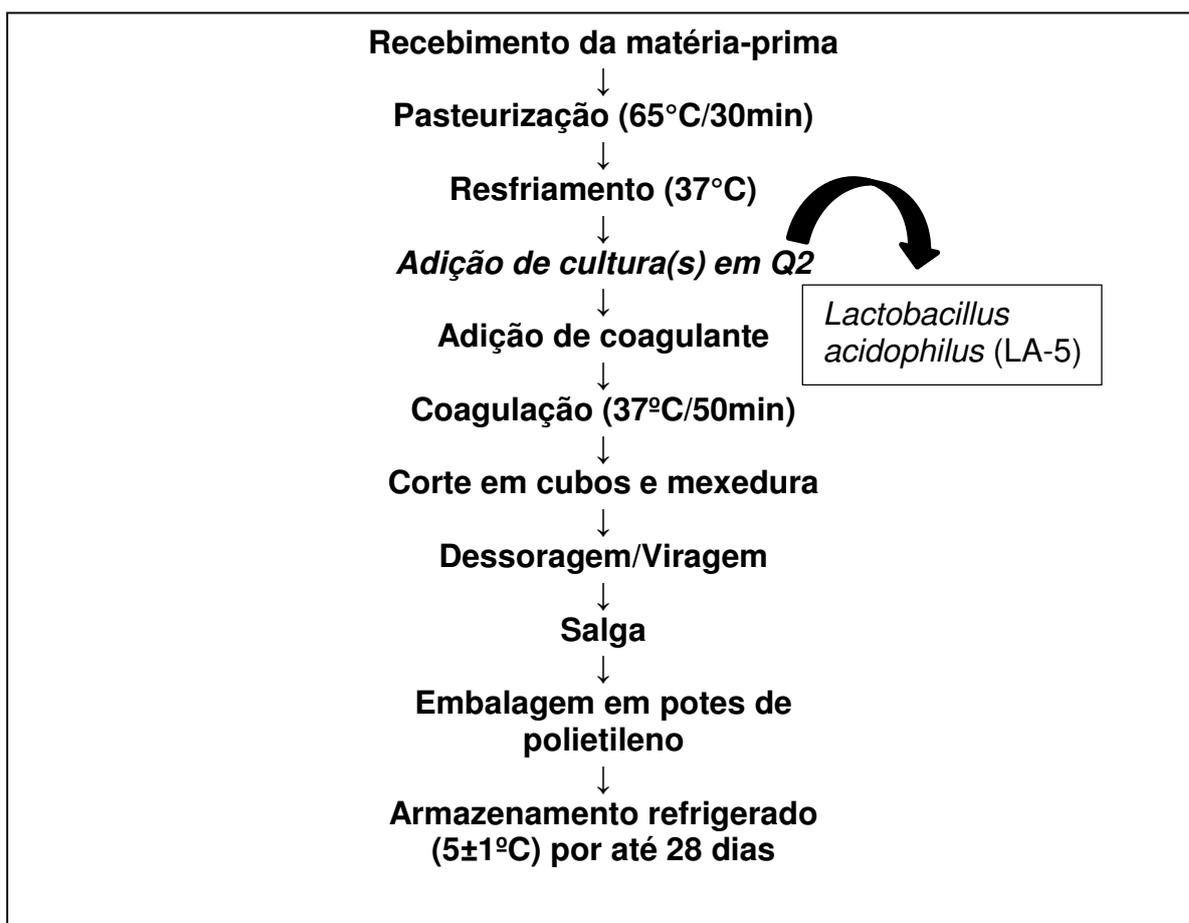
Foi realizada uma pasteurização lenta do leite a 65°C/30 minutos, a fim de eliminar microrganismos patogênicos nele presentes. Em todos os tratamentos, tanto Q1 (controle – sem adição de culturas probióticas) como Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus* - La-5) empregou-se “Coalho Brasil”, na proporção de 50 g/100L de leite, baseado no poder de coagulação a 37°C; no caso do Q2 foi acrescentado após a adição da cultura.

A salga dos queijos foi realizada com a adição de cloreto de sódio (sal comercial) na superfície do queijo. A quantidade de sal adicionado equivaleu a 2,0% do peso líquido estimado dos queijos.

Durante a dessoragem foi realizado processo de viragem dos produtos (2 vezes, no total). Após o término das viragens, os queijos foram embalados em potes de polietileno próprios para a embalagem de alimentos (500 g), e armazenados sob refrigeração a  $5\pm 1^\circ\text{C}$ , e avaliados por até 28 dias.

A cultura láctea utilizada foi fornecidas pelo fabricante na forma liofilizada e armazenadas congeladas, seguido as suas orientações. A adição dessas culturas ao leite foi feita de acordo com as instruções do fabricante (1% p/v).

**Figura 1.** Etapas principais empregadas na fabricação de queijo minas frescal adaptado de Souza (2006).



### **4.3 Análises físico-químicas**

Os queijos elaborados foram submetidos a ensaios para determinação de: pH, acidez titulável em ácido láctico, umidade, extrato seco total (EST), cinzas, lipídios, proteína bruta. Os ensaios foram realizados em triplicata com três repetições. Para tanto, os seguintes métodos foram utilizados.

#### ***4.3.1 Acidez titulável em ácido láctico e pH***

A determinação do pH foi realizada em potenciômetro digital, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, de acordo com as normas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL, 2008). A acidez foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N (AOAC, 2010).

#### ***4.3.2 Umidade***

A umidade foi determinada por infravermelho até peso constante (Marca Marte, ID 200).

#### ***4.3.3 Cinzas***

O teor de resíduo mineral fixo ou cinzas totais, foi determinado por carbonização seguida de incineração em mufla estabilizada a 550 °C, (AOAC, 2010).

#### ***4.3.4 Lipídios***

O ensaio foi realizado pelo método de Gerber, conforme metodologia adaptada para queijos proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (2008).

#### ***4.3.5 Proteína bruta***

A determinação foi realizada pelo método de Micro-Kjedahl, com o fator 6,38 multiplicando pelo percentual de nitrogênio total (AOAC, 2010).

#### **4.4 Análises microbiológicas**

As amostras de queijo minas frescal 25 g/amostra foram diluídas em 225 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizadas em mesa agitadora orbital Nova Ética® (109/2TCM, Vargem Grande Paulista, Brasil) em 200 rpm durante 25 minutos (diluição  $10^{-1}$ ). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando o mesmo diluente. Em seguida, as amostras foram submetidas às seguintes análises microbiológicas:

##### **4.4.1 Análise de viabilidade das bactérias lácticas**

A análise de viabilidade das bactérias lácticas foi realizada de acordo com a metodologia utilizada por Garcia (2011). As alíquotas das diluições do queijo foram inoculadas em profundidade em placas de petri contendo em ágar DeMan-Rogosa-Sharpe e incubadas a 37°C por 48 horas sob microaerofilia. Os resultados foram expressos em Log de Unidades Formadoras de Colônias por grama (Log de UFC/g).

##### **4.4.2 Avaliação da qualidade microbiológica**

###### ***Contagem de coliformes totais e termotolerantes***

Na análise microbiológica de coliformes, cada diluição foi semeada em três tubos, contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST, Himedia®, Curitiba, Brasil), para a quantificação do teste presuntivo de coliformes (NMP). A incubação ocorreu em estufa bacteriológica a  $36 \pm 1$  °C, por 24 horas e considerados positivos aqueles com presença de crescimento bacteriano. Na determinação da prova confirmativa para coliformes a 35 °C utilizou-se a técnica dos tubos múltiplos com três séries de três tubos contendo Caldo Verde Bile Brilhante (Himedia®, Mumbai, Índia) 2%, com incubação a  $36 \pm 1$  °C por 24 horas. A partir dos tubos positivos de coliformes a 35 °C procedeu-se a repicagem para tubos contendo caldo EC (Himedia®, São Paulo, Brasil) para confirmação de coliformes a 45 °C (termotolerantes), com incubação a  $45 \pm 1$  °C por 48 horas em banho-maria com circulação de água modelo Q- 215M2 Quimis (BRASIL, 2003).

### ***Staphylococcus coagulase positiva***

Na análise microbiológica de *Staphylococcus coagulase positiva* foi inoculado 0,1 mL de cada diluição selecionada sobre a superfície seca do Agar Baird-Parker (Himedia®, Michigan, USA) suplementado com solução de gema de ovo 50% e telurito de potássio 3,5%. A incubação deu-se em estufa bacteriológica a temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas (BRASIL, 2003).

### ***Salmonella sp.***

Na detecção de *Salmonella spp*/25 g foi utilizado o meio de cultura ÀGAR RAMBACH (Himedia®, Mumbai, India) e a incubação deu-se em estufa bacteriológica a temperatura de  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas com adaptações.

## **4.5 Análise sensorial**

Foram realizados testes de aceitação e preferência relativa entre as amostras. No teste de aceitação, uma equipe sensorial constituída por 50 provadores não treinados analisaram as amostras de queijos minas frescal controle (Q1) e adicionados de *Lactobacillus acidophilus* (Q2) de acordo com o Instituto Adolf Lutz (2005), onde se avaliou: aparência, aroma, sabor, cor, textura e aceitação global.

Os provadores atribuíram valores às variáveis sensoriais, numa escala hedônica de nove pontos (1 = desgostei extremamente; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei extremamente). Os queijos foram considerados aceitos quando obtiveram média  $\geq 5,0$  (equivalente ao termo hedônico “gostei moderadamente”), (IAL, 2005)

Os testes foram realizados em cabines individuais, com condições controladas de temperatura e iluminação. As amostras foram padronizadas em forma de cubos. Cada provador foi servido com cerca de 20g de cada amostra de queijo codificadas com três dígitos de números aleatórios colocados em pratos plásticos de cor branca e imediatamente após serem retirados do armazenamento refrigerado. Juntamente com as amostras foram oferecidos aos provadores bolacha e água para remoção do sabor residual.

#### **4.6 Análise estatística**

Os resultados médios das análises e seus respectivos desvios padrões foram submetidos à análise estatística de comparação de médias denominada teste de Tukey, considerando-se o nível de probabilidade de erro ( $p$ ) menor que 5%. Para isso, foi utilizado o programa estatístico livre *Assistat 7.6* (2013).

## 5. RESULTADOS E DISCURSÃO

Abaixo encontram-se os resultados das análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais realizadas ao longo dos experimentos.

### 5.1 Parâmetros físico-químicos

A Tabela 2 apresenta os valores de parâmetros físico-químicos dos queijos Q1 e Q2 realizados com amostras com 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Tabela 2.** Parâmetros físico-químicos (média  $\pm$  desvio padrão) obtidos para os queijos Q1 (controle - sem adição de culturas) e Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus*), após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Queijos	TEMPO (DIAS)	GORDURA	PROTEÍNA	CINZAS	GES
Q1	1	19,5 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	9,29 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	3,39 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>	54,60 $\pm$ 1,20 <sup>a</sup>
	7	18,5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>	10,94 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	6,07 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	50,13 $\pm$ 2,39 <sup>b</sup>
	14	14,16 $\pm$ 0,2 <sup>c</sup>	9,04 $\pm$ 0,26 <sup>b</sup>	5,12 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	38,03 $\pm$ 1,13 <sup>c</sup>
	21	14,06 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	8,06 $\pm$ 0,49 <sup>c</sup>	4,83 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	35,88 $\pm$ 1,12 <sup>c</sup>
	28	14,06 $\pm$ 0,06 <sup>c</sup>	8,06 $\pm$ 0,49 <sup>c</sup>	4,85 $\pm$ 0,59 <sup>c</sup>	35,88 $\pm$ 1,1 <sup>c</sup>
Q2	1	16,83 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	8,88 $\pm$ 0,90 <sup>a</sup>	5,72 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	46,24 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup>
	7	16,66 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	9,17 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	4,63 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	44,31 $\pm$ 0,72 <sup>a</sup>
	14	14,16 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>	8,05 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	5,55 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	37,02 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>
	21	14,1 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	8,21 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	4,85 $\pm$ 0,59 <sup>ab</sup>	37,02 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>
	28	14,1 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	8,21 $\pm$ 1,56 <sup>a</sup>	4,85 $\pm$ 0,59 <sup>ab</sup>	35,31 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>

Na legislação em vigor (Brasil, 1996), o queijo de minas frescal é classificado como semi-gordo – conteúdo de gordura no extrato seco entre 25% e 44,9%. No presente experimento, Q1 e Q2 obtiveram-se média de 54,60% e 46,24% no primeiro dia de análise, o que classifica-os como queijos gordos – gordura no extrato seco entre 45,0% e 59,9%. Isto provavelmente ocorreu em virtude do maior teor de

gordura do leite utilizado como matéria-prima, pois não houve padronização da matéria-prima utilizada nos experimentos.

Os resultados de gordura dos queijos Q1 e Q2 diferiram dos encontrados por SOUZA (2006) e BURITI (2005), sendo superiores aos encontrados pelos referidos autores. No entanto, a composição química do leite é obviamente influenciada por fatores como estação do ano e clima, além da alimentação, idade, estágio de lactação e saúde dos animais (FARKYE, 2004).

Não foram detectadas diferenças entre Q1 e Q2 para os valores de proteínas e cinzas encontrados. Os valores de proteínas encontrados são próximos dos obtidos por SOUZA (2006), que foram de 12,87 para o queijo controle – sem adição de culturas e 10,04 para o queijo com adições de culturas. Os resultados de cinzas estão próximos de ALVES *et al.*, (2011), que foram de 4,07 para o queijo controle – sem adição de culturas e 4,26 para o queijo com adições de culturas.

Conforme se observa na Tabela 3, os queijos Q2 apresentaram diminuição com 0,06 do pH e aumento de 0,04 da acidez titulável entre o 1° e o 28° dia de armazenamento, O queijo controle (Q1) também apresentou queda nos valores de pH, embora essa diminuição não tenha sido muito representativa.

**Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos (média  $\pm$  desvio-padrão) obtidos para os queijos Q1 (controle – sem adição de culturas) e Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus*), após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $5\pm 1^\circ\text{C}$ .

Queijos	TEMPO (DIAS)	pH	Acidez Titulável (mL/100g)	Umidade (%)
Q1	0	6,48 $\pm$ 0,18 <sup>b</sup>	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	64,26 $\pm$ 1,70 <sup>a</sup>
	7	6,80 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	63,06 $\pm$ 1,10 <sup>ab</sup>
	14	6,91 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,09 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	62,73 $\pm$ 1,27 <sup>ab</sup>
	21	6,88 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	60,76 $\pm$ 1,42 <sup>b</sup>
	28	6,88 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,10 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	60,76 $\pm$ 1,42 <sup>b</sup>
Q2	0	6,77 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	63,93 $\pm$ 1,81 <sup>a</sup>
	7	6,70 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	0,16 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	62,40 $\pm$ 0,69 <sup>ab</sup>
	14	6,70 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	0,13 $\pm$ 0,01 <sup>bc</sup>	61,73 $\pm$ 0,46 <sup>ab</sup>
	21	6,71 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	60,06 $\pm$ 0,60 <sup>b</sup>
	28	6,71 $\pm$ 0,03 <sup>ab</sup>	0,15 $\pm$ 0,01 <sup>ab</sup>	60,06 $\pm$ 0,60 <sup>b</sup>

A redução do pH e aumento da acidez titulável ocorrida nesses queijos é um processo natural decorrente da produção contínua de ácido lático pela cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* em Q2.

De modo semelhante ao observado no presente trabalho com queijo minas frescal BURITI *et al.* (2005) e SOUZA e SAAD (2009), revelaram queijos que apresentaram decréscimo nos valores de pH durante e pequeno aumento da acidez titulável durante o armazenamento.

Todos os queijos apresentaram queda nos valores de umidade. No presente trabalho, os queijos Q1, Q2 apresentaram, respectivamente, uma queda aproximada de 3,5% e 3,87% no teor de umidade, durante o período de armazenamento do produto.

Em estudos com queijos minas frescal adicionados de culturas probióticas, realizados por BURITI *et al.* (2005a) e BURITI *et al.* (2005b), SOUZA e SAAD (2009), foi observada diminuição na umidade de 5,3%, 2,83%, 3,27% ao longo do armazenamento refrigerado e aumento na dureza respectivamente. Segundo SOUZA (2006), tal fato está associado ao aumento concomitante da sinérese, em virtude do aumento das interações iônicas entre as micelas de caseína, refletindo no aumento da dureza dos queijos assim como nos parâmetros derivados da dureza (gomosidade e mastigabilidade).

## **5.2 Parâmetros microbiológicos**

A legislação brasileira (BRASIL, 2001) estabelece para queijos de muito alta umidade os parâmetros de Coliformes a 45°C, *Staphylococcus spp.*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

Na análise microbiológica do queijo minas frescal Q1 não obteve contagens para as análises de *Staphylococcus coagulase positiva*, coliformes e ausência para *Salmonella*. Os queijos foram elaborados de acordo com as boas práticas de fabricação, havendo amplo controle da higiene dos utensílios empregados e da manipulação das matérias-primas e do queijo durante todo o processamento, justificando assim, os resultados obtidos.

**Tabela 4.** Populações *Staphylococcus coagulase positiva*, populações de coliformes e *Salmonella* obtidas para o queijo Q1 (sem adição de culturas), após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Parâmetros Microbiológicos	Tempo (Dias)				
	1	7	14	21	28
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Populações de Coliformes	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Salmonella</i>	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

A Tabela 4 apresenta as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 (média e variação) observadas para os queijos Q2.

Para que um alimento probiótico exerça seus efeitos benéficos, é recomendado que ele apresente uma concentração mínima da bactéria probiótica dentro do prazo de validade do produto (BRASIL, 1999). Vários trabalhos propõem que a dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de  $10^8$  e  $10^9$  UFC, o que corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g (LEE & SALMINEN; HOIER *et al.*, 1999).

No presente trabalho, o queijo produzido com a adição de cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 revelou populações suficientes para caracterizá-lo como potencialmente probiótico.

A legislação brasileira atual afirma que para efeitos funcionais a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias (UFC), na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante.

Em estudo realizado com queijo Minas Frescal, BURITI *et al.* (2005a) observaram populações de *Lactobacillus acidophilus* variando entre 6,31 e 6,10 log UFC/g entre a produção e o 21º dia de armazenamento refrigerado.

O queijo minas frescal Q2 também não obteve contagens para as análises de *Staphylococcus coagulase positiva*, coliformes e ausência para *Salmonella*. Justificado pelo controle da higiene dos utensílios empregados e da manipulação das matérias-primas e do queijo durante todo o processamento os resultados obtidos.

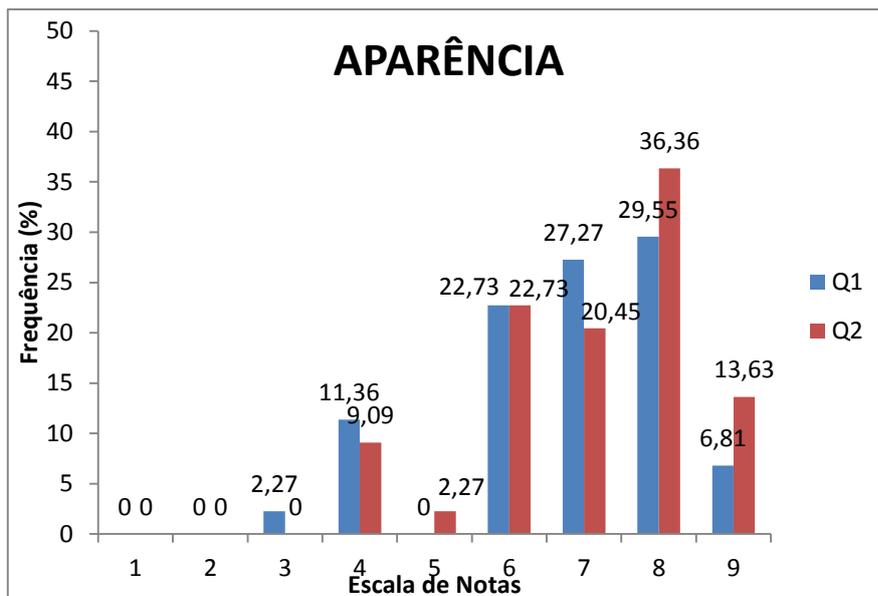
**Tabela 5.** Populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Staphylococcus coagulase positiva*, populações de Coliformes e *Salmonella* obtidas para o queijo Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus*), após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Parâmetros Microbiológicos	Tempo (Dias)				
	1	7	14	21	28
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Populações de Coliformes	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Salmonella</i>	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência

#### 5.4 Análise Sensorial

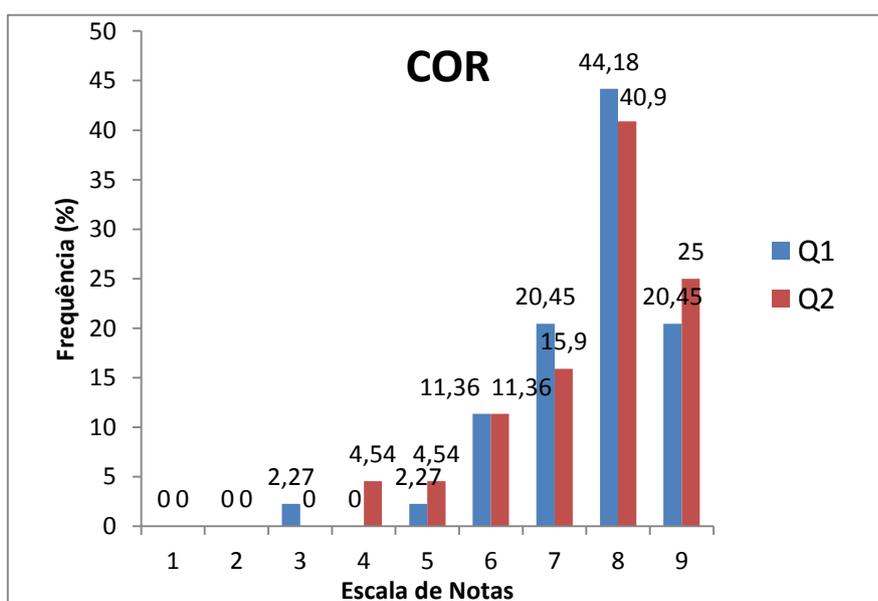
A Figura 2 representa os resultados obtidos para a avaliação da aceitação para aparência.

Como os maiores valores da escala hedônica equivalem a gostar da amostra, pode-se notar que em relação à avaliação da aceitação pelo atributo aparência a amostra Q2 foi a que obteve maior frequência do índice hedônico (8), que se refere na escala a “gostei muito”.



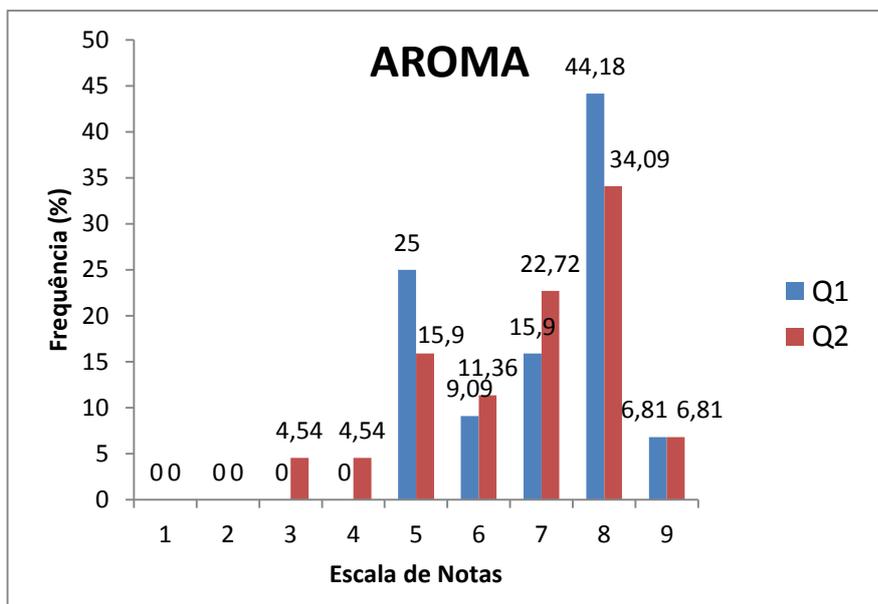
**Figura 2.** Frequência das notas da escala hedônica para aparência das amostras Q1 e Q2.

Com relação à avaliação da aceitação pelo atributo cor, a amostra Q1 foi a que obteve maior frequência do índice hedônico (8), que se refere na escala a “gostei muito”. De acordo com a FIGURA 3, pode-se notar que ambas as amostras Q1 e Q2, apresentaram alto grau de aceitação com relação ao atributo cor.



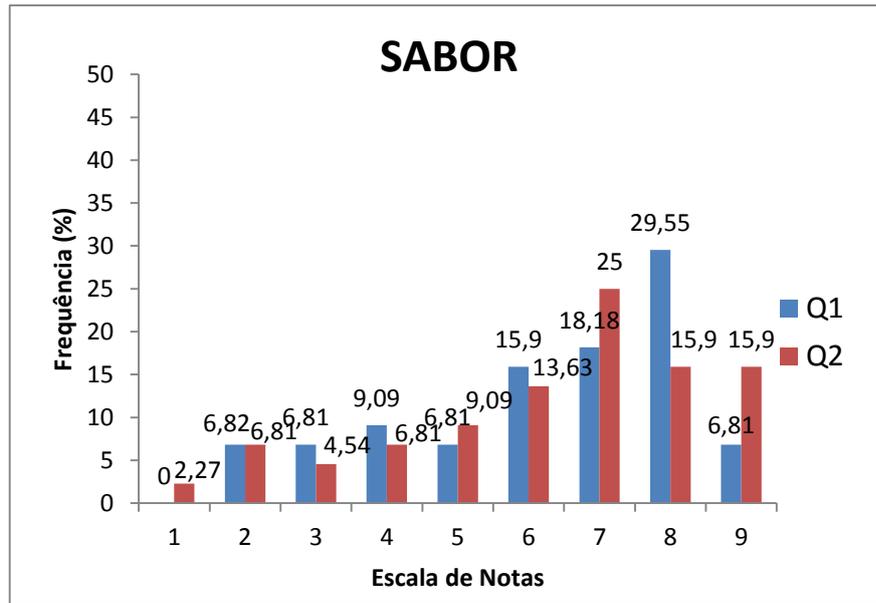
**Figura 3.** Frequência das notas da escala hedônica para cor das amostras Q1 e Q2.

A Figura 4 representa os resultados obtidos para a avaliação da aceitação para aroma. A avaliação da aceitação do atributo aroma das amostras Q1 e Q2 obtiveram maior frequência do índice hedônico (8), que se refere na escala a “gostei muito”, sendo que houve um destaque maior para a amostra Q1.



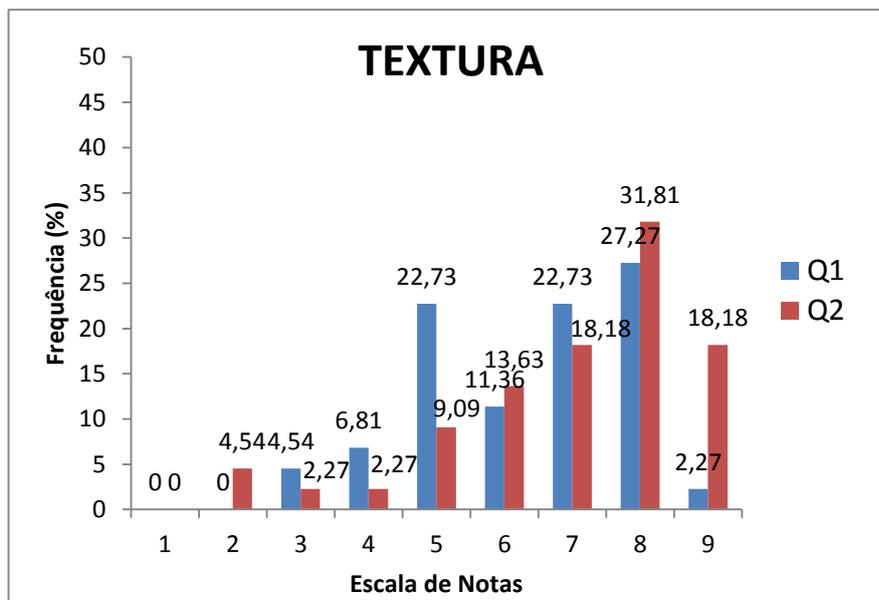
**Figura 4.** Frequência das notas da escala hedônica para aroma das amostras Q1 e Q2.

Com relação à avaliação ao atributo sabor, a amostra Q1 foi a que obteve maior frequência do índice hedônico (8), que se refere na escala a “gostei muito”, sendo que 70,43% foi na faixa de Gostei a Gostei muitíssimo. De acordo com a FIGURA 5, Pode-se nota que ambas as amostras Q1 e Q2, apresentaram boa aceitação com relação ao atributo sabor.



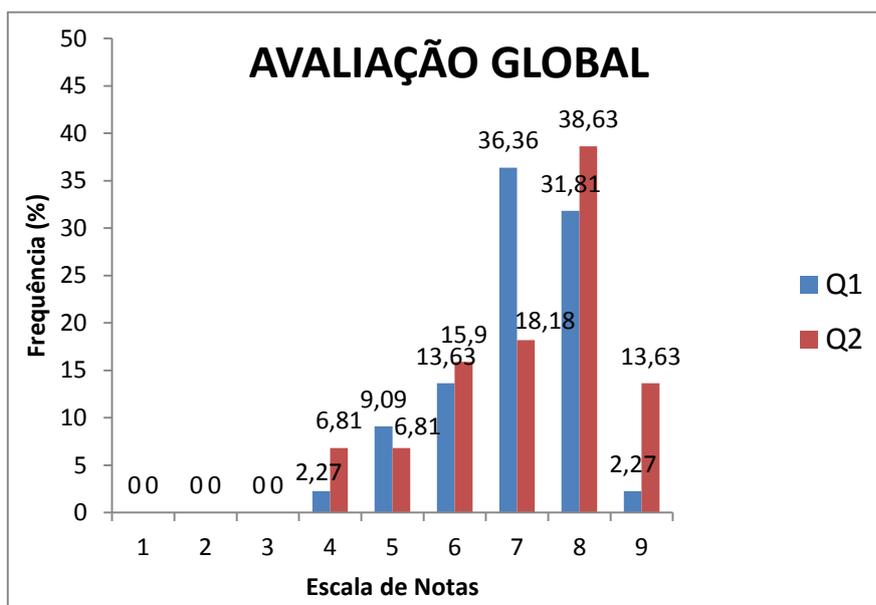
**Figura 5.** Frequência das notas da escala hedônica para sabor das amostras Q1 e Q2.

A Figura 6 representa os resultados obtidos para textura. A avaliação da aceitação do atributo textura das amostras Q1 e Q2 obtiveram maior frequência do índice hedônico (8), que se refere na escala a “gostei muito”, sendo que houve um destaque maior para a amostra Q2.



**Figura 6.** Frequência das notas da escala hedônica para textura das amostras Q1 e Q2.

Na avaliação global (Figura 7) das amostras Q1 e Q2 obtiveram maior frequência do índice hedônico (8), para o queijo Q2 que se refere na escala a “gostei muito”. No entanto, o queijo Q1 apresentou maior frequência do índice (7) que se refere na escala a “gostei moderadamente”.



**Figura 7.** Frequência das notas da escala hedônica para avaliação global das amostras Q1 e Q2.

A tabela 6 apresenta os valores do perfil sensorial e aceitação do queijo Q1 (controle – sem adição de culturas) e Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus*).

**Tabela 6.** Perfil sensorial e aceitação dos queijos Q1 (sem adição de culturas) e Q2 (com adição de *Lactobacillus acidophilus*).

QUEIJOS	Aparência	Cor	Aroma	Sabor	Textura	Av. global
<b>Q1</b>	6,77 ± 1,47	7,59 ± 1,22	6,97 ± 1,35	6,25 ± 2,03	6,5 ± 1,64	6,90 ± 1,23
<b>Q2</b>	7,22 ± 1,27	7,52 ± 1,33	6,72 ± 1,57	6,29 ± 2,18	6,97 ± 1,82	7,15 ± 1,41

Para os atributos avaliados as médias situaram-se entre as notas 7 “gostei moderadamente” e 6 “gostei ligeiramente”, o que mostra boa aceitabilidade dos queijos.

Os atributos aparência, sabor, textura e avaliação global do queijo Q2 - com adição de *Lactobacillus acidophilus* apresentaram médias superiores quando comparadas com Q1 – sem adição de culturas. O atributo cor apresentou melhor aceitabilidade com média de 7,59 para Q1 e 7,52 para Q2.

Similarmente ao observado no presente estudo para o queijo Q2 - com adição de *Lactobacillus acidophilus*, a adição de cepas probióticas em queijos tem sido correlacionada com a melhoria das características sensoriais.

RIBEIRO (2009) observou que o queijo minas frescal produzido a partir de retentados, obtidos por ultrafiltração de leite, é adequado para a incorporação de *Lactobacillus acidophilus*, não alterando as características sensoriais do produto.

SOUZA (2006) revelou que a adição da bactéria probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5 resultou em benefícios sensoriais dos queijos minas frescal produzidos com leite integral.

Em estudo realizado por BURITI *et al.* (2005), o emprego de *Lactobacillus paracasei* LBC 82 não produziu alterações sensoriais em queijos minas frescal produzidos com acidificação direta com ácido láctico ou com acidificação com cultura mesofílica tipo O composta de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, após 7 dias de armazenamento a  $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ .

## 6. CONCLUSÃO

- O queijo de minas frescal é adequado para a incorporação da bactéria probiótica pois a cultura *Lactobacillus acidophilus* permaneceu viável, ao longo de 28 dias de armazenamento do queijo Q2, podendo ser classificado dessa forma, como potencialmente probiótico.
- Na avaliação sensorial, o *Lactobacillus acidophilus* não alterou qualidade sensorial do queijo de minas frescal. O que o queijo Q2 – com adição de o *Lactobacillus acidophilus* melhorou a qualidade sensorial do queijo, sendo este, preferido pelos julgadores.
- A fabricação de queijos frescos, como o objeto deste estudo, com aplicação das Boas Práticas de Fabricação e Manipulação de Alimentos nos traz resultados positivos quando se realizam testes de qualidade microbiológica dos mesmos. Como o observado, a pasteurização da matéria-prima foi efetiva, não ocorrendo contaminação cruzada pós tratamento térmico e durante as demais etapas de fabricação do queijo minas frescal.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, C.C.C.; GEMAL, N.D.H.; CORTEZ, M.A.S.; FRANCO, R.M.; MANO, S.B. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal; *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.63, n.6, p.1559-1566, 2011.

AOAC. (2010). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 18th ed – Revision, AOAC, Washington, USA.

AQUINO, F. T. M. Produção do queijo de coalho no estado da Paraíba: acompanhamento das características físico-químicas do processamento. João Pessoa: 1983. 74 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba.

ALVES, L. L. et al. Avaliação sensorial de cream cheeses potencialmente simbióticos utilizando a metodologia de superfície de resposta. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.4, p. 409-416, 2008.

ANDRADE, A. A. Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação de queijo de coalho produzido no Estado do Ceará. 2006. 127 p. (Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Ceará.

ANGELIS, R. C. **Alergias alimentares**. São Paulo: Atheneu, 2006. 123p.

AQUINO, F. T. M. **Produção do queijo de coalho no Estado da Paraíba**: acompanhamento das características físico-químicas do processamento. 1983, 81 p. (Dissertação). Universidade Federal da Paraíba.

BACK, D.; MATTANNA, P.; ANDRADE, D. F.; SIMÕES, G. D.; RICHARDS, N. S. P. S.; Viabilidade probiótica de queijos minas frescal com teor reduzido de lactose; *Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”*, Jan/Fev, nº 390, 68: 27-35, 2013.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L. et al. Recent advances in cheese microbiology. **Internacional Dairy Journal**, v. 11, p. 259-274, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA.. **Alimentos com alegações de saúde, novos alimentos / ingredientes, os compostos bioativos e probióticos**, 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: Abril. 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Resolução - RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Estabelece o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou

ingredientes. Resolução n. 16, 30 de Abril de 1999. Diário Oficial da União; 3 de Dezembro de 1999.

Brasil. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da República do Brasil**, Brasília, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 4, de 01 de março de 2004. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal. *Diário Oficial da União*, Brasília, 05 de março de 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 18/09/2003.

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

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

BURITI, F.C.A. et al. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, n.1, p.75-84, 2008.

BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; SAAD, S.M.I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v.15, p.1279-1288, 2005a.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; ASSIS, E. G.; SAAD, S. M. I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT-Food Science and Technology**, London, v. 38, n. 2, p. 173–180, 2005b.

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

COCKBURN, A. Assuring the safety of GM food. *Journal Biotechnol.* 98:79 – 106, 2002.

COCONNIER, M.H.; BERNET, M. F.; CHAUVIERE, G.; SERVIN, A.L. Adhering heatkilled human *Lactobacillus acidophilus*, strain LB, inhibits the process of pathogenicity of diarrhoeagenic bacteria in cultured human intestinal cells. **Journal of Diarrhoeal Diseases Research**, v.11, p.253-242, 1993.

CRUZ, A. G.; BURITI, F. C. A.; SOUZA, C. H. B.; FARIA, J. A. F.; SAAD, S.M.I. "Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspect. *Trends in food Science and technology*, v.20, n.8, p.344-354, 2009.

DAMODARAN, S., PARKIN, K. L., FENNEMA, O. R.; **Química de Alimentos de Fennema**; 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DIAS, B. M.; Influência da adição de CO<sub>2</sub> ao leite sobre as características físico-químicas e microbiológicas do queijo Minas Frescal; Dissertação, Campinas-SP, 124 p., 2009.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS (EPAMIG). **Os queijos na Fazenda**. Rio de Janeiro: Globo, 1987. 219p. (Coleção do Agricultor-Laticínios).

EMBRAPA, **EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA** – Gado de Leite. Disponível em: <http://www.cnpjl.embrapa.br/>. Acesso em: 11 abril de 2011.

EUROPEAN COMMISSION CONCERTED ACTION ON FUNCTIONAL FOOD SCIENCE IN EUROPE. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *Br. J. Nutr.*, v.81, n.4, suppl.1, p.S1-S27, 1999.

FARKYE, N. Y. Cheese technology. **International Journal of Dairy Technology**, v.57, n.2/3, p.91-98, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf). Acesso em: 3 fev. 2013. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. Cheese rheology and texture. In P. F. FOX, T. P. GUINEE, T. M. COGAN, P. L. H. McSWEENEY (eds.). **Fundamentals of cheese science**. Aspen, Gaithersburg: Aspen. 2000. 587 p.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.**, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo: Fonte, 1999. 176p.

GARCIA, E. F.; Elaboração e caracterização de queijo de coalho de leite de cabra adicionado de bactérias lácticas; Recife: 2011. 89 p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco.

GIBSON, G.R.; FULLER, R. Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward indentifying probiotics and prebiotics for human use. **J. Nutr.**, Bethesda, v.130, p.391S-394S, 2000.

HELLER, K. J.; BOCKELMANN, W.; SCHRENMEIR, J.; DEVRESE, M; Cheese and its potencial as a probiotic food;. FARNWORTH, E. R., ed. Handbook of fermented functional food. Boca Raton, p. 203-225, 2003.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4. ed. São Paulo, v. 1, p. 1018, 2008.

ISEPON, J.S.; SANTOS, P.A.; SILVA, M.A.P. Avaliação microbiológica de queijos minas frescal comercializados na cidade de Ilha Solteira – SP. Higiene Alimentar, v.17, n.106, p.89-94. 2003.

ISOLAURI, E.; SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.C. Probiotics. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, Amsterdam, v.18, n.2, p.299-313, 2004.

JAYAMANNE, V. S.; ADAMS, M. R. Determination of survival, identity, and stress resistance of probiotic bifidobactéria in bio-yoghurts. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 189 - 194, 2006.

KHAN, R. S.; GRIGORA, J.; WINGERA, R.; WIN, Alan; Functional food product development e Opportunities and challenges for food manufacturers; Trends in Food Science & Technology v.30 p. 27-37, 2013.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 3, p. 329-347, 2008.

LEE, Y.K.; SALMINEN, S. The coming age of probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v.6, p.241-245, 1995.

MARUYAMA, L.Y. et al. Textura instrumental de queijo Petit Suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.386-393, 2006..

MICHIDA, H.; TAMALAMPUDI, S.; PANDIELLA, S.S.; WEBB, C.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Effectof cereal extraticsand cereal fiberonviabilityof *Lactobacillusplantarum*under gastrointestinal tractconditions. **BiochemicalEngineeringJournal**, V.28, p. 73-78, 2006.

OLIVEIRA, L. T.; BATISTA, S.M.M. A atuacao dos probioticos na resposta imunologica. **Revista Nutrição em Pauta**, 2002.

OLIVEIRA, J. S. Queijo: fundamentos tecnológicos. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia / Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia. 1981. 233p.

ONG, L.; SHAH, N.P. Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. **LWT- Food Science and Technology**, Oxford, v.42, n.7, p.1260-1268, 2009.

ORDÓÑEZ, J. A., Tecnologia de Alimentos Vol. 2: Alimentos de origem animal. Porto Alegre: artmed, 2005.

PARODIA, C.G. **Desenvolvimento de queijo Cottage simbiótico**. 2010. 120p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Quim. Nova*, v.27, p.293-300, 2004.

PINTO, F.G.S., SOUZA, M., SALING, MOURA, S. A.C.; Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil; *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.78, n.2, p.191-198, abr./jun., 2011.

RIBEIRO, E. P.; SIMÕES, L. G., JURKIEWICZ, C. H.; Desenvolvimento de queijo Minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração; *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29(1): 19-23, 2009.

ROBERFROID, M. B. Inulyn-type fructans: functional food ingredients. *Journal of Nutrition*, v.137, n.11, p. 2493S-2502S, 2007.

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; Probióticos e prebióticos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas. 1 ed. São Paulo, Livraria Varela, 2011.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. São Paulo, v.42, n.1, p. 1-16, 2006.

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

SCORTT, R. Fabricación de quesos. 2 ed. Zaragoza: acribia, 520p. 1991.

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

SANGALETTI, N., PORTO, E., BRAZACA, S. G. C., YAGASAKI, C. A., DALLA DEA, R. C., SILVA, M. V. ;Estudo da vida útil de queijo Minas; **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 29(2): 262-269, abr.-jun. 2009.

SARAIVA, C. B.; MAGALHÃES, F. A. R., MOREIRA, V. E., BARROS, S. O.; Aspectos ambientais da produção do queijo Minas artesanal; *Revista Instituto Laticínios “Cândido Tostes”*, Set/Out, nº 388, 67: 41-47, 2012.

SERVIN, A.L.; COCONNIER, M.H.; Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and the interaction with pathogens. *Best Practice & Research. Clinical Gastroenterology* 17, 741– 754, 2003.

SOUZA, C. H. B.; Influência de uma cultura *starter* termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas frescal probióticos; Dissertação, São Paulo- SP, 110 p., 2006.

SOUZA, C.H.B.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physico-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. **LWT- Food Science and Technology**, Oxford, v.42, n.2, p.633-640, 2009.

TALWALKAR, A.; MILLER, C. W.; KAILASAPATHY, K.; NGUYEN, M. H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 39, n. 6, p. 605-611, 2004.

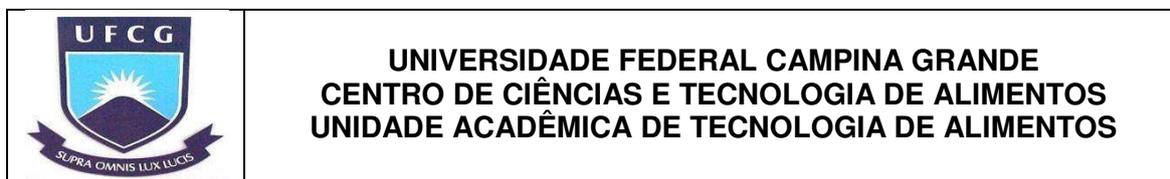
YAMAGUCHI, P. **Japan's nutraceuticals today - Functional foods Japan 2006**. Disponível em: <<http://www.npicenter.com/anm/templates/news>>. Acesso: Abril. 2013.

ZHAO, R.; SUN, J.; TORLEY, P.; WANG, D.; NIU, S. Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.24,n.8, p.1349-1354, 2008.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, Barking, v.8, n. 5 – 6, p.473-479, 1998.

## APÊNDICE

**Figura 1A.** Ficha de avaliação sensorial utilizando Escala Hedônica para os atributos aparência cor, aroma sabor textura e avaliação global. Fonte: Elaboração própria, 2013.



### Teste de Aceitação

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Escolaridade: \_\_\_\_\_ Data: 19/03/2013

Você está recebendo 02 amostras codificadas de Queijo Minas Frescal com potencial probiótico. Prove-as da esquerda para direita, avalie sensorialmente as amostras de acordo com cada atributo nos quadros e escreva o valor da escala que você considera correspondente à amostra (código) no que diz respeito aos atributos avaliados. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha.

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

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (CÓDIGO)	
Aparência		
Cor		
Aroma		
Sabor		
Textura		
Avaliação Global		

