

CARLISE BEDDIN FRITZEN FREIRE

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Bifidobacterium* Bb-12 E/OU DO EMPREGO DA
ACIDIFICAÇÃO DIRETA SOBRE AS PROPRIEDADES DE QUEIJO MINAS
FRESCAL**

FLORIANÓPOLIS

2009



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

Carlise Beddin Fritzen Freire

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Bifidobacterium* Bb-12 E/OU DO EMPREGO DA
ACIDIFICAÇÃO DIRETA SOBRE AS PROPRIEDADES DE QUEIJO MINAS
FRESCAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio

Florianópolis

2009

**EFEITO DA ADIÇÃO DE *Bifidobacterium* Bb-12 E/OU DO EMPREGO DA
ACIDIFICAÇÃO DIRETA SOBRE AS PROPRIEDADES DE QUEIJO MINAS
FRESCAL**

Por

Carlise Beddin Fritzen Freire

Dissertação aprovada como requisito final para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, pela comissão formada por:

Presidente:

Prof^a. Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio (UFSC)

Membro externo:

Prof. Dr. José Carlos Cunha Petrus (UFSC)

Membro interno:

Prof^a. Dr^a. Renata Dias de Mello Castanho Amboni (UFSC)

Membro interno:

Prof. Dr. Pedro Luiz Manique Barreto (UFSC)

Coordenadora:

Prof^a. Dr^a. Renata Dias de Mello Castanho Amboni (UFSC)

Florianópolis, maio de 2009.

Agradecimentos

A Deus, por estar guiando e iluminando o meu caminho.

À minha família amada - pai (Artemio), mãe (Lourdes), irmãs (Maurícia e Lucélia), cunhados (Alexandre e Fred) e em especial ao meu querido Alexandre - por todo apoio e por estarem sempre ao meu lado.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pelo aprendizado e oportunidade de realizar o mestrado.

À Prof^a. Elane, pela orientação e dedicação neste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Leite e Derivados: inicialmente Fabi e Juliana, no decorrer do trabalho, Jana, Aure, Laura e Juliana Mainardi, pela ajuda e boa companhia.

À Prof^a. Edna e todos do Laboratório de Frutas e Hortaliças pelo carinho e disposição para ajudar nas análises.

Ao Prof. Ernani por viabilizar as análises microbiológicas no laboratório de Biotecnologia Alimentar.

Ao Prof. João Laurindo e à Carmen pela ajuda e oportunidade de realizar as análises reológicas no Laboratório de Propriedades Físicas (Engenharia de Alimentos/ UFSC).

À Prof^a. Renata, pelas sugestões na análise sensorial.

À banca, por aceitar o convite de participação e pelas contribuições fornecidas.

Aos julgadores da análise sensorial.

A todos os professores, funcionários e colegas do Depto. de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Ao CNPq, pela bolsa de estudo.

Às empresas Chr. Hansen e Cryovac.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho. Obrigada!

“Se podes olhar, vê. Se podes ver, repara.”

Livro Dos Conselhos De El-Rei D. Duarte

FRITZEN-FREIRE, Carlise Beddin. **Efeito da adição de *Bifidobacterium* Bb-12 e/ou do emprego da acidificação direta sobre as propriedades de queijo Minas Frescal.** 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

Resumo

Em uma primeira etapa foi avaliado o efeito da adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* Bb-12 e de ácido láctico nas propriedades microbiológicas, físico-químicas, reológicas, microestruturais e de cor de queijo Minas Frescal nos dias 1 e 28 de armazenamento (5 ± 1 °C). Queijos sem ácido láctico (Q1 e Q2) e com ácido láctico (Q3 e Q4) foram fabricados, sendo a bifidobactéria adicionada nos queijos Q2 e Q3. Durante o armazenamento, queijos com bifidobactéria puderam ser classificados como probióticos, pois apresentaram contagem de células viáveis acima de 6 log UFC/g. A adição da bifidobactéria nos queijos Q2 e Q3 não influenciou ($p > 0,05$) no rendimento, no teor protéico e lipídico. Além disso, no dia 28, os queijos sem ácido láctico apresentaram menor ($p < 0,05$) umidade em comparação aos adicionados de ácido láctico, influenciando no comportamento reológico e microestrutural, tornando-os mais elásticos, firmes e compactos, no entanto, todos os queijos avaliados demonstraram um comportamento viscoelástico com maior contribuição da componente viscosa. Os valores de L^* e b^* diminuíram ($p < 0,05$) durante o armazenamento em todos os queijos, sendo que apenas os adicionados de bifidobactéria mantiveram os valores de a^* e ΔE , ao longo dos 28 dias. Em uma segunda etapa foi realizada a avaliação sensorial dos queijos Minas Frescal contendo a bifidobactéria e diferenciados quanto à adição de ácido láctico, através de testes de comparação pareada-preferência, perfil de consumidores, aceitabilidade global e intenção de compra. A adição de ácido láctico não interferiu ($p > 0,05$) na preferência dos queijos, no entanto, os consumidores que avaliaram este produto apresentaram como perfil o gênero feminino, com idade entre 18 e 27 anos e que já possuem o hábito de consumir alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino. A maioria dos consumidores classificou os queijos como de boa aceitabilidade, sendo que comprariam este tipo de alimento funcional.

Palavras-chave: queijo Minas Frescal, probióticos, ácido láctico, físico-química, reologia, microestrutura, cor, avaliação sensorial.

FRITZEN-FREIRE, Carlise Beddin. **Effect of *Bifidobacterium* Bb-12 addition and / or direct acidification on the properties of Minas Frescal cheese**. 2009. Dissertation (Master on Food Science) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC.

Abstract

In a first stage, the effect of the addition of a probiotic bacteria *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid in the microbiological, physical-chemical, rheological, microstructural and the colour proprieties of Minas Frescal cheeses were evaluated after 1 and 28 days storage (5 ± 1 °C). The cheeses were produced without lactic acid (C1 and C2) and with lactic acid (C3 and C4), and the bifidobacteria was added in to cheeses C2 and C3. During storage, the cheeses containing bifidobacteria were classified as probiotics. The addition of bifidobacteria in the cheeses C2 and C3 did not influenced the yield, the proteic, and the lipidic levels ($P > 0.05$). Moreover, after 28 days of storage, the cheeses without lactic acid showed lower moisture if compared with the cheeses containing lactic acid ($P < 0.05$). The absence of lactic acid had an influence in the rheological and microstructural behavior, making the cheeses more elastic, firm and compact. However, all the cheeses evaluated showed a higher tendency to viscous than to elastic. In all the manufactured cheeses of this work, the storage decreased ($P < 0,05$) the L* and b* values. Only the cheeses containing bifidobacteria maintained the values of a * and ΔE over the 28 days. In a second stage, Minas Frescal cheeses containing probiotic bacteria (*Bifidobacterium* Bb-12), with and without the addition of lactic acid, were evaluated for the determination of sensorial analysis (paired-preference comparison test, the consumers profile, the global acceptability and the purchase intention). The addition of lactic acid did not interfere in the cheeses' preference. The main public for this product would be the female genera, with ages between 18 and 27 years old, and that have already the habit to consume foods that help to improve the functioning of the intestine. Moreover, it was possible to observe that the majority of the consumers classified the cheeses as having good acceptability and they would buy this type of functional food.

Keywords: Minas Frescal cheese, probiotics, lactic acid, microbiology, physical-chemical, rheology, microstructural, colour, sensorial analysis.

Lista de figuras

Capítulo 1

- Figura 1 Curva típica de relaxação de materiais viscoelásticos. 25
- Figura 2 Curva típica de tensão *versus* deformação em queijos. 26
- Figura 3 Coordenadas tridimensionais para medida instrumental da cor. 28

Capítulo 2

- Figura 1 Fluxograma das etapas empregadas na obtenção dos queijos Minas Frescal. 44
- Figura 2 Micrografias da microscopia eletrônica de varredura das quatro 55
formulações; (a) queijo sem ácido lático e sem bifidobactéria - Q1, (b)
queijo sem ácido lático e com bifidobactéria - Q2, (c) queijo com ácido
lático e com bifidobactéria - Q3 e (d) queijo com ácido lático e sem
bifidobactéria - Q4; de queijo Minas Frescal no dia 1 de armazenamento.
- Figura 3 Micrografias da microscopia eletrônica de varredura das quatro 56
formulações; (a) queijo sem ácido lático e sem bifidobactéria - Q1, (b)
queijo sem ácido lático e com bifidobactéria - Q2, (c) queijo com ácido
lático e com bifidobactéria - Q3, (d) queijo com ácido lático sem
bifidobactéria - Q4 e (e) bifidobactéria ampliada; de queijo Minas Frescal
no dia 28 de armazenamento.

Capítulo 3

- Figura 1 Freqüência de notas da aceitabilidade global dos queijos com bifidobactéria 79
e com ácido lático e dos queijos com bifidobactéria e sem ácido lático, de
acordo com escala hedônica de cinco pontos “1 – Desgostei muitíssimo, 2-
Desgostei, 3 – Indiferente, 4 – Gostei, 5 – Gostei muitíssimo”.
- Figura 2 Freqüência de notas de intenção de compra dos queijos com bifidobactéria 80
e com ácido lático e dos queijos com bifidobactéria e sem ácido lático, de
acordo com escala de cinco pontos “1 – Certamente não compraria, 2-
Provavelmente não compraria, 3 – Talvez compraria/ talvez não compraria,
4 – Provavelmente compraria, 5 – Certamente compraria”.

Lista de tabelas

Capítulo 1

Tabela 1	Variação da composição físico-química do leite de vaca.	16
----------	---	----

Capítulo 2

Tabela 1	Variáveis empregadas na fabricação dos queijos Minas Frescal Adicionados (A) ou Não Adicionados (NA) de <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 e/ou ácido láctico.	43
Tabela 2	Valores médios (desvio padrão) do rendimento e da composição físico-química dos diferentes queijos Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.	51
Tabela 3	Valores médios (desvio padrão) da acidez, pH e sinerese nos dias 1 e 28 de armazenamento dos quatro tipos de queijo Minas Frescal.	52
Tabela 4	Valores médios (desvio padrão) dos parâmetros reológicos de compressão uniaxial e de relaxação para os quatro tipos de queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.	53
Tabela 5	Parâmetros médios (desvio padrão) e diferença de cor para as quatro formulações de queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.	58

Capítulo 3

Tabela 1	Dados socioeconômicos de potenciais consumidores de queijo Minas Frescal probiótico.	76
Tabela 2	Hábitos de consumo de potenciais consumidores de queijo Minas Frescal probiótico.	77

Sumário

Introdução	13
Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica	15
1.1 Leite	16
1.2 Queijo Minas Frescal	17
1.3 Probióticos	20
1.4 Incorporação de Bifidobactérias em Queijos	22
1.5 Análise Reológica	23
1.6 Análise Microestrutural	26
1.7 Análise de Cor	27
1.8 Análise Sensorial	28
Referências Bibliográficas	30
Capítulo 2 – Influência da incorporação de <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 e ácido láctico nas propriedades de queijo Minas Frescal	38
Resumo	39
Abstract	40
1 Introdução	41
2 Material e Métodos	42
2.1 Material	42
2.2 Delineamento experimental	43
2.3 Fabricação dos queijos Minas Frescal	43
2.4 Análise microbiológica	45
2.5 Análise físico-química	45
2.6 Medida do índice de sinerese	45
2.7 Análise reológica	46
2.7.1 Compressão uniaxial	46
2.7.2 Teste de relaxação	47
2.8 Análise microestrutural	47
2.9 Análise de cor	48
2.10 Análise estatística	48
3 Resultados e Discussão	49

3.1 Análise microbiológica	49
3.2 Análise físico-química	50
3.3 Análise reológica	52
3.4 Análise microestrutural	55
3.5 Análise de cor	57
4 Conclusão	59
Referências Bibliográficas	59
Capítulo 3 – Aceitabilidade sensorial de queijo Minas Frescal probiótico	65
Resumo	66
Abstract	67
1 Introdução	68
2 Material e Métodos	69
2.1 Material	69
2.2 Elaboração de queijo Minas Frescal	70
2.3 Análises físico-química e microbiológica	70
2.4 Análise sensorial	71
2.4.1 Teste de preferência	72
2.4.2 Análise do perfil dos consumidores	72
2.4.3 Teste de aceitabilidade global e intenção de compra	72
2.5 Análise estatística	72
3 Resultados e Discussão	73
3.1 Análises físico-química e microbiológica	73
3.2 Análise sensorial	74
3.2.1 Preferência	74
3.2.2 Perfil dos consumidores	75
3.2.3 Aceitabilidade global e intenção de compra	78
4 Conclusão	81
Referências Bibliográficas	81
Conclusões	86
Anexos	87
Anexo A – Trabalhos parciais apresentados em eventos.	88
Anexo B – Submissão do artigo “ The influence of <i>Bifidobacterium</i> Bb-12 ”	98

and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese”

para publicação no “**Journal of Food Engineering**” (ISSN: 0260-8774).

Anexo C – Parecer de aprovação do comitê de ética em pesquisa com seres humanos da UFSC. 100

Apêndices 103

Apêndice A – Curvas de relaxação: ajuste dos dados experimentais para a taxa inicial de decaimento da força (c_1/c_2) a 104

Apêndice B – Ficha para avaliação sensorial do teste de comparação pareada – preferência. 107

Apêndice C – Questionário para avaliação do perfil dos potenciais consumidores de queijo Minas Frescal com probióticos. 109

Apêndice D – Ficha para avaliação sensorial dos testes de aceitabilidade global e intenção de compra. 111

Introdução

O Brasil, com uma produção estimada de 27,08 bilhões de litros no ano de 2008, apresenta a sexta colocação entre os maiores produtores mundiais de leite. Também no ano de 2008, a produção brasileira de queijo destacou-se com uma quantidade em torno de 640.000 toneladas (BRASIL, 2009). O incentivo à produção de queijos iniciou-se quando muitos laticínios, com atuação em mercados regionais foram adquiridos por grandes empresas nacionais e multinacionais, resultando em novas plantas industriais, com maior capacidade de processamento e conseqüentemente, viabilizando inovações relativas ao desenvolvimento de derivados lácteos (MARTINS et al., 2004). Além disso, o aumento da demanda por alimentos saudáveis, como os alimentos funcionais, tem estimulado o desenvolvimento de novos produtos na indústria mundial (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002).

Os alimentos funcionais são definidos como quaisquer alimentos ou aditivos alimentares capazes de promover benefícios à saúde, além de possuírem os nutrientes já tradicionais (HALSTED, 2003), sendo que essa promoção se dá por mecanismo não previsto pela nutrição convencional (SANDERS, 2003). Entretanto, nas últimas décadas, este conceito voltou-se para os alimentos contendo probióticos (KIP; MEYER; JELLEMA, 2006). Probióticos são definidos como microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, são capazes de conferir benefícios à saúde humana, principalmente na manutenção da microbiota intestinal, atividades anticarcinogênicas, antimutagênicas e efeitos antagônicos contra patógenos (SANDERS, 2003).

A utilização de microrganismos probióticos em alimentos de origem láctea, como os queijos, vem aumentando consideravelmente nos últimos anos (FARIA; BENEDET; GUERROUE, 2006). O queijo Minas Frescal é um produto de grande aceitação e caracteriza-se como um queijo tipicamente brasileiro. Além disso, de acordo com Buriti, Rocha e Saad (2005), apresenta condições ideais para o crescimento de probióticos, incluindo as propriedades tecnológicas e as características físico-químicas do próprio produto.

O desenvolvimento de novos produtos com comprovado efeito probiótico é tema atual de pesquisas, devido a grande relevância na área da saúde e na indústria alimentícia. A viabilidade e a manutenção de concentrações adequadas dos microrganismos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em queijo Minas Frescal já foram comprovadas em estudos realizados por Buriti, Rocha e Saad (2005), Buriti et al. (2007) e Souza e Saad (2009). Porém, pesquisas envolvendo a adição da cultura probiótica *Bifidobacterium* Bb-12 em queijo Minas Frescal, elaborado com/sem o emprego da acidificação direta, e as suas implicações nas propriedades microbiológicas, físico-químicas, reológicas, microestruturais, de cor e sensoriais deste tipo de queijo são praticamente inexistentes.

Enfim, este trabalho, apresentado na forma de artigos, está dividido em capítulos que apresentam os seguintes objetivos:

(a) Capítulo 1: embasamento bibliográfico abordando os principais temas envolvidos no trabalho, ou seja, leite, queijo Minas Frescal, probióticos, incorporação de bifidobactérias em queijos, análise reológica, análise de cor e análise sensorial.

(b) Capítulo 2: influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades de queijo Minas Frescal, cujo objetivo foi avaliar a influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades microbiológicas, físico-químicas, reológicas, microestruturais e de cor de queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento sob refrigeração (5 ± 1 °C).

(c) Capítulo 3: aceitabilidade sensorial de queijo Minas Frescal probiótico, cujo objetivo foi avaliar a preferência, o perfil dos consumidores, a aceitabilidade global e a intenção de compra de queijos Minas Frescal adicionados de bactéria probiótica (*Bifidobacterium* Bb-12), diferenciados quanto à adição de ácido láctico.

Vale ressaltar que todos os comprovantes dos trabalhos parciais publicados em eventos científicos da área estão apresentados em anexo (Anexo A).

Capítulo 1
Revisão Bibliográfica

1 Revisão Bibliográfica

1.1 Leite

O leite, líquido de cor branca opaca, odor suave e gosto levemente adocicado, é o produto integral da ordenha total e ininterrupta de uma fêmea leiteira sã (ILCT, 2003). A composição do leite (Tabela 1) é determinante para o estabelecimento da sua qualidade nutricional, aptidão para processamento e consumo humano, podendo variar em função da raça, da alimentação, da idade, do número de parições, do tempo de lactação e das variações climáticas (FENNEMA, 2000).

As proteínas do leite constituem ingredientes muito valorizados pelas suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais. Do ponto de vista nutritivo e industrial, as proteínas do leite de maior aplicação e valor econômico são as caseínas e as proteínas do soro (MILLER; JARVIS; MCBEAN, 2000; SGARBIERI, 2005).

Tabela 1: Variação da composição físico-química do leite de vaca.

CONSTITUINTES	VARIAÇÃO % (m/m)
Água	85,5 - 88,7
Proteínas	2,3 - 4,4
Gordura	2,4 - 5,5
Lactose	3,8 - 5,3
Sais minerais	0,53 - 0,80

Fonte: ILCT (2002).

As caseínas podem formar partículas coloidais, ou seja, micelas compostas por diversas frações, entre elas α , β , γ e κ -caseína (ORDÓÑEZ et al., 2005). As caseínas são proteínas globulares, que apresentam cerca de 80 % do teor protéico total do leite, precipitando em pH 4,6 ou sob ação de uma enzima coagulante (FENNEMA, 2000). A hidrólise enzimática que ocorre na manufatura de queijos resulta na remoção ou dissociação da κ -caseína da superfície das micelas, aumentando a hidrofobicidade da

superfície e conseqüentemente, resultando na agregação das micelas e formação do coágulo (FOX et al., 2000; SGARBIERI, 2005). Já as principais proteínas do soro, a β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, encontram-se dissolvidas na fase aquosa do leite (LOURENÇO, 2000) e precipitam por ação do calor (90 a 100°C) em presença de ácido (FENNEMA, 2000).

A fração lipídica do leite apresenta-se como pequenos glóbulos contendo principalmente triglicerídeos, envolvidos por uma membrana lipoprotéica, predominando na sua composição os ácidos graxos palmítico e oléico. A lactose é o glicídeo característico do leite, formada por glicose e galactose, sendo o constituinte sólido menos variável (ORDÓÑEZ et al., 2005).

As vitaminas lipossolúveis (A, D e E) aparecem associadas à gordura do leite, enquanto as vitaminas hidrossolúveis podem ser isoladas a partir do soro do leite. O leite é ainda considerado excelente fonte de riboflavina, vitamina B₁₂ e tiamina (FENNEMA, 2000; ORDÓÑEZ et al., 2005).

O leite contém também teores consideráveis de cloro, fósforo, potássio, sódio, cálcio e magnésio e baixos teores de ferro, alumínio, bromo, zinco e manganês, formando sais orgânicos e inorgânicos (ILCT, 2002). A associação entre os sais e as proteínas do leite é um fator determinante para a estabilidade das caseínas a diferentes agentes desnaturantes. O fosfato de cálcio, particularmente, encontra-se fazendo parte da estrutura das micelas de caseína (FENNEMA, 2000).

Enfim, o leite fornece cerca de 62 a 70 Kcal por 100 g de produto, sendo classificado como altamente nutritivo o que justifica a sua grande utilização na fabricação de derivados lácteos, como os queijos (MILLER; JARVIS; MCBEAN, 2000; ILCT, 2003).

1.2 Queijo Minas Frescal

O queijo Minas Frescal é um dos mais populares do Brasil e ocupa o terceiro lugar na escala de produção, com um total aproximado de 34 mil toneladas/ano (em

estabelecimentos sob inspeção federal), perdendo somente para o queijo Mussarela e o queijo Prato (BRASIL, 2009). O queijo Minas Frescal é produzido em fábricas de pequeno, médio e grande porte, possuindo um processo de fabricação simples, com utilização de equipamentos tradicionais (FURTADO, 2005). A importância deste tipo de queijo no mercado brasileiro está relacionada ao alto rendimento, custo do produto final baixo, simplicidade no processo de fabricação e preço acessível, o que torna o produto atraente para as indústrias queijeiras (FURTADO; NETO, 1994; FURTADO, 2005).

Conforme o próprio nome sugere, o queijo Minas Frescal surgiu nas serras mineiras, na metade do século XVIII, onde o leite produzido pelos rebanhos passou a ser utilizado nas fazendas para a fabricação de queijo, destinado à alimentação dos exploradores de ouro. Apreciado desde então, este alimento logo passou a fazer parte das refeições dos brasileiros (AGRIDATA, 2008).

Este tipo de queijo; de coloração branca, consistência mole, textura fechada, porém com olhaduras irregulares e de sabor levemente suave a ácido; é obtido por coagulação enzimática do leite, sendo opcional a adição bactérias específicas (BRASIL, 1997; BURITI; ROCHA; SAAD, 2005). O processo de fabricação do queijo Minas Frescal é essencialmente um processo de concentração do leite, onde através da adição de coalho no leite ocorre a coagulação das micelas de caseína desestabilizadas (SGARBIERI, 2005). Durante o processo de coagulação do leite, a camada de κ -caseína, localizada na superfície das micelas de caseína, sofre hidrólise enzimática na ligação Phe105-Met106. A porção N-terminal da molécula de κ -caseína, denominada para- κ -caseína, permanece ligada à micela, enquanto que a porção C-terminal, conhecida como caseína-macropéptido, é perdida no meio aquoso. Conseqüentemente, na presença de cálcio, pH e temperaturas adequadas ocorre uma aglomeração das micelas desestabilizadas, resultando na formação da coalhada (FOX et al., 2000).

Partindo da produção artesanal nas fazendas leiteiras, a tecnologia de fabricação do queijo Minas Frescal tem evoluído continuamente, visando a melhoria da qualidade deste produto. A fabricação com leite pasteurizado, o uso de cloreto de cálcio, bem como o emprego de fermentos lácteos contribuíram para o aumento da vida de prateleira

dos queijos, garantindo também a segurança alimentar dos consumidores deste tipo de produto (FURTADO, 2005).

As culturas lácticas tradicionalmente empregadas na fabricação do queijo Minas Frescal, principalmente as culturas mesofílicas tipo O, apresentam como papel principal a produção de ácido láctico, através da metabolização da lactose (BURITI et al., 2005). Com a produção de ácido láctico, tem-se além da diminuição do pH, a melhora da atividade do coagulante (FOX et al., 2000; FURTADO, 2005) e o aumento da expulsão do soro da coalhada resultando na redução do teor de umidade do queijo, contribuindo na prevenção do crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes (FOX et al., 2000). No entanto, a contínua produção de ácido láctico durante o armazenamento do queijo Minas Frescal, pode provocar alterações físico-químicas negativas, como a exsudação excessiva de soro, a modificação da coloração e da textura do queijo (FURTADO, 2005).

Muitas indústrias estão substituindo o uso de culturas lácteas por ácido láctico industrial (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006). Este processo, denominado de acidificação direta, tem como consequência mudanças nas propriedades dos queijos. O aumento do rendimento nos queijos obtidos por este tipo de acidificação, ocorre devido ao maior teor de umidade presente, já que com um coágulo menos ácido, há menos favorecimento da reação do paracaseinato de cálcio com o ácido láctico, resultando assim em uma menor expulsão do soro (LAW, 1999). Como desvantagens desse método, Dornellas (1997) constatou que o produto obtido foi mais susceptível às contaminações microbianas, devido ao pH final mais elevado e à ausência de bactérias lácticas para competir com outros microrganismos.

Devido aos diferentes métodos de fabricação, o queijo Minas Frescal tornou-se um produto irregular quanto aos padrões de textura, sabor, durabilidade e rendimento, porém é classificado conforme a Instrução Normativa nº 4, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento como um queijo de “muito” alta umidade, apresentando valores não inferiores a 55,0 % (BRASIL, 2004). Além disso, o rendimento da fabricação deste tipo de queijo deve variar entre 4,5 e 6,0 litros de leite para cada quilo de queijo (ILCT, 2003).

O queijo Minas Frescal, por não apresentar preservativos, não ser maturado e ser armazenado sob refrigeração, oferece excelentes condições para a sobrevivência de microrganismos probióticos (BURITI; ROCHA; SAAD, 2005). Heller (2001) e Kask et al. (2003) relatam que a sobrevivência de bactérias probióticas em produtos como queijos frescos é maior quando comparada aos queijos maturados, que são armazenados por maior tempo, possuem altos teores de sal, menores teores de umidade e conseqüentemente, menor atividade de água, condições limitantes para os microrganismos probióticos.

1.3 Probióticos

Probióticos são definidos como microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SANDERS, 2003). O termo probiótico significa “para vida” e é utilizado para designar a presença de bactérias benéficas para o organismo humano em alimentos. No ano de 1907, Henry Tissier observou que crianças com diarreia apresentavam, em suas fezes, um baixo número de bifidobactérias, sendo que essas bactérias eram abundantes em crianças saudáveis. Ele sugeriu que as bifidobactérias poderiam ser isoladas e administradas em pacientes com diarreia, com a finalidade de ajudar a restaurar a microbiota intestinal saudável, prevenindo assim maiores infecções (STANTON et al., 2005).

Os microrganismos probióticos mais empregados são os dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (BOYLSTON et al., 2004). Estes gêneros têm sido isolados de todas as porções do trato gastrintestinal humano saudável, sendo que o íleo terminal e o cólon parecem ser, respectivamente, o local de preferência para a colonização intestinal dos lactobacilos e das bifidobactérias (BIELECKA; BIEDRZYCKA; MAJKOWSKA, 2002). Entretanto, deve-se salientar que o efeito de uma bactéria é específico para cada cepa, não podendo ser extrapolado, inclusive para outras cepas da mesma espécie (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

A microbiota saudável é definida como a microbiota normal, que conserva e promove o bem-estar e a ausência de doenças, especialmente do trato gastrintestinal. A

correção das propriedades da microbiota desbalanceada constitui a racionalidade da terapia por probióticos (SAAD, 2006). Dentre os benefícios à saúde do hospedeiro atribuídos à ingestão de culturas probióticas, os que mais se destacam são a diminuição da população de patógenos (GUEIMONDE et al., 2006), a estabilização da microbiota intestinal (CORRÊA et al., 2005; NOMOTO, 2005; SAZAWAL et al., 2006), o aumento da absorção de minerais (NITSCHKE; UMBELINO, 2002), o alívio da constipação (FERNÁNDEZ-BAÑARES, 2006), a estimulação do sistema imune (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; NOMOTO, 2005; BAKEN et al., 2006), a prevenção de infecções urogenitais (ANUKAM et al., 2006), os efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade (COMMANE et al., 2005), a diminuição do risco de doença cardiovascular, a redução dos níveis séricos de colesterol e os efeitos anti-hipertensivos (ROBERFROID, 2002; AHN et al., 2003). As bifidobactérias ainda são capazes de produzir as vitaminas B1, B2, B6, B12, ácidos nicotínico e fólico (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002) e têm ação adjunta no metabolismo de aminoácidos (MARTÍNEZ-VILLALUENGA et al., 2006). Entretanto, é a resistência contra patógenos a característica mais promissora no desenvolvimento de produtos probióticos eficazes (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; SAAD, 2006). A modulação da microbiota intestinal pelos microrganismos probióticos ocorre através de um mecanismo denominado “exclusão competitiva”. Este mecanismo impede a colonização da mucosa intestinal por microrganismos potencialmente patogênicos, através da competição por nutrientes e/ou por produção de compostos antimicrobianos (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

Além dos benefícios em termos de nutrição e de saúde que proporcionam, as culturas probióticas podem também contribuir para melhorar o sabor do produto final, possuindo a vantagem de promover acidificação reduzida durante o armazenamento (THAMER; PENNA, 2005).

A seleção de bactérias probióticas tem como base os seguintes critérios preferenciais: (a) o gênero ao qual pertence a bactéria ser de origem humana, (b) a estabilidade frente ao ácido e à bile, (c) a capacidade de aderir na mucosa intestinal, (d) a capacidade de colonizar, ao menos temporariamente, o trato gastrointestinal humano, e (e) ser metabolicamente ativa no intestino (OLIVEIRA et al., 2002). Outros critérios

fundamentais são a segurança para uso humano, o histórico de não patogenicidade e não estarem associadas a outras doenças (SAARELA et al., 2000; STANTON et al. 2003).

Na produção de um alimento probiótico é fundamental também que o microrganismo possa ser cultivado em escala industrial, sendo que o produto final deve ter vida média satisfatória e propriedades sensoriais como cor, aroma, sabor e textura aceitáveis, além de um número de células viáveis presentes no produto, durante toda a validade, maior do que 6 log UFC/ mL ou g (FARIA; BENEDET; GUERROUE, 2006). Gomes e Malcata (1999) afirmaram que a necessidade de manter um número elevado de microrganismos viáveis no produto final é decorrente da dose diária mínima recomendada, cerca de 8 – 9 log células viáveis, obtidas pelo consumo de 100 gramas de produto com 6 -7 log células viáveis/mL ou g, sendo que estes produtos devem ser consumidos regularmente para manter o efeito dos microrganismos na composição da microbiota intestinal.

1.4 Incorporação de Bifidobactérias em Queijos

No começo do século XX, as bifidobactérias eram classificadas como uma subespécie de *Lactobacillus*. Contudo, atualmente estes microrganismos são classificados como um gênero à parte, o *Bifidobacterium*. Cerca de trinta espécies já foram isoladas, destacando-se *B. adolescentis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *B. infantis* e *B. longum*, sendo muito utilizadas em produtos lácteos (GOMES; MALCATA, 1999).

Os componentes do gênero *Bifidobacterium* são classificados como bastonetes Gram-positivos, não formadores de esporos, sem motilidade e anaeróbios estritos. A aparência dos bastonetes é bastante variável e pode ser influenciada pelas condições nutricionais do meio (TAMIME, 2002), enquanto o grau de tolerância ao oxigênio e o meio de crescimento, dependem da espécie e da morfologia (CORBO et al., 2001).

Para o desenvolvimento de queijos contendo bifidobactérias é importante compreender as características de crescimento dos microrganismos e como as condições do processo podem ser empregadas para otimizar a sua sobrevivência (BOYLSTON et al., 2004). A produção de ácido acético e ácido lático (razão 3:2), via fermentação da glicose, contribui para a ação das bifidobactérias contra patógenos, através do efeito

tóxico dos ácidos não dissociados e consequente estimulação peristáltica do intestino (ROBINSON; SAMONA, 1992). Entretanto, o crescimento das bifidobactérias pode ser inibido pelo excesso de ácido lático e outros metabólitos produzidos por bactérias ácido lácticas durante o armazenamento dos queijos (BOYLSTON et al., 2004).

Para a utilização com êxito de bifidobactérias em queijos é importante também que o seu emprego não provoque grandes alterações na composição, sabor, textura, entre outras, quando comparadas com o tradicional, ou seja, sem bifidobactéria (CORBO et al., 2001). Além disso, é importante que a sua tecnologia de fabricação não apresente muitas modificações, para que a produção de queijos probióticos seja atrativa também comercialmente (BOYLSTON et al., 2004). Portanto, a incorporação de bifidobactérias em queijos apresenta uma vantagem competitiva para os laticínios, através da ampliação da lista de produtos que podem oferecer melhora na qualidade nutricional e fisiológica de seus consumidores (STANTON et al., 2003).

1.5 Análise Reológica

As determinações reológicas permitem que sejam obtidas informações sobre a forma como um determinado material reage quando submetido a forças externas (ALVES, 2003). A etimologia da palavra *rheologia* tem origem nos vocábulos gregos *rheo* que significa deformação e *logia*, que significa ciência ou estudo (MACHADO, 2002). Em alimentos, o termo é freqüentemente usado referindo-se ao movimento, à deformação e à desintegração da amostra sob ação de uma força (TUNICK, 2000). Enfim, reologia é a ciência que estuda o escoamento e a deformação dos materiais (ALVES, 2003).

A importância do estudo da reologia, além de tecnológica, está relacionada com a parte econômica e comercial, já que os efeitos do transporte e da manipulação na integridade física dos alimentos, o seu comportamento durante o processo de fabricação e a qualidade da textura do produto acabado, dependem, em grande parte, da sua resposta frente à aplicação de forças externas (COSTELL; FISZMAN; DURÁN, 1997). Desta forma, cada alimento tem a sua característica reológica, sendo esta informação muito importante para um grande número de aplicações industriais (KULMYRZAEV et

al., 2005), influenciando também na aceitação do produto pelo consumidor (SZCZESNIAK, 2002; VIDAL-MARTINS et al., 2005).

Dependendo da resposta ao estímulo mecânico, o material pode ser classificado como elástico ou viscoso (MACHADO, 2002). Segundo a lei de Hooke, para um sólido perfeitamente elástico a deformação é proporcional à tensão aplicada e vice-versa. Já um material viscoso ideal obedece a lei de Newton, a qual estabelece que a tensão e a taxa de cisalhamento estão relacionadas através de uma característica intrínseca que é a viscosidade (CASSU; FELISBERTI, 2005).

Os queijos apresentam comportamento tanto de sólido elástico como de fluido viscoso, sendo denominados viscoelásticos. A viscoelasticidade dos queijos é resultante da sua composição, da microestrutura, do estado físico-químico e das interações de seus componentes, além da sua macroestrutura (presença de olhaduras, fissuras, entre outras) (KULMYRZAEV et al., 2005; EVERETT; AUTY, 2008). Mudanças nestes fatores podem acarretar alterações no seu comportamento reológico (FOX et al., 2000).

O teste de relaxação é uma das maneiras de medir o comportamento viscoelástico dos queijos (BUDIMAN; STROSHINE; CAMPANELLA, 2000). Este teste envolve a aplicação de uma deformação à amostra analisada e a sua manutenção ao longo do tempo (ANDRÉS; ZARITZKY; CALIFANO, 2008). Em uma curva de relaxação típica de materiais viscoelásticos (Figura 1) ocorre uma queda exponencial da força/tensão em função do tempo até um valor constante, mas diferente de zero (YADAV; ROOPA; BHATTACHARYA, 2006). A ausência de relaxação é observada em sólidos elásticos ideais, enquanto materiais viscosos ideais relaxam instantaneamente (STEFFE, 1996).

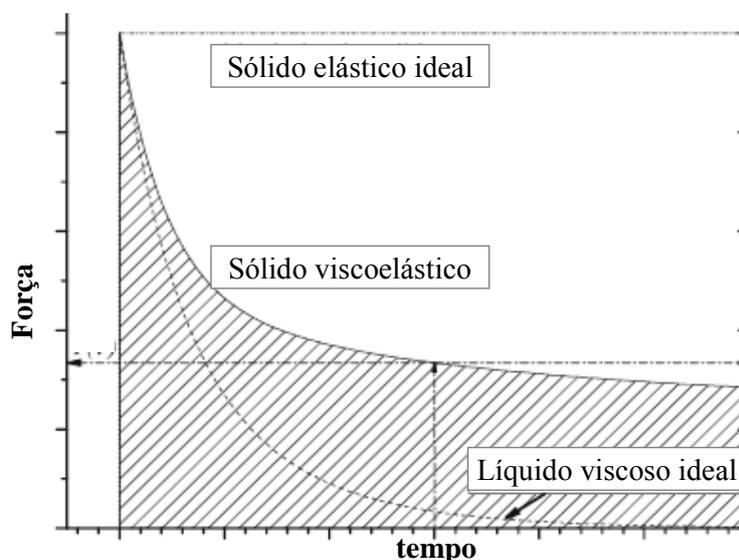


Figura 1: Curva típica de relaxação de materiais viscoelásticos.

Fonte: Bellido e Hatcher (2009).

Muitos estudos têm sido realizados em alimentos utilizando os testes de relaxação com o objetivo de investigar o efeito da adição de ingredientes ou de modificações no processo de fabricação sobre as suas propriedades viscoelásticas (RODRÍGUEZ-SANDOVAL; FERNÁNDEZ-QUINTERO; CUVELIER, 2009). Na literatura, alguns modelos têm sido propostos para a descrição das curvas de relaxação e, conseqüentemente, predição dos parâmetros. Tradicionalmente, são utilizados modelos matemáticos (Maxwell) ou empíricos (Peleg) (RODRÍGUEZ-SANDOVAL; FERNÁNDEZ-QUINTERO; CUVELIER, 2009).

Outra forma de avaliar as propriedades reológicas de queijos é o teste de compressão uniaxial. Neste teste, a deformação aplicada é suficientemente grande para causar a fratura do material (Figura 2), podendo ser obtidas propriedades como tensão de ruptura (σ_R) e deformação de ruptura (ϵ_R) (TUNICK, 2000). Estas propriedades podem ser correlacionadas com parâmetros sensoriais como firmeza e elasticidade, respectivamente (FOX et al., 2000).

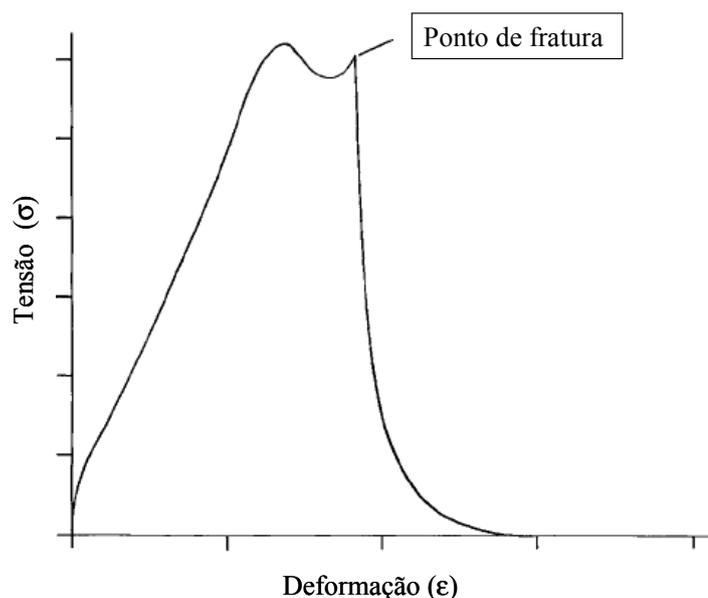


Figura 2: Curva típica de tensão *versus* deformação em queijos.

Fonte: Tunick (2000).

1.6 Análise Microestrutural

O principal componente responsável pela estrutura dos queijos é a caseína, que forma uma rede cuja rigidez depende do grau de abertura, da quantidade de água ligada à matriz protéica e da presença de gordura e água livre (BERTOLA et al., 2000; HORT; GRYS, 2001). A rede de paracaseína é essencialmente contínua em todas as direções, podendo haver interrupções devido à presença de junções nos grânulos da coalhada. Nessa rede há presença de gordura e soro encapsulados, formando uma trama. A interação entre a gordura e a caseína ocorre apenas por fricção. A quantidade de água ligada é bem pequena, a maioria se encontra livre em sais dissolvidos (FOX et al., 2000).

A estrutura da rede de caseína é determinada no início da fabricação do queijo (FOX et al., 2000). O pH na dessoragem determina largamente o conteúdo mineral do queijo. A perda de cálcio e fosfato da micela de caseína determina a extensão das ligações entre as micelas e isto determina a estrutura básica e textura dos queijos. Em geral, queijos de baixo pH de dessoragem tendem a ter uma textura mais macia,

enquanto os de alto pH tendem a ter uma textura mais elástica (FOX et al., 2000; LUCEY; JOHNSON; HORNE, 2003).

Visando compreender ainda mais as relações entre as propriedades reológicas e físico-químicas tem-se empregado também a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Através da MEV é possível visualizar diretamente a microestrutura dos queijos (EVERETT; AUTY, 2008), permitindo examinar elementos que fazem parte da sua estrutura, como microrganismos e as alterações que ocorrem na matriz de caseína durante os processos de fabricação e armazenamento (EVERETT, 2007).

1.7 Análise de Cor

A cor dos alimentos têm sido avaliada, tanto via análise instrumental (objetiva), como pela análise sensorial (subjetiva), pois sua mudança pode interferir na aceitabilidade dos produtos pelos consumidores (GONZALES; BURIN; BUERA, 1999). Além disso, a cor pode ser utilizada como parâmetro de qualidade de um produto *in natura* ou processado (GIMENO et al., 2000), sendo um fator determinante da vida útil de um produto (GONZALES; BURIN; BUERA, 1999).

Embora a visualização humana ainda seja considerada adequada, quando ocorrem mudanças na iluminação, torna-se subjetiva e muitas vezes variável. Desta forma é recomendável, neste caso, que a análise seja feita através do uso de um instrumento de medida da cor (LEÓN et al., 2006). Para a avaliação instrumental da cor utiliza-se normalmente um colorímetro triestímulo, o qual proporciona medições correlatas à percepção do olho humano. Em 1976, a *Commission Internationale d'Eclairage* (CIE) recomendou o uso da escala de cor CIE $L^*a^*b^*$, ou CIELAB (Figura 3). O parâmetro L^* varia de 0 a 100, indicando a variação da coloração preta a branca. Alto valor de L^* representa branco a claro (100), enquanto baixo valor representa coloração escura a preta (0) (LANCASTER et al., 1997). Os eixos a^* e b^* não apresentam limites numéricos específicos, mas a coordenada a^* indica a variação do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$), enquanto a coordenada b^* a variação do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$). Os valores delta (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) indicam quanto a amostra diferiu do padrão para L^* , a^* e b^* , e são freqüentemente utilizados no controle de qualidade e

ajustes de formulação, além de serem utilizados para o cálculo da diferença total de cor (ΔE^*) (DUANGMAL; SAICHEUA; SUEEPRASAN, 2008).

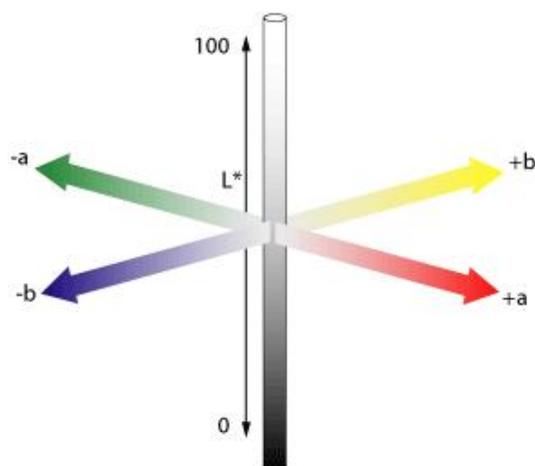


Figura 3: Coordenadas tridimensionais para medição instrumental da cor.

Fonte: HUNTERLAB (1996).

A cor dos alimentos deve-se principalmente à presença de pigmentos naturais. Estes pigmentos participam de diferentes reações e, em função disto, a alteração de cor de um alimento é um indicador das alterações químicas e bioquímicas possíveis de ocorrer durante o processamento e estocagem (RIBEIRO; SERAVALLI, 2004). Os principais pigmentos responsáveis pela coloração dos queijos são a riboflavina e os carotenóides (MORTENSEN et al., 2004). A riboflavina caracteriza-se como um composto hidrossolúvel de coloração verde, enquanto que os carotenóides, que apresentam comportamento lipossolúvel, determinam a coloração amarelada dos queijos, sendo uma função da concentração de lipídeos no produto (NOZIÈRI et al., 2006). Além disso, a cor dos queijos é influenciada também por fatores como tempo de armazenamento, temperatura e exposição à luz (KRISTENSEN et al., 2001; CHATELAIN et al., 2003).

1.8 Análise Sensorial

A avaliação sensorial está em constante desenvolvimento, sendo definida como uma ciência interdisciplinar na qual empregam-se julgadores humanos que utilizam os sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição para medir as características sensoriais e

a aceitabilidade dos produtos alimentícios (GÖKOĞLU, 2002). Esta avaliação é baseada em respostas aos estímulos, que são definidos como ativadores químicos ou físicos capazes de provocar resposta ao receptor. Um estímulo produz uma sensação cujas dimensões são intensidade, extensão, duração, qualidade, além de gosto ou desgosto (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). Nas últimas décadas, a análise sensorial deixou de ser uma atividade secundária e enquadrou-se na categoria de disciplina científica, capaz de gerar informações precisas e reprodutíveis, sobre as quais recaem importantes decisões, relativas à seleção de matérias-primas, modificações e padronização de métodos e otimização de formulações para desenvolvimento de produtos. Desta forma, a avaliação sensorial torna-se uma ferramenta básica para aplicação na indústria de alimentos (MEHINAGIC et al., 2003).

Os métodos sensoriais dividem-se em afetivos, descritivos e discriminativos (ANZALDÚA-MORALES, 1994). Nos testes afetivos o julgador expressa sua reação subjetiva frente ao produto, indicando sua aceitação ou preferência. Nos testes descritivos as propriedades do alimento são descritas de maneira objetiva, determinando a intensidade dos atributos do produto. Já os testes discriminativos estabelecem a diferença entre duas ou mais amostras, além da magnitude dessa diferença (ANZALDÚA-MORALES, 1994; MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007).

O teste de comparação pareada-preferência tem como objetivo comparar duas amostras ao mesmo tempo, com relação à preferência do julgador e verificar se estas diferem entre si, predizendo a aceitabilidade (DUTCOSKY, 1996). A aceitabilidade aliada ao teste de intenção de compra geralmente indica o uso real de um produto (WATTS et al., 1992; GRIZOTTO; MENEZES, 2003). A medida de aceitabilidade pode ser feita para um único produto e não requer comparação entre produtos. Para este tipo de teste são necessários pelo menos cinquenta julgadores não treinados e que sejam consumidores habituais ou potenciais do tipo de alimento em questão (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 2007). Frequentemente, em testes sensoriais orientados ao consumidor, a conduta é entrevistar de cem a quinhentas pessoas, cujos resultados se utilizam para predizer atitudes de uma população determinada. As entrevistas podem realizar-se em um lugar central, tal como um mercado, uma escola ou universidade (LANZILLOTTI; LANZILLOTTI, 1999).

Para medir o grau de aceitação são utilizadas várias formas de escalas, destacando-se a escala hedônica e a escala de atitude (HEIN et al., 2008). O uso de escalas proporciona maiores informações aos testes sensoriais e representa uma forma de registrar a intensidade das percepções. A escala hedônica expressa o grau de gostar ou desgostar de uma amostra pelo consumidor. Os pontos associados a valores numéricos possibilitam uma melhor interpretação dos resultados pela aplicabilidade de análises estatísticas adequadas (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

A escolha pessoal por um alimento pode ser determinada por um grande número de fatores que podem ser correlacionados ao alimento, à pessoa e ao ambiente. As diferenças individuais; personalidade relacionada ao estilo de vida, nível de conhecimento, experiências anteriores, efeitos fisiológicos ou psicológicos após a ingestão; influenciam na escolha do produto (DUTCOSKI, 1996). Os fatores externos englobam o contexto social e cultural. A disponibilidade, preço, embalagem, informações e propaganda do produto, e ainda, diferenças de idade, sexo, classe social, região e grau de urbanização são responsáveis pelas diferenças no consumo de alimentos (VERBEKE, 2005). Por isso, estudos com consumidores são extremamente importantes no desenvolvimento de novos produtos, pois permitem identificar o seu perfil, além de conhecer suas percepções e necessidades (VAN KLEEF; VAN TRIJP; LUNING, 2005).

Referências Bibliográficas

AGRIDATA. **Tecnologia de Fabricação do queijo Minas Frescal**. Disponível em www.agridata.mg.gov.br/pesquisas/tecnologia_queijo/patecminasfrescal. Acesso em 20 de outubro de 2008.

AHN, Y. T.; KIM, G. B.; LIM, K. S.; BAEK, Y. J.; KIM, H. U. Deconjugation of bile salts by *Lactobacillus acidophilus* isolates. **International Dairy Journal**, v. 13, p. 303-311, 2003.

ALVES, M. M. M. **A Reologia**. In: DE CASTRO, A. G. A. Química e a Reologia no Processamento dos Alimentos. Ciência e Técnica, p 37-61, 2003.

ANDRÉS, S. C.; ZARITZKY, N. E., CALIFANO, A. N. Stress relaxation characteristics of low-fat chicken sausages made in Argentina. **Meat Science**, v. 79, p. 589-594, 2008.

ANUKAM, K. C.; OSAZUWA, E.; OSEMENE, G. I.; EHIGIAGBE, F.; BRUCE, A. W.; REID, G. Clinical study comparing probiotic *Lactobacillus* GR-1 and RC-14 with metronidazole vaginal gel to treat symptomatic bacterial vaginosis. **Microbes and Infection**, v.8, n.12-13, p. 2772-2776, 2006.

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

BAKEN, K. A.; EZENDAM, J.; GREMMER, E. R.; KLERK, A. DE; PENNING, J. L. A.; MATTHEE, B.; PEIJNENBURG, A. A. C. M.; LOVEREN, H. V. Evaluation of immunomodulation by *Lactobacillus casei* Shirota: Immune function, autoimmunity and gene expression. **International Journal of Food Microbiology**, v.112, p. 8-18, 2006.

BELLIDO, G. G.; HATCHER, D. W. Asian noodles: Revisiting Peleg's analysis for presenting stress relaxation data in soft solid foods. **Journal of Food Engineering**, v.92, p.29-36, 2009.

BERTOLA, N. C.; CALIFANO, A. N.; BEVILACQUA, A. E.; ZARITZKY, N. E. Effects of ripening conditions on the texture of Gouda Cheese. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 35, p.207-214, 2000.

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

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v.14, p.375-387, 2004.

BRASIL. Portaria n.352 de 04 de setembro de 1997. O Ministério de Estado da Agricultura e Abastecimento e da Reforma Agrária institui o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 set. 1997. Seção 1, p.13 - 68.

BRASIL. Instrução Normativa n.4 de 1º de março de 2004. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento altera o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 05 mar. 2004. Seção 1, p.5.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa Gado de Leite. **Produção Mundial de Leite e Queijos 2000/2008**. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php>. Acesso em: 25 março de 2009.

BUDIMAN, M.; STROSHINE, R. L.; CAMPANELLA, O. H. Stress relaxation and low field proton magnetic resonance studies of cheese analog. **Journal of Texture Studies**, v. 31, p.477-498, 2000.

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**, v.38(2), p.173–180, 2005.

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, 2005.

BURITI, F. C. A.; OKAZAKI, T. Y.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional. **Arquivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.57, p.179-185, 2007.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento Dinâmico-Mecânico e Relaxações em Polímeros e Blendas Poliméricas. **Química Nova**, v.28, p.255-263, 2005.

CHATELAIN, Y.; ALOUI, J.; GUGGISBERG, D.; BOSSET, J. O. La couleur du lait et des produits laitiers et sa mesure – un article de systhèse. **Millelungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v.94, p.461-488, 2003.

COMMANE, D.; HUGHES, R.; SHORTT, C.; ROWLAND, I. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. **Mutation Research**, v. 591, p. 276–289, 2005.

CORBO, M. R.; ALBENZIO, M.; DE ANGELIS, M.; SEVI, A.; GOBBETTI, M. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.551–561, 2001.

CORRÊA, N. B. O.; PÉRET FILHO, L. A. ; PENNA, F. J.; LIMA, F. M. L. S.; NICOLI, J. R. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of Antibiotic-Associated diarrhea in infants. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v.39, p.385–389, 2005.

COSTELL, E., FISZMAN, S. M., DURÁN, L. Propiedades Físicas I, Reología de Sólidos y Textura. In: AGUILERA, J. M. (Ed.). **Temas em Tecnologia de Alimentos**, CYTED –Programa Iberoamericano de Ciencia e Tecnologia para el desarrollo, 1997. Cap. 6, p. 213 – 259.

CUNHA, C. R.; VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “ Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, v.16, p.215-224, 2006.

DORNELLAS, J. R. **Efeito de tipo de coagulante e acidificante no rendimento, proteólise e “shelf life” do queijo Minas Frescal**. 1997. 96p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP.

DUANGMAL, K.; SAICHEUA, B.; SUEEPRASAN, S. Colour evaluation of freeze-fried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, p. 1437 - 1445, 2008.

- DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Curitiba: Champagnat, 1996.123p.
- EVERETT, D. W. Microstructure of natural cheeses. In A. Y. Tamime (Ed.). **Structure of dairy products**. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007.
- EVERETT, D. W.; AUTY, M. A. E. Cheese structure and current methods of analysis. **International Dairy Journal**, v.18, p.759-773, 2008.
- FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de análise sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116p.
- FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; GUERROUE, J. L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.511-516, 2006.
- FENNEMA, O. R. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.
- FERNÁNDEZ-BAÑARES, F. Nutritional care of the patient with constipation. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.20, n.3, p.575-587, 2006.
- FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.
- FURTADO, M. M.; NETO, J. P. M. L. **Tecnologia de queijos**. 1.ed. São Paulo, SP. Editora Dipemar Ltda, 1994. 118p.
- FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. São Paulo. Fonte Comunicações e Editora. 2005. 200p.
- GIMENO, O.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; BELLO, J. Characterization of Chorizo de Pamplona: Instrumental Measurements of Colour and Texture. **Food Chemistry**, v. 69, p.195- 200, 2000.
- GÖKOĞLU, N. A. Descriptive Method for Sensory Evaluation of Mussels. **LWT-Food Science and Technology**, v. 35, p. 563-567, 2002.
- GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, p.139-157, 1999.
- GONZALES, A. P.; BURIN, L.; BUERA, M. P. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. **Food Research International**, v. 32, p. 185-191, 1999.
- GRIZOTTO, R. K.; MENEZES, H. C. Avaliação da aceitação de “chips” de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.79-86, 2003.
- GUARNER, F.; MALAGELADA, J. R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, v.360, p.512-518, 2003.

- GUEIMONDE, M.; JALONEN, L.; HE, F.; HIRAMATSU, M.; SALMINEN, S. Adhesion and competitive inhibition and displacement of human enteropathogens by selected lactobacilli. **Food Research International**, v. 39, p. 467–471, 2006.
- HALSTED, C. H. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.1001-1007, 2003.
- HEIN, K. A.; JAEGER, S. R.; CARR, B. T.; DELAHUNTY, C. M. Comparison of five common acceptance and preference methods. **Food Quality and Preference**, v.19, p. 651–661, 2008.
- HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.374-379, 2001.
- HORT, J., LE GRYS, G. Developments in the textural and rheological properties of UK Cheddar cheese during ripening. **International Dairy Journal**, v.11, p.475–481, 2001.
- HUNTERLAB. **Applications note: CIE L* a* b* color scale**. Virginia, 1996. v. 8, n.7.
- INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES- ILCT. **Aspectos Físico-químicos do leite**. Juiz de Fora, MG, 2002. 16p.
- INSTITUTO DE LATICÍNIOS CÂNDIDO TOSTES- ILCT. **Fabricação de Queijos**. Juiz de Fora, MG, 2003. 59p.
- KASK, S.; ADAMBERG, K.; ORLOWSKI, A.; VOGENSEN, F. K.; MOOLER, P. L.; ARDO, Y.; PAALME, T. Physiological properties of *Lactobacillus paracasei*, *L. danicus* and *L. curvatus* strains isolated from Estonian semi-hard cheese. **Food Research International**, v.36, p.1037-1046, 2003.
- KIP, P.; MEYER, D.; JELLEMA, R. H. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. **International Dairy Journal**, v.16, n.9, p.1098-1103, 2006.
- KOLIDA, S.; TUOHY, K.; GIBSON, G. R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87 (suppl 2), p.193-197, 2002.
- KULMYRZAEV, A.; DUFOUR, É.; NOE, Y.; HANAFI, M.; KAROUI, R.; QANNARI, E. M.; MAZEROLLES, G. Investigation at the molecular level on soft cheese quality and ripening by infrared and fluorescence spectroscopies and chemometrics – relationships with rheology properties. **International Dairy Journal**, v.15, p.669-678, 2005.
- KRISTENSEN, D.; HANSEN, E.; ARNDAL, A.; TRINNDERUP, R. A.; SKIBSTED, L. H. Influence of light and temperature on the colour and oxidative stability of processed cheese. **International Dairy Journal**, v.11, p.837-843, 2001.
- LANCASTER, J. E.; LISTER, C. E.; READY, P. F.; TRIGGS, C. M. Influence of pigment composition on skin color in a wide range of fruit and vegetables. **Journal of American Society of Horticultural Science**, v.122, p.594-598, 1997.

LANZILLOTTI, H. S.; LANZILLOTTI, R. S. Análise sensorial sob o enfoque fuzzy. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 145-158, 1999.

LAW, B. A. **Technology of cheesemaking**. Boca Raton: CRC, 1999. 322p.

LEÓN, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEÓN, J. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food Research International**, v.39, p.1084–1091, 2006.

LOURENÇO, E. J. **Tópicos de proteínas de alimentos**. Jaboticabal, São Paulo: Edição Funep, 2000. Capítulo 5, p.179-231.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e Escoamento de Fluidos: Ênfase na Indústria do Petróleo**. Editora Interciência, Rio de Janeiro. 2002, p.1-37.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; FRÍAS, J.; GÓMEZ, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. **International Dairy Journal**, v.16, n.7, p.768-774, 2006.

MARTINS, R. S.; LOBO, D. S.; ROCHA JÚNIOR, W. F.; OLIVEIRA, H. F.; MARTINS, P. C.; YAMAGUCHI, L. C. T. Desenvolvimento de uma ferramenta para a gestão da logística da captação de leite de uma cooperativa agropecuária. **Gestão & Produção**, São Paulo, v.11, n.3, p.429-440, 2004.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLARINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v.12, p.173-182, 2002.

MEHINAGIC, E.; ROYERA, G. Ê; BERTRAND, D.; SYMONEAUX, R.; LAURENS, F.; JOURJON, F. Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 473-484, 2003.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed., Boca Raton, FL.: CRC Press, 2007. 448p.

MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; MCBEAN, L. D. **Handbook of Dairy Foods and Nutrition**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2000.

MORTENSEN, G.; BERTELSEN, G.; MORTENSEN, B. K.; STAPELFELDT, H. Light-induced changes in packaged cheeses -a review. **International Dairy Journal**, v.14, p.85–102, 2004.

NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. Frutooligossacarídeos: novos ingredientes funcionais. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n.1, p.27-34, 2002.

NOMOTO, K. Prevention of infections by probiotics. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n. 6, p. 583–592, 2005.

NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Feed Science and Technology**, v.131, p.418-450, 2006.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**, v.38, p.1-21, 2002.

ORDÓÑEZ, J. A.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnología de alimentos – Alimentos de origem animal**. Porto Alegre: Artmed, 2005. Vol.2. 279p.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Science Technology**, v.13, p.3-11, 2002.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 1.ed. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2004.

ROBERFROID, M. B. Functional foods: concepts and application to inulin and oligofructose. **Brazilian Nutrition Journal**, v.87, p.139-143, 2002.

ROBINSON, R. K.; SAMONA, A. Health aspects of “bifido” products: A review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.43, p.175-180, 1992.

RODRÍGUEZ-SANDOVAL, E.; FERNÁNDEZ-QUINTERO, A.; CUVELIER, G. Stress relaxation of reconstituted cassava dough. **LWT- Food Science and Technology**, v.42, p.202-206, 2009.

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

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal Biotechnology**, v.84, p.197-215, 2000.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SAZAWAL, S.; HIREMATH, G.; DHINGRA, U.; MALIK, P.; DEB, S.; BLACK, R. E. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. **The Lancet Infectious Diseases**, v.6, n. 6, p. 374-382, 2006.

SGARBIERI, V. C. Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal Food Technology**, v.8, n.1, p. 43 - 56, 2005.

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**, v.42, p.633-640, 2009.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: FARNWORTH, E. R., ed. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, 2003. p.27-58.

STANTON, C.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; VAN SINDEREN, D. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, v.16, p.198-203, 2005.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**, (2nd ed.). East Lansing, MI: Freeman Press, 1996. 418 p.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v.13, p. 215-225, 2002.

TAMIME, A.Y. Microbiology of starter cultures. **Dairy microbiology handbook**. 3. ed., NY: Wiley, 2002.

THAMER, G. K.; PENNA, B. A. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligosacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p.1-13, 2005.

TUNICK, M. H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1892-1898, 2000.

VAN KLEEF, E.; VAN TRIJP, H. C. M.; LUNING, P. Consumer research in the early stages of new product development: A critical review of methods and techniques. **Food Quality and Preference**, v.16, p.181-201, 2005.

VERBEKE, W. Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. **Food Quality and Preference**, v.16, p.45-57, 2005.

VIDAL-MARTINS, A. M. C.; SALOTTI, B. M.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; PENNA, A. L. B. Evolução do índice proteolítico e do comportamento reológico durante a vida de prateleira de leite UAT/UHT. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.698-704, 2005.

WATTS, B. M.; YLIMAKI, G. L.; JEFFERY, L. E.; ELÍAS, L. G. **Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos**. Ottawa: CIID, 1992. 170p.

YADAV, N.; ROOPA, B. S.; BHATTACHARYA, S. Viscoelasticity of a simulated polymer and comparison with chickpea flour doughs. **Journal of Food Process Engineering**, v.29, p.234-252, 2006.

Capítulo 2

Influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades de queijo Minas Frescal

* Artigo submetido à publicação no *Journal of Food Engineering* (ISSN: 0260-8774)
(Anexo B).

Influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades de queijo Minas Frescal

The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese

Resumo

O efeito da adição da bactéria probiótica *Bifidobacterium* Bb-12 e de ácido láctico nas propriedades microbiológicas, físico-químicas, reológicas, microestruturais e de cor de queijos Minas Frescal foi avaliado nos dias 1 e 28 de armazenamento (5 ± 1 °C). Foram fabricados queijos sem ácido láctico (Q1 e Q2) e com ácido láctico (Q3 e Q4), sendo a bifidobactéria adicionada nos queijos Q2 e Q3. Durante o armazenamento, queijos com bifidobactéria puderam ser classificados como probióticos. A adição da bifidobactéria nos queijos Q2 e Q3 não influenciou ($p > 0,05$) no rendimento, no teor protéico e lipídico. Além disso, no dia 28, os queijos sem ácido láctico apresentaram menor ($p < 0,05$) umidade em comparação aos adicionados de ácido láctico, influenciando no comportamento reológico e microestrutural, tornando-os mais elásticos, firmes e compactos. No entanto, todos os queijos avaliados demonstraram um comportamento viscoelástico com maior contribuição da componente viscosa. Os valores de L^* e b^* diminuíram ($p < 0,05$) durante o armazenamento em todos os queijos, sendo que apenas os adicionados de bifidobactéria mantiveram os valores de a^* e ΔE , ao longo dos 28 dias.

Palavras-chave: queijo Minas Frescal, ácido láctico, probiótico, bifidobactéria.

Abstract

The effect of the addition of a probiotic bacteria *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid in the microbiological, physical-chemical, rheological, microstructural and the colour proprieties of Minas Frescal cheeses were evaluated after 1 and 28 days storage (5 ± 1 °C). The cheeses were produced without lactic acid (C1 and C2) and with lactic acid (C3 and C4), and the bifidobacteria was added in to cheeses C2 and C3. During storage, the cheeses containing bifidobacteria were classified as probiotics. The addition of bifidobacteria in the cheeses C2 and C3 did not influenced the yield, the proteic, and the lipidic levels ($P > 0.05$). Moreover, after 28 days of storage, the cheeses without lactic acid showed lower moisture if compared with the cheeses containing lactic acid ($P < 0.05$). The absence of lactic acid had an influence in the rheological and microstructural behavior, making the cheeses more elastic, firm and compact. However, all the cheeses evaluated showed a higher tendency to viscous than to elastic. In all the manufactured cheeses of this work, the storage decreased ($P < 0,05$) the L^* and b^* values. Only the cheeses containing bifidobacteria maintained the values of a^* and ΔE over the 28 days.

Keywords: Minas Frescal cheese, latic acid, probiotic, bifidobacteria.

1 Introdução

Por ser branco, fresco, levemente salgado e com um suave gosto ácido, o queijo Minas Frescal é um dos produtos lácteos mais aceitos e consumidos no Brasil (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006). Este queijo não maturado é obtido por coagulação enzimática do leite, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas. No entanto, quando o queijo Minas Frescal é produzido de forma tradicional, ou seja, com a adição de cultura mesofílica tipo O (BURITI et al., 2005), observa-se uma acidificação excessiva durante o seu armazenamento (LAW, 1999). A fim de resolver tal problema, muitas indústrias estão optando pelo uso do método de acidificação direta, onde a utilização de culturas lácteas é substituída por ácido lático. É também creditado a essa substituição melhora no rendimento e na textura do produto (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006). Entretanto, a utilização da acidificação direta resulta em queijos com altos valores de pH e teor de umidade (50-70 %, m/m), tornando-os suscetíveis aos microrganismos contaminantes (FURTADO, 2005).

Assim como os queijos Cheddar (MC BREARTY et al., 2001; PHILLIPS; KAILASAPATHY; TRAN, 2006), Cottage (BLANCHETTE et al., 1996), Crescenza (GOBBETTI et al., 1998), fresco argentino (MÉDICI; VINDEROLA; PERDIGÓN, 2004), Canestrato Pugliese (CORBO et al., 2001), o queijo Minas Frescal oferece condições ideais para a incorporação de probióticos (BURITI; ROCHA; SAAD, 2005). No entanto, os microrganismos probióticos são também amplamente adicionados em outros produtos lácteos, como iogurtes, sorvetes e sobremesas (DESMOND et al., 2005; ANAL; SINGH, 2007; ARAGON-ALEGRO et al., 2007; HOMAYOUNI et al., 2008).

Probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2001). Estes microrganismos têm como principal função proteger o hospedeiro contra infecções, especialmente ao longo da superfície da mucosa do trato gastrointestinal (SANDERS, 2003). As culturas bacterianas que possuem alegação de probióticas pertencem principalmente aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MADUREIRA et al., 2005). Entretanto, para que um alimento seja considerado probiótico, deve apresentar contagens superiores a 6,00 log UFC/ mL ou g por toda a validade, a fim de assegurar

os benefícios alegados (OUWEHAND et al., 1999). Thamer e Penna (2005) afirmam também que o emprego de culturas probióticas é responsável pela diminuição da pós-acidificação em queijos durante o armazenamento.

Quando a formulação de um queijo é modificada, ou seja, são empregados novos ingredientes e/ou culturas lácteas, as características reológicas também são alteradas, e conseqüentemente a aceitabilidade do produto pelos consumidores (LOBATTO-CALEROS et al., 2007). Como a maioria dos alimentos sólidos, os queijos são de natureza viscoelástica, exibindo comportamento tanto de sólido elástico como de fluido viscoso, podendo ser avaliados pelos testes de compressão uniaxial e de relaxação (MESSENS et al., 2000). No caso específico dos queijos, a propriedade viscoelástica é função da sua composição, microestrutura, da disposição dos seus componentes na matriz protéica (LOBATTO-CALEROS et al., 2007; EVERETT; AUTY, 2008) e do estado físico-químico dos seus componentes, bem como do pH e da força iônica (LUCEY; JOHNSON; HORNET, 2003). Contudo, durante o armazenamento dos queijos tem-se verificado perda de umidade e alterações bioquímicas resultando também em modificações das suas propriedades (BERTOLA et al., 2000; MADADLOU et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da incorporação de *Bifidobacterium* Bb-12 e ácido láctico nas propriedades microbiológicas, físico-químicas, reológicas, microestruturais e de cor do queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento sob refrigeração (5 ± 1 °C).

2 Material e Métodos

2.1 Material

Leite pasteurizado padronizado (3,00 % de gordura; 11,46 % de sólidos totais; 3,00 % de proteína total; e 8,45 % de extrato seco desengordurado), ácido láctico (grau alimentício, Purac Sínteses, Rio de Janeiro, Brasil), cultura láctica contendo *Bifidobacterium* Bb-12 (Bb-12[®], Chr Hansen, Hoersholm, Dinamarca) liofilizada DVS (*Direct Vat Set*), cloreto de cálcio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e coalho Ha La[®] (Chr Hansen, Valinhos, Brasil) foram utilizados na preparação dos queijos. Todos os

reagentes empregados foram de grau analítico (p.a.), enquanto as soluções e o meio de cultura MRS (DE MAN, ROGOSA e SHARPE, Merck, Darmstadt, Alemanha) foram devidamente preparados e quando necessário, padronizados.

2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema fatorial 4 x 2 (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001), onde quatro diferentes formulações de queijo Minas frescal foram avaliadas, com ou sem adição de ácido láctico e/ou bifidobactéria (Tabela 1), levando em consideração o tempo de armazenamento (1 e 28 dias) a uma temperatura de 5 ± 1 °C.

Tabela 1: Variáveis empregadas na fabricação dos queijos Minas Frescal Adicionados (A) ou Não Adicionados (NA) de *Bifidobacterium* Bb-12 e/ou ácido láctico.

Queijos	<i>Bifidobacterium</i> Bb-12	Ácido Láctico
Q1	NA	NA
Q2	A	NA
Q3	A	A
Q4	NA	A

2.3 Fabricação dos queijos Minas Frescal

Os quatro tipos de queijos Minas Frescal foram fabricados de acordo com a metodologia proposta por Souza (2006), com modificações (Figura 1). No leite aquecido a 37 ± 1 °C foram adicionados 2,5 mL de ácido láctico a 85 % (para cada 10 L de leite) e/ou bactéria probiótica (20 mg L^{-1}). Na seqüência foi incorporada em todos os queijos uma solução de cloreto de cálcio (4 mL da solução a 40 %, em cada 10 L de leite) e coalho em quantidade e forma determinada pelo fabricante.

Após o período de coagulação (37 ± 1 °C, por cerca de 40 minutos) foi efetuado o corte da massa, em cubos com 1,5 cm de aresta; a mexedura, por 5 minutos; a

enformagem; o armazenamento, por 12 horas sob refrigeração ($5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$); e a salga, em salmoura a 20 % durante 1 hora. Os queijos foram embalados em embalagem Cryovac[®] (modelo BN 200, Cryovac, São Paulo, Brasil), selados em embaladora a vácuo Selovac[®] (modelo 200 B, Selovac, São Paulo, Brasil), e mantidos sob refrigeração ($5 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) até a realização das análises. Amostras dos queijos foram avaliadas nos dias 1 e 28 de armazenamento.

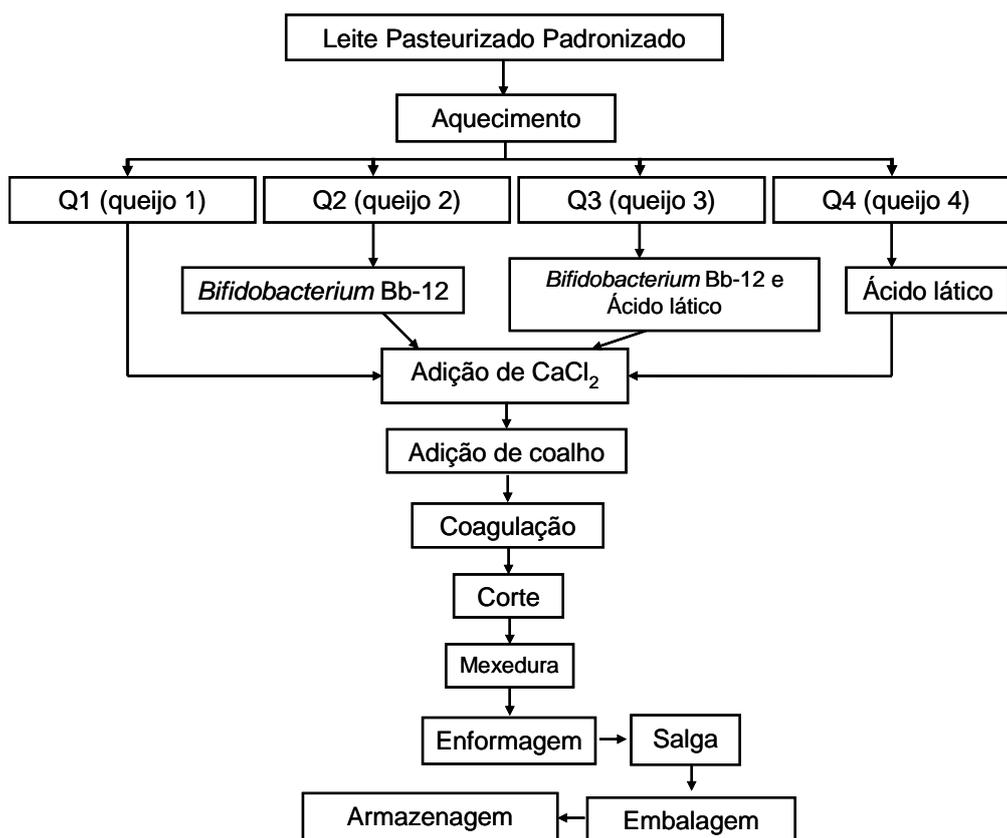


Figura 1: Fluxograma das etapas empregadas na obtenção dos queijos Minas Frescal.

Fonte: Souza (2006) (com modificações).

O rendimento dos queijos Minas Frescal foi calculado através da Equação 1, onde m (g) é a massa de queijo obtida após a fabricação e v é o volume (mL) de leite inicial empregado. Esta análise foi realizada em triplicata.

$$RENDIMENTO (\%) = \left(\frac{m}{V} \right) \times 100$$

Equação 1

2.4 Análise microbiológica

A viabilidade da bactéria probiótica *Bifidobacterium* Bb-12 foi monitorada nos queijos Q2 e Q3. Para a contagem de células viáveis probióticas, 25 g de queijo foram misturados em 225 mL de água peptonada (0,1 g/100 mL) em um saco Mixer 400 (Interscience, St. Nom, França) e submetidos à diluição seriada, empregando o mesmo diluente. A contagem da bifidobactéria foi realizada através de plaqueamento em superfície, adicionando-se alíquotas de 0,1 mL das diluições seriadas em placas com o meio ágar MRS modificado, onde foram adicionados 0,2 % (m/v) de cloreto lítio e 0,3 % (m/v) de propionato de sódio (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000), além da adição de uma sobrecamada do mesmo meio de cultura após a inoculação, a fim de garantir a anaerobiose imediata. As placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerogen[®], Oxoid, Hampshire, Reino Unido), a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas e o resultado expresso em log UFC/g do produto. As análises foram realizadas em triplicata.

2.5 Análise físico-química

Os queijos foram analisados quanto aos teores de proteínas totais (% m/m) por Kjeldahl (N x 6,38) (991.20) segundo AOAC (2005), lipídeos (% m/m) por extração em Soxhlet (034/IV) e umidade (% m/m) por secagem direta em estufa a 105°C (012/IV), ambos segundo IAL (2005).

A acidez (% ácido láctico) dos queijos foi determinada de acordo com a metodologia 920.124 da AOAC (2005), enquanto as medidas dos valores de pH foram realizadas utilizando pHmetro (MP220, Metler-Toledo, Greifensee, Suíça).

2.6 Medida do índice de sinerese

O Índice de Sinerese (IS) foi calculado de acordo com Souza e Saad (2009), empregando a Equação 2 onde ms é a massa (g) de soro liberada em cada embalagem e mq é a massa (g) de queijo contida na mesma embalagem. Todas estas análises foram feitas em triplicata.

$$IS (\%) = \frac{[ms(g)]}{[mq(g)]} \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

2.7 Análise reológica

As análises reológicas foram realizadas em texturômetro TA-XT2i (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Reino Unido) auxiliadas pelo programa Texture Expert Exceed 2.61 (Stable Micro Systems Ltd., Surrey, Reino Unido), equipado com célula de carga de 25 Kg. As amostras de queijos, com 19 mm de diâmetro e 20 mm de altura, não lubrificadas, foram comprimidas por um *probe* cilíndrico de alumínio de 25 mm de diâmetro. Os cilindros de queijos foram mantidos em refrigeração (5 ± 1 °C) até o momento do ensaio. Em cada amostra de queijo as medidas foram repetidas cinco vezes.

2.7.1 Compressão uniaxial

As amostras cilíndricas dos queijos foram comprimidas até 50 % de sua altura inicial a uma velocidade de $1 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$. A tensão (σ) foi calculada através da Equação 3, conforme o proposto por Calzada e Peleg (1978).

$$\sigma_{(t)} = F_{(t)} / A_{(t)} \quad \text{Equação 3}$$

onde $\sigma_{(t)}$ é a tensão no tempo t; $F_{(t)}$ é a força no tempo t; $A_{(t)}$ é a área da amostra no tempo t. A deformação (ϵ) foi calculada de acordo com a Equação 4, também descrita por Calzada e Peleg (1978).

$$\epsilon = \ln(H_0)/H_0 - \Delta H \quad \text{Equação 4}$$

onde H_0 é a altura inicial da amostra ; ΔH é a diferença entre a altura da amostra no tempo t e H_0 .

A tensão de ruptura (σ_r) e a deformação de ruptura (ϵ_r) foram calculadas a partir das curvas de tensão pela deformação, onde σ_r foi obtida no ponto máximo da curva e ϵ_r através da deformação correspondente, segundo Wium e Qvist (1997).

2.7.2 Teste de relaxação

Os testes de relaxação dos queijos foram realizados medindo-se a queda da força durante 10 minutos após a deformação da amostra. A velocidade de compressão foi igual a 1 mm.s^{-1} e a deformação igual a 10 % da altura inicial da amostra.

Os resultados dos testes de relaxação foram normalizados e analisados através do modelo empírico proposto por Peleg demonstrado na Equação 5 (PELEG, 1980; MÜLLER; LAURINDO; YAMASHITA, 2009), onde $F(t)$ é a força instantânea durante o tempo de relaxação e F_0 é a força máxima inicial.

$$\frac{F(t)}{F_0} = 1 - \frac{c_1 \cdot t}{c_2 + t} \quad \text{Equação 5}$$

Os parâmetros c_1 e c_2 foram estimados por regressão não-linear usando o *software* STATISTICA versão 6.0 (STATSOFT INC., 2001). Neste modelo, $1-c_1$ e c_1/c_2 fornecem informações sobre as características viscoelásticas do material. O valor de $1-c_1$ pode ser visto como o “grau de solidez”, enquanto a razão de c_1/c_2 representa a taxa inicial de decaimento da força. Como o grau de solidez está associado ao comportamento global do material, foram levados em consideração todos os dados experimentais. Para se obter uma estimativa precisa da taxa inicial de decaimento, os dados foram ajustados utilizando os vinte primeiros pontos experimentais das curvas de relaxação, adimensionalmente através da razão $F(t)/F_0$ versus o tempo, como sugerem Müller, Laurindo e Yamashita (2009).

2.8 Análise microestrutural

As amostras de queijo foram preparadas para a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) de acordo com o método de Lobato-Calleros et al. (2002), com

modificações. Amostras cilíndricas de 0,5 cm de diâmetro e de altura foram fixadas em solução tampão de glutaraldeído 2 % por 6 horas, desidratadas em soluções com concentração etanólica crescente (50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % e 100 %), por um período de tempo de permanência em cada solução de 30 minutos, e por fim colocadas em acetona por 1 hora. Na seqüência as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e levadas ao liofilizador (Terroni, modelo LD 3000, São Carlos, Brasil). Cada amostra liofilizada foi partida manualmente e montada no *stub* com a parte fraturada voltada para cima, e então recoberta com uma camada de ouro. Um microscópio eletrônico de varredura (Philips, XL 30, Eindhoven, Holanda), operando com 10 kV e 15 kV foi utilizado para visualização das amostras na magnitude entre 1500 e 2000 vezes (10 μm) e 8000 vezes (2 μm).

2.9 Análise de cor

A análise da cor das amostras de queijo foi determinada através de um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, previamente calibrado. A escala CIELab foi utilizada para calcular a diferença total da cor (ΔE^*) entre os valores observados no tempo final e inicial de armazenamento (Equação 6), segundo Capellas et al. (2001).

$$\Delta E^* = \left[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 \right]^{1/2} \quad \text{Equação 6}$$

onde ΔL^* é a diferença de luminosidade para a mesma amostra de queijo entre os dias 1 e 28 de armazenamento; assim como Δa^* é a diferença entre a intensidade da cor vermelha; e Δb^* a diferença de intensidade da cor amarela. Para cada tipo de queijo foram realizadas 21 medidas, sendo 18 na superfície externa e 3 na superfície interna. Em cada queijo esta análise foi realizada em triplicata.

2.10 Análise estatística

As médias, o desvio padrão, a análise de variância e teste de Tukey (5 % de significância) dos dados avaliados foram obtidos através do *software* STATISTICA versão 6.0 (STATSOFT INC., 2001).

3 Resultados e Discussão

3.1 Análise microbiológica

Os queijos probióticos Q2 e Q3 apresentaram contagens de células viáveis de *Bifidobacterium* Bb-12, respectivamente, de 7,74 e 7,74 log UFC/g, no dia 1; e de 7,73 e 7,93 log UFC/g, no dia 28. Portanto, as contagens de células viáveis probióticas obtidas estiveram acima dos níveis recomendados durante todo o período de armazenamento (BOYLSTON et al., 2004; SHAH, 2007), satisfazendo o critério estabelecido para um alimento probiótico, ou seja, igual ou superior a 8 ou 9 log UFC para cada 100 g do produto (GOMES; MALCATA, 1999). No entanto, Chen e Walker (2005) afirmam que o melhor método de administração de probióticos é a ingestão contínua, garantindo a presença destes microrganismos em grande número no intestino para proporcionar os efeitos desejados. Além dos resultados obtidos incentivarem o uso da *Bifidobacterium* Bb-12 na produção de um queijo Minas Frescal probiótico, os mesmos demonstram que a utilização do ácido lático não interferiu na contagem de células viáveis probióticas.

Resultados semelhantes aos obtidos têm sido descritos na literatura quanto à sobrevivência de bifidobactérias em queijos. Phillips, Kailasapathy e Tran (2006), monitorando a viabilidade de *Bifidobacterium* Bb-12 em queijo Cheddar obtiveram contagens acima de 8,00 log UFC/g, durante 32 semanas de armazenamento. Já Gomes et al. (1995) testaram a utilização de *Bifidobacterium* Bo em queijo tipo Gouda e observaram altas contagens durante 9 semanas de armazenamento. Por fim, Mc Brearty et al. (2001) estudando a viabilidade de *Bifidobacterium* Bb-12 e *Bifidobacterium longum* em queijo Cheddar observaram queda nas contagens de *Bifidobacterium longum*, sendo que somente a cepa Bb-12 resistiu às condições ambientais por seis meses de maturação, apresentando contagens acima de 8,00 log UFC/g durante todo este período.

Por outro lado, Özer, Uzun e Kirmaci (2008), em estudos com queijo Kasar, uma variedade de queijo turco semiduro salgado à seco, observaram uma queda significativa de 10 log para 4 log UFC/g, na contagem de *Bifidobacterium* Bb-12, após 60 dias de

armazenamento, sendo a penetração de sal ao longo deste período indicada como responsável pela queda nas contagens.

3.2 Análise físico-química

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes ao rendimento e à composição físico-química dos quatro tipos de queijo Minas Frescal. A partir destes resultados, pôde-se verificar que no dia 1 de armazenamento, os queijos com ácido láctico e/ou bifidobactéria não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) com relação ao rendimento e a umidade. Neves-Souza e Silva (2005) obtiveram queijos Minas Frescal com menores rendimentos (16,41 %) utilizando somente culturas mesofílicas, enquanto Buriti et al. (2005) verificaram valores similares aos encontrados no presente trabalho, para queijos Minas Frescal adicionados de ácido láctico (21,89 %) e *Lactobacillus paracasei* (20,84 %). Furtado (2005) e Van Dender e Moreno (1992) relatam que queijos produzidos com acidificação direta do leite geralmente apresentam maior rendimento e maiores teores de umidade, quando comparados aos queijos produzidos com culturas mesofílicas, que possuem uma coalhada mais ácida e com uma menor retenção de soro.

Assim como o afirmado por Ong, Henriksson e Shah (2006), que o emprego de bactérias probióticas não modifica a composição de queijos, também não foram verificadas diferenças ($p > 0,05$) nos teores protéicos e lipídicos dos queijos analisados, nos dias 1 e 28 de armazenamento. No entanto, o teor de umidade diminuiu ($p < 0,05$) durante o armazenamento em todos os queijos, sendo que os adicionados de ácido láctico, Q3 e Q4, apresentaram maior ($p < 0,05$) teor de umidade no dia 28. Souza e Saad (2009) também observaram diminuição no teor de umidade em queijos Minas Frescal produzidos com *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus*, sendo tal comportamento creditado por estes autores, às transformações bioquímicas que normalmente ocorrem nos queijos durante o armazenamento.

Tabela 2: Valores médios (desvio padrão) do rendimento e da composição físico-química dos diferentes queijos Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.

Queijos	Dias	Rendimento (% m/m)	Proteínas (% m/m)	Lipídeos (% m/m)	Umidade (% m/m)
Q1*	1	19,64 ^a (0,71)	13,50 ^{aA} (0,28)	16,17 ^{aA} (0,12)	66,47 ^{aA} (0,36)
	28	-	13,58 ^{aA} (0,22)	15,94 ^{aA} (0,11)	61,54 ^{aB} (1,43)
Q2*	1	19,72 ^a (0,28)	13,50 ^{aA} (0,07)	15,70 ^{aA} (0,03)	67,11 ^{aA} (0,62)
	28	-	13,93 ^{aA} (0,90)	15,96 ^{aA} (0,22)	60,40 ^{aB} (1,10)
Q3*	1	20,51 ^a (0,51)	13,67 ^{aA} (0,01)	15,97 ^{aA} (0,01)	67,13 ^{aA} (0,55)
	28	-	14,04 ^{aA} (0,83)	16,24 ^{aA} (0,44)	63,70 ^{bB} (0,51)
Q4*	1	20,83 ^a (0,81)	13,44 ^{aA} (0,27)	15,86 ^{aA} (0,12)	67,32 ^{aA} (0,48)
	28	-	14,15 ^{aA} (0,47)	15,81 ^{aA} (0,44)	64,22 ^{bB} (0,24)

Q1* = queijo sem ácido láctico e sem bifidobactéria, Q2* = queijo sem ácido láctico e com bifidobactéria, Q3* = queijo com ácido láctico e com bifidobactéria, Q4* = queijo com ácido láctico e sem bifidobactéria.

^{a,b,c} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos estudados para o mesmo período de armazenamento.

^{A,B,C} Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada queijo estudado.

Relacionado à diminuição da umidade observou-se o aumento do índice de sinerese em todos os queijos fabricados (Tabela 3). Buriti et al. (2005), Buriti, Rocha e Saad (2005) e Souza e Saad (2009), também verificaram este comportamento em queijos Minas Frescal contendo ácido láctico e/ou bactérias probióticas.

Na Tabela 3 estão também demonstrados os valores da acidez e pH dos quatro tipos de queijos elaborados, onde foi verificado o aumento ($p < 0,05$) da acidez, com conseqüente diminuição ($p < 0,05$) do pH, entre os dias 1 e 28 de armazenamento. Este fato seria responsável, conforme Goncu e AlpKent (2005), ao aumento do índice de sinerese, pois Fox et al. (2000) relatam que com a contínua acidificação do produto, as concentrações de íons H^+ aumentam, e devido à baixa concentração de sal neste tipo de queijo, as forças repulsivas entre as micelas de caseína diminuem, provocando a sua agregação e conseqüentemente a expulsão de soro, caracterizando o surgimento da sinerese.

A maior ($p < 0,05$) acidez dos queijos sem ácido láctico, no dia 28 de armazenamento, poderia ser creditada ao maior pH inicial ($p < 0,05$) destes queijos. Cunha, Viotto e Viotto (2006) relatam que tal fato poderia ser decorrente do maior desenvolvimento de bactérias ácido lácticas em pH próximo da neutralidade, sendo estas bactérias responsáveis pelo aumento da acidez durante o armazenamento.

Tabela 3: Valores médios (desvio padrão) da acidez, pH e sinerese nos dias 1 e 28 de armazenamento dos quatro tipos de queijo Minas Frescal.

Queijos	Dias	Acidez titulável (%)	pH	Sinerese (%)
Q1*	1	0,091 ^{aA} (0,02)	6,99 ^{aA} (0,02)	2,09 ^{aA} (0,49)
	28	0,287 ^{aB} (0,02)	6,11 ^{aB} (0,09)	15,92 ^{aB} (2,16)
Q2*	1	0,099 ^{aA} (0,02)	6,87 ^{bA} (0,01)	3,60 ^{aA} (0,86)
	28	0,312 ^{acB} (0,02)	5,92 ^{bB} (0,06)	17,75 ^{acB} (2,22)
Q3*	1	0,109 ^{aA} (0,01)	6,72 ^{cA} (0,01)	2,92 ^{aA} (0,65)
	28	0,245 ^{abB} (0,02)	6,22 ^{cB} (0,01)	12,84 ^{abB} (1,74)
Q4*	1	0,102 ^{aA} (0,03)	6,74 ^{cA} (0,01)	2,55 ^{aA} (0,33)
	28	0,227 ^{bB} (0,02)	6,23 ^{cB} (0,01)	11,87 ^{bB} (0,92)

Q1* = queijo sem ácido láctico e sem bifidobactéria, Q2* = queijo sem ácido láctico e com bifidobactéria, Q3* = queijo com ácido láctico e com bifidobactéria, Q4* = queijo com ácido láctico e sem bifidobactéria.

^{a,b,c} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos estudados para o mesmo período de armazenamento.

^{A,B,C} Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada queijo estudado.

3.3 Análise reológica

Os dados reológicos de compressão uniaxial: tensão de ruptura (σ_r) e deformação de ruptura (ϵ_r), bem como os de relaxação: grau de solidez ($1-c_1$) e taxa inicial de decaimento da força (c_1/c_2), encontram-se na Tabela 4.

Em todos os queijos elaborados o armazenamento aumentou ($p < 0,05$) a σ_r indicando, segundo Visser (1991), comportamento característico de produtos com maior firmeza. Visser (1991) também afirma que este aumento poderia estar relacionado à diminuição do teor de umidade dos queijos durante o armazenamento, estando de

acordo com os resultados obtidos (Tabela 2). O aumento da σ_r durante o armazenamento foi observado também por Pavia et al. (1999) e Juan et al. (2007) em queijo Manchego e semi-duro, respectivamente, ambos fabricados com leite de ovelha. No entanto, Lucey, Johnson e Horner (2003) relatam que o comportamento esperado seria a redução da firmeza durante o armazenamento, devido à proteólise, reação bioquímica responsável pela hidrólise da caseína. Desta forma, os resultados obtidos sugerem ausência da proteólise nos queijos avaliados.

Tabela 4: Valores médios (desvio padrão) dos parâmetros reológicos de compressão uniaxial e de relaxação para os quatro tipos de queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.

Queijos	Dias	Tensão de ruptura (σ_r) (kPa)	Deformação de ruptura (ϵ_r) (-)	Grau de solidez ($1-c_1$) (-)	Taxa inicial de decaimento da força (c_1/c_2) (s ⁻¹)
Q1*	1	14,27 ^{aA} (1,07)	0,46 ^{aA} (0,02)	0,060 ^{aA} (0,011)	0,380 ^{aA} (0,023)
	28	31,34 ^{aB} (1,95)	0,56 ^{aB} (0,01)	0,137 ^{aB} (0,015)	0,412 ^{aA} (0,059)
Q2*	1	24,34 ^{bA} (2,16)	0,54 ^{bA} (0,03)	0,050 ^{aA} (0,008)	0,372 ^{aA} (0,027)
	28	44,21 ^{bB} (4,83)	0,57 ^{aA} (0,03)	0,125 ^{abB} (0,006)	0,419 ^{aA} (0,011)
Q3*	1	19,30 ^{cA} (0,74)	0,49 ^{aA} (0,03)	0,068 ^{abA} (0,008)	0,436 ^{aA} (0,069)
	28	26,28 ^{cB} (3,32)	0,51 ^{bA} (0,01)	0,118 ^{bB} (0,007)	0,506 ^{bA} (0,047)
Q4*	1	16,19 ^{acA} (1,11)	0,47 ^{aA} (0,01)	0,079 ^{bA} (0,006)	0,440 ^{aA} (0,034)
	28	20,99 ^{dB} (1,41)	0,51 ^{bA} (0,01)	0,111 ^{bB} (0,006)	0,498 ^{bA} (0,030)

Q1* = queijo sem ácido láctico e sem bifidobactéria, Q2* = queijo sem ácido láctico e com bifidobactéria, Q3* = queijo com ácido láctico e com bifidobactéria, Q4* = queijo com ácido láctico e sem bifidobactéria.

^{a,b,c} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos estudados para o mesmo período de armazenamento.

^{A,B,C} Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada queijo estudado.

Após 28 dias de armazenamento, verificou-se um aumento do parâmetro ϵ_r ($p < 0,05$) apenas no queijo sem adição de ácido láctico e bifidobactéria (Q1). Entretanto, no dia 28 foram observados maiores valores ($p < 0,05$) de ϵ_r nos queijos sem ácido láctico (Q1 e Q2). Juan et al. (2007) afirmam que este parâmetro mede a deformação que o queijo poderá sofrer antes da ruptura, sendo que altos valores numéricos indicam uma

maior deformabilidade. Por isso, o maior valor de umidade encontrado nos queijos com ácido láctico (Q3 e Q4), no dia 28, possivelmente influenciou nestes resultados. Assim como o observado para σ_r , também no dia 28, os queijos com ácido láctico (Q3 e Q4) apresentaram menor resistência à ruptura, pois Ahmed et al. (2005) relatam que queijos com altos teores de umidade apresentam uma rede protéica mais frágil, resultando em queijos mais macios e fáceis de romper.

Os dados de relaxação revelaram aumento ($p < 0,05$) do grau de solidez, entre os dias 1 e 28 de armazenamento, em todos os queijos, demonstrando uma pequena ($p < 0,05$) elevação da componente elástica. Estes dados podem ser explicados também pela diminuição do conteúdo de umidade verificada ao longo do armazenamento, pois, segundo Fox et al. (2000), como o soro do queijo presente entre as micelas de caseína atua como um lubrificante, um menor teor de umidade resulta em uma rede protéica mais elástica e menos macia. Comportamento semelhante foi obtido por Buriti, Rocha e Saad (2005) em queijo Minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*. A adição de bifidobactéria nos queijos avaliados (Q2 e Q3) não influenciou ($p > 0,05$) no grau de solidez quando comparados aos outros dois queijos (Q1 e Q4).

Como os testes de relaxação são utilizados para estudar o comportamento viscoelástico de queijos (TUNICK, 2000), pôde-se verificar a partir dos resultados obtidos (Tabela 4) que os queijos Minas Frescal elaborados, caracterizados por apresentar elevado teor de umidade, demonstraram um comportamento viscoelástico com maior contribuição da componente viscosa, já que os valores do grau de solidez ($1 - c_1$) ficaram mais próximos de zero. Seguindo o modelo empírico de Peleg (1980), quando $t \rightarrow \infty$, $F(t)/F_0 \rightarrow 1 - c_1$, observa-se que o material relaxa totalmente se $c_1 = 1$ e $1 - c_1 = 0$, ou seja, $1 - c_1$ serve como um indicativo do grau de solidez do alimento, onde numa escala de 0 a 1, 0 é considerado um líquido e 1 um sólido elástico ideal.

Os valores da taxa inicial de decaimento da força (c_1/c_2) (Tabela 3 e Apêndice A) para os queijos com ácido láctico (Q3 e Q4), no dia 28 de armazenamento, foram maiores ($p < 0,05$) do que os sem adição de ácido láctico (Q1 e Q2). Desta forma, foi possível confirmar que o emprego do ácido láctico contribuiu na obtenção de queijos com menor resistência mecânica e, portanto menos elásticos. Comportamento similar foi observado por Laurindo e Peleg (2007) em biscoitos de arroz com diferentes teores

de umidade. Assim como o verificado por estes autores, produtos com maior umidade, como os queijos com ácido láctico (Q3 e Q4), no dia 28, foram os que apresentam maior taxa inicial de decaimento da força.

3.4 Análise microestrutural

As Figuras 2 e 3 mostram as micrografias dos diferentes queijos Minas Frescal estudados, nos dias 1 e 28 de armazenamento, respectivamente. Diferenças na microestrutura, no dia 1, foram observadas, onde a matriz protéica dos queijos sem ácido láctico (Q1 e Q2) (Figura 2 a, b) apresentou visualmente uma estrutura mais compacta.

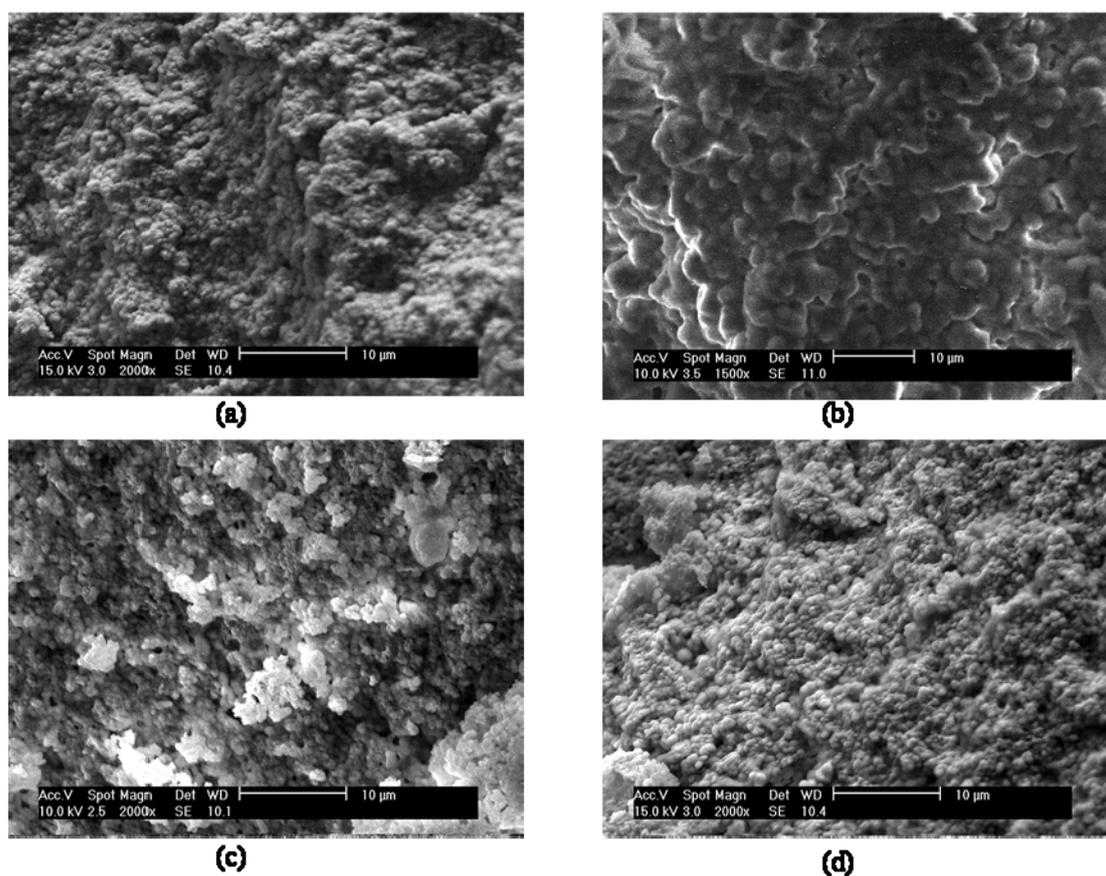


Figura 2: Micrografias da microscopia eletrônica de varredura das quatro formulações; (a) queijo sem ácido láctico e sem bifidobactéria – Q1, (b) queijo sem ácido láctico e com bifidobactéria – Q2, (c) queijo com ácido láctico e com bifidobactéria – Q3 e (d) queijo com ácido láctico e sem bifidobactéria – Q4; de queijo Minas Frescal no dia 1 de armazenamento.

De acordo com Viotto e Oliveira (1998), esse comportamento deve-se ao fato de que o coágulo dos queijos elaborados por acidificação direta, é formado por partículas de caseína de menores tamanhos e mais desmineralizadas, resultando em uma rede protéica mais frágil. Fox et al. (2000) afirmam que a desmineralização, ocorrida através da perda de cálcio e fosfato da micela de caseína, é devido à diminuição do pH, que compromete a extensão das ligações entre as micelas e, portanto resulta em uma microestrutura menos compacta.

No dia 28 de armazenamento (Figura 3) também foram observadas diferenças entre os queijos fabricados com e sem adição de ácido láctico.

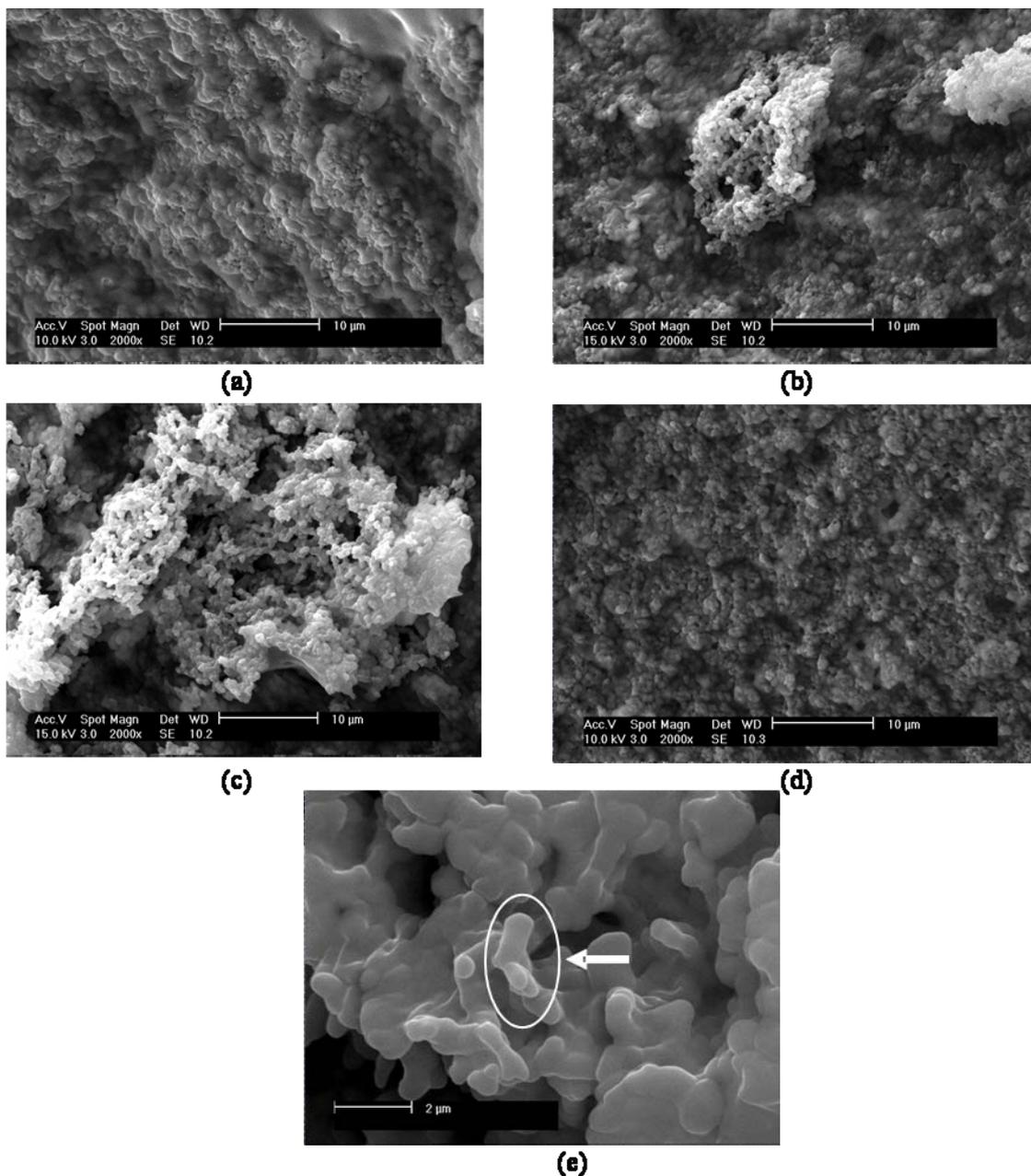


Figura 3: Micrografias da microscopia eletrônica de varredura das quatro formulações; (a) queijo sem ácido láctico e sem bifidobactéria – Q1, (b) queijo sem ácido láctico e com bifidobactéria – Q2, (c) queijo com ácido láctico e com bifidobactéria – Q3, (d) queijo com ácido láctico sem bifidobactéria – Q4 e (e) bifidobactéria ampliada; de queijo Minas Frescal no dia 28 de armazenamento.

Como existe uma grande relação entre a microestrutura e a reologia dos queijos (MADADLOU et al., 2007), a matriz protéica menos compacta observada na Figura 3 (c, d) poderia justificar a menor firmeza e deformação encontrada nas análises reológicas dos queijos com ácido láctico. Assim como o observado por Hansen et al. (2002) e Allan-Wojtas, Hansen e Paulson (2008), através da Figura 3 (e) foi possível confirmar a presença da bactéria probiótica *Bifidobacterium* Bb-12, adicionada nos queijos Q2 e Q3.

3.5 Análise de cor

Os valores dos parâmetros de cor, bem como a diferença de cor para os quatro tipos de queijo Minas Frescal, avaliados nos dias 1 e 28 de armazenamento, estão apresentados na Tabela 5. Quando comparados os dias 1 e 28 de armazenamento, pôde-se observar uma diminuição do parâmetro luminosidade (L^*) ($p < 0,05$), demonstrando que todos os queijos elaborados tornaram-se mais escuros. De acordo com Nielsen, Stapelfeldt e Skibsted (1997) e Chatelain et al. (2003), o decréscimo deste parâmetro no armazenamento seria decorrente do tempo de exposição do produto à luz. Chatelain et al. (2003) afirmam também que outros fatores como temperatura de armazenamento e modificações físico-químicas no produto poderiam modificar a luminosidade. Apesar dos queijos terem sido armazenados sob refrigeração, não se empregou uma forma de proteção contra a luz, fato que pode ter contribuído para o escurecimento do produto.

Os valores do parâmetro b^* variaram ($p < 0,05$), em todos os queijos, após 28 dias de armazenamento. Como os carotenóides, componentes com atividade antioxidante, são um dos principais responsáveis pela coloração amarelada de queijos (NOZIÈRI et al., 2006), e é indicado por Lennersten e Lingnert (2000) que a forma de armazenamento pode causar instabilidade nestes componentes, esta seria a razão encontrada para a mudança deste parâmetro. Após 28 dias foi verificado que os queijos

não adicionados de bifidobactéria (Q1 e Q4) apresentaram aumento ($p < 0,05$) no parâmetro a^* , demonstrando a tendência do surgimento de uma tonalidade menos esverdeada. Resultados semelhantes foram encontrados por Kristensen et al. (2001) em queijos processados. Estes autores concluíram que a exposição dos queijos à luz desencadeou a degradação da riboflavina, já que, de acordo com Powers (2003) este pigmento de coloração verde, também conhecido como vitamina B2, caracteriza-se como fotossensível. No entanto, as amostras de queijo contendo bifidobactéria (Q2 e Q3) além de apresentarem valores de a^* mais elevados ($p < 0,05$), foram também estáveis ($p > 0,05$) após 28 dias de armazenamento. Este resultado deve-se, segundo Gomes e Malcata (1999) e Saad (2006) à capacidade das bactérias probióticas em sintetizar determinados nutrientes, principalmente as vitaminas do complexo B, como a riboflavina. Deste modo, os valores de ΔE^* , dos queijos adicionados de bifidobactéria (Q2 e Q3) demonstraram menor diferença de cor, provavelmente devido à estabilidade apresentada pelo parâmetro a^* no armazenamento.

Tabela 5: Parâmetros médios (desvio padrão) e diferença de cor para as quatro formulações de queijo Minas Frescal, nos dias 1 e 28 de armazenamento a 5 ± 1 °C.

Queijos	Dias	L^*	b^*	a^*	ΔE^*
Q1*	1	94,92 ^{aA} (0,41)	14,91 ^{aA} (0,31)	-1,60 ^{aA} (0,12)	1,97
	28	93,11 ^{aB} (0,51)	14,44 ^{aB} (0,50)	-0,99 ^{aB} (0,15)	
Q2*	1	94,66 ^{abA} (0,48)	15,26 ^{bA} (0,56)	-1,68 ^{bA} (0,13)	1,34
	28	93,38 ^{acB} (0,71)	14,87 ^{bbB} (0,41)	-1,66 ^{bA} (0,18)	
Q3*	1	94,62 ^{bA} (0,51)	15,50 ^{cbA} (0,34)	-1,76 ^{cA} (0,11)	0,87
	28	93,92 ^{bbB} (0,52)	14,99 ^{bbB} (0,68)	-1,72 ^{bA} (0,12)	
Q4*	1	94,95 ^{acA} (0,41)	15,14 ^{abA} (0,43)	-1,58 ^{aA} (0,15)	1,59
	28	93,46 ^{cbB} (0,64)	14,77 ^{bbB} (0,55)	-1,16 ^{cbB} (0,09)	

Q1* = queijo sem ácido lático e sem bifidobactéria, Q2* = queijo sem ácido lático e com bifidobactéria, Q3* = queijo com ácido lático e com bifidobactéria, Q4* = queijo com ácido lático e sem bifidobactéria.

^{a,b,c} Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos estudados para o mesmo período de armazenamento.

^{A,B,C} Letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada queijo estudado.

4 Conclusão

O armazenamento e o emprego de ácido láctico nos queijos não influenciaram na contagem de células viáveis, podendo ser classificados como probióticos. A adição de ácido láctico e/ou bifidobactéria não interferiu no rendimento, no teor protéico e lipídico dos queijos. No dia 28 de armazenamento, os queijos sem ácido láctico apresentaram menor umidade, influenciando no comportamento reológico e microestrutural, tornando-os mais elásticos, firmes e compactos. No entanto, todos os queijos avaliados demonstraram um comportamento viscoelástico com maior contribuição da componente viscosa. Após 28 dias de armazenamento, em todos os queijos verificou-se um escurecimento e diminuição da cor amarela, enquanto os queijos com bifidobactéria apresentaram uma estável tonalidade esverdeada.

Referências Bibliográficas

AHMED, N. H.; EL SODA, M.; HASSAN, A. N.; FRANK, J. Improving the textural properties of acid-coagulated (Karish) cheese using exopolysaccharide producing cultures. **LWT- Food Science and Technology**, v.38, p.843-847, 2005.

ALLAN-WOJTAS, P.; HANSEN, L. T.; PAULSON, A. T. Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. **LWT- Food Science and Technology**, v.41, p.101-108, 2008.

ANAL, A. K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.240-251, 2007.

ARAGON-ALEGRO, L. C.; ALEGRO, J. H. A.; CARDARELLI, H. R.; CHIU, M. C.; SAAD, S. M. I. Probiotic and synbiotic chocolate mousse. **LWT- Food Science and Technology**, v.40(4), p.669-675, 2007.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18th. Edition. Maryland, USA, 2005.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas: UNICAMP, 2001. 401p.

- BERTOLA, N. C.; CALIFANO, A. N.; BEVILACQUA, A. E.; ZARITZKY, N. E. Effects of ripening conditions on the texture of Gouda Cheese. **International Journal of Food Science and Technology**, v.35, p.207–214, 2000.
- BLANCHETTE, L.; ROY, D.; BELANGER, G.; GAUTHIE, S. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.8-15, 1996.
- BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v.14, p.375-387, 2004.
- 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**, v.38(2), p.173–180, 2005.
- 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(12), p.1279–1288, 2005.
- CALZADA, J. F.; PELEG, M. Mechanical interpretation of compressive stress–strain relationships on solids foods. **Journal of Food Science**, v.41, p.1087–1092, 1978.
- CAPELLAS, M.; MOR-MUR, M.; SENDRA, E.; GUAMIS, B. Effect of high-pressure processing on physico-chemical characteristics of fresh goats' milk cheese (*Mató*). **International Dairy Journal**, v.11, p.165-173, 2001.
- CHATELAIN, Y.; ALOUI, J.; GUGGISBERG, D.; BOSSET, J. O. La couleur du lait et des produits laitiers et sa mesure – un article de systhèse. **Millelungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v.94, p.461-488, 2003.
- CHEN, C.; WALKER, W. A. Probiotics and Prebiotics: Role in Clinical Disease States. **Advances in Pediatrics**, v. 52, p.77-113, 2005.
- CORBO, M. R.; ALBENZIO, M.; DE ANGELIS, M.; SEVI, A.; GOBBETTI, M. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.551–561, 2001.
- CUNHA, C. R.; VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “ Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, v.16, p.215-224, 2006.
- DESMOND, C. B.; CORCORAN, M.; COAKLEY, M.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Development of dairy-based functional foods containing probiotics and prebiotics. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.60, p.121-126, 2005.
- EVERETT, D. W.; AUTY, M. A. E. Cheese structure and current methods of analysis. **International Dairy Journal**, v.18, p.759-773, 2008.

FAO/WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf. Acesso em 16 novembro de 2008.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**, 2º. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 200 p. 2005.

GOBBETTI, M.; CORSETTI, A.; SMACCHI, E.; ZOCCHETTI, A.; DE ANGELIS, M. Production of Crescenza cheese by incorporation of bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.37–47, 1998.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X.; KLAVER, F. A. M.; GRANDE, H. J. Incorporation of *Bifidobacterium* sp. Strain Bo and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a cheese product. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, v.49, p.71-95, 1995.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, n.4/5, p.139-157, 1999.

GONCU, A.; ALPKENT, Z. Sensory and chemical properties of white pickled cheese produced using kefir, yoghurt or a commercial cheese culture as a starter. **International Dairy Journal**, v.15, p.771-776, 2005.

HANSEN, L. T.; ALLAN-WOJTAS, P. M.; JIN, Y. L.; PAULSON, A. T. Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. **Food Microbiology**, v.19, p.35-45, 2002.

HOMAYOUNI, A.; AZIZI, A.; EHSANI M. R.; YARMAND M. S.; RAZAVI S. H. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. **Food Chemistry**, v.111, p.50-55, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ- IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos** (4 ed.), São Paulo, Brasil, 2005.

JUAN, B.; TRUJILLO, V.; GUAMIS, M.; BUFFA, M.; FERRAGUT, V. Rheological, textural and sensory characteristics of high-pressure treated semi-hard ewes`milk cheese. **International Dairy Journal**, v.17, p.248-254, 2007.

KRISTENSEN, D.; HANSEN, E.; ARNDAL, A.; TRINNDERUP, R. A.; SKIBSTED, L. H. Influence of light and temperature on the colour and oxidative stability of processed cheese. **International Dairy Journal**, v.11, p.837-843, 2001.

LAURINDO, J. B.; PELEG, M. Mechanical measurements in puffed rice cakes. **Journal of Texture Studies**, v.38, p.619–634, 2007.

LAW, B. A. **Technology of cheesemaking**. Boca Raton: CRC, 1999. 322p.

LENNERSTEN, M.; LINGNERT, H. Influence of wavelength and packaging material on lipid oxidation and colour changes in low-fat mayonnaise. **LWT- Food Science and Technology**, v.33, p.253-260, 2000.

LOBATO-CALLEROS, C.; RAMIREZ-SANTIAGO, C.; OSORIO-SANTIAGO, V. J.; VERNON-CARTER, E. J. Microstructure and texture of Manchego cheese-light products Made with canola oil, lipophilic, and hydrophilic emulsifiers. **Journal of Texture Studies**, v.33, p.165–182, 2002.

LOBATO-CALLEROS C.; REYES-HERNÁNDEZ J.; BERISTAIN C. I.; HORNELAS-URIBE Y.; SÁNCHEZ-GARCÍA J. E.; VERNON-CARTER E.V. Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. **Food Research International**, v.40, p.529–537, 2007.

LUCEY, J. A.; JOHNSON, M. E.; HORNET, D. S. Invited Review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. **Journal Dairy Science**, v.86, p.2725-2743, 2003.

MADADLOU, A.; KHOSROSHAHI ASL, A.; MOUSAVI, M. E.; FARMANI J. The influence of brine concentration on chemical composition and texture of Iranian White cheese. **Journal of Food Engineering**, v.81, p.330–335, 2007.

MADUREIRA, A. R.; PEREIRA, C. I.; TRUSZKOWSKA, K.; GOMES A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA F. X. Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, v.15, p.921-927, 2005.

MC BREARTY, S.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COLLINS, J. K.; WALLACE, J. M.; STANTON C. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, v.11, p.599–610, 2001.

MÉDICI, M.; VINDEROLA, C. G.; PERDIGÓN, G. Gut mucosal immunomodulation by probiotic fresh cheese. **International Dairy Journal**, v.14, p.611–618, 2004.

MESSENS, W.; VAN DEWALLE, D.; AREVALO, J.; DEWETTINCK, K.; HUYGHEBAERT, A. Rheological properties of high-pressure-treated Gouda cheese. **International Dairy Journal**, v.10, p.359-367, 2000.

MÜLLER, C. M. O.; LAURINDO, J. B.; YAMASHITA, F. Effect of cellulose fibers on the crystallinity and mechanical properties of starch-based films at different relative humidity values. **Carbohydrate Polymers** (2009), doi:10.1016/j.carbpol.2008.12.030.

NEVES-SOUZA, R. D.; SILVA, R. S. S. F. Estudo de custo-rendimento do processamento de queijos tipo minas frescal com derivado de soja e diferentes agentes coagulantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25 (1), p.170-174, 2005.

NIELSEN B. R.; STAPELFELDT H.; SKIBSTED L. H. **Differentiation Between 15 Whole Milk Powders in Relation to Oxidative Stability During Accelerated Storage:** Analysis of Variance and Canonical Variable Analysis. 1997. Department of Dairy and Food Science, Royal Veterinary and Agricultural University, Denmark.

NOZIÈRE, P.; GRAULET, B.; LUCAS, A.; MARTIN, B.; GROLIER, P.; DOREAU, M. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. **Animal Fees Science and Technology**, v.131, p.418-450, 2006.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheeddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v.16, p.446-456, 2006.

OUWEHAND, A.; KIRJAVAINEN, P.; SHORTT, C.; SALMINEN, S. Probiotics: mechanisms and stabilised effect. **International Dairy Journal**, v.9, p.43–52, 1999.

ÖZER, B.; UZUN, Y. S.; KIRMACI, H. A. Effect of microencapsulation on viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during kasar cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, p.237-244 , 2008.

PAVIA, M.; GUAMIS, B.; TRUJILLO, A. J.; CAPELLAS, M.; FERRAGUT, V. Changes in microstructural, textura and colour characteristics during ripening of Manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. **International Dairy Journal**, v.9, p.91-98, 1999.

PELEG, M. Linearization of relaxation and creep curves of solid biological materials. **Journal of Rheology**, v.24, p.451–463, 1980.

PHILLIPS, M.; KAILASAPATHY, K.; TRAN, L. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v.108, p.276–280, 2006.

POWERS, H. J. Riboflavin (vitamin – B2) and health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.1352-1360, 2003.

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

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

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

SOUZA, C. H. B. **Influência de uma cultura starter termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas frescal probiótico.** 2006. 110p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, USP, São Paulo.

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**, v.42, p.633-640, 2009.

THAMER, G. K.; PENNA, B. A. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, p.1-13, 2005.

TUNICK, M. H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1892-1898, 2000.

VAN DENDER, A. G. F.; MORENO, I. Estudo de processos alternativos para a fabricação de queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.47, p.74-79, 1992.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobactéria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v.10, p.271-275, 2000.

VIOTTO, W. K.; OLIVEIRA, A. N. Produção de Mussarela por acidificação direta usando pequena quantidade de coagulante. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.53, p.44-52, 1998.

VISSER, J. Factors affecting the rheological and fracture properties of hard and semi-hard cheeses. **International Dairy Federation Bulletin**, v.268, p.49-60, 1991.

WIUM, H.; QVIST, K. B. Rheological properties of UF-Feta cheese determined by uniaxial compression and dynamic testing. **Journal of Texture Studies**, v.28, p.435-454, 1997.

Capítulo 3

Aceitabilidade sensorial de queijo Minas Frescal probiótico

Aceitabilidade sensorial de queijo Minas Frescal probiótico

Sensory acceptability of the probiotic Minas Frescal cheese

Resumo

Queijos Minas Frescal adicionados da bactéria probiótica (*Bifidobacterium* Bb-12), com e sem ácido láctico foram avaliados quanto ao teor de sólidos totais, acidez e pH, à contagem de células viáveis probióticas e à análise sensorial. Na análise sensorial foram realizados o teste de comparação pareada-preferência, o perfil de consumidores, a aceitabilidade global e a intenção de compra. Os queijos Minas Frescal adicionados de probióticos, com e sem ácido láctico, não diferiram ($p > 0,05$) quanto aos teores de sólidos totais e quanto à acidez, enquanto o pH do queijo com ácido láctico foi menor ($p < 0,05$), mas ambos foram classificados como probióticos. A adição de ácido láctico também não interferiu na preferência dos queijos, no entanto os consumidores que avaliaram este produto apresentaram como perfil o gênero feminino, com idade entre 18 e 27 anos e que já possuem o hábito de consumir alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino. Além disso, pode-se observar que a maioria dos consumidores classificou os queijos como de boa aceitabilidade, sendo que comprariam este tipo de alimento funcional.

Palavras-chave: queijo Minas Frescal, probióticos, ácido láctico, análise sensorial.

Abstract

Minas Frescal cheeses containing probiotic bacteria (*Bifidobacterium* Bb-12), with and without the addition of lactic acid, were evaluated for the determination of total solid levels, acidity, pH, counting of probiotic viable cells, and sensorial analysis. The sensorial analysis consisted of paired-preference comparison test, the consumers profile, the global acceptability and the purchase intention. Minas Frescal cheeses containing probiotics, with and without lactic acid, did not differ in the total solid levels and acidity ($P > 0.05$), however, the pH of the cheese with lactic acid was lower than the cheese without lactic acid ($P < 0.05$), but both cheeses were classified as probiotics. The addition of lactic acid did not interfere in the cheeses' preference. The main public for this product would be the female genera, with ages between 18 and 27 years old, and that have already the habit to consume foods that help to improve the functioning of the intestine. Moreover, it was possible to observe that the majority of the consumers classified the cheeses as having good acceptability and they would buy this type of functional food.

Keywords: Minas Frescal cheese, probiotics, lactic acid, sensory analysis.

1 Introdução

Consumidores modernos estão cada vez mais interessados na própria saúde, e por isso, esperam ingerir alimentos que sejam saborosos e atrativos, além de seguros e saudáveis (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002). O mercado mundial de alimentos funcionais está em crescimento, sendo que novos produtos são continuamente lançados, promovendo uma intensa competição comercial (MENRAD, 2003). Por esta razão, estudar e entender a percepção de consumidores de alimentos funcionais é essencial para o desenvolvimento de produtos que apresentem boa aceitabilidade (ARES; GIMENEZ; GÁMBARO, 2008).

Alimentos funcionais são aqueles capazes de promover benefícios à saúde, além de possuírem os nutrientes já tradicionais (HALSTED, 2003), destacando-se os probióticos. Probióticos são microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando em um aumento da resistência contra patógenos (ZIEMER; GIBSON, 1998; PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; BOYLSTON et al., 2004). Deste modo, microrganismos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm sido adicionados em variados produtos lácteos, como leites fermentados, sobremesas, sorvetes e queijos (BOYLSTON et al., 2004).

O queijo Minas Frescal, produto amplamente consumido no Brasil, empregado em uma variedade de sanduíches e como acompanhamento de refeições (SOUZA et al., 2008b), é obtido por coagulação enzimática do leite, sendo opcional a adição de bactérias lácticas e de ácido lático industrial. Atualmente, muitas indústrias estão substituindo as culturas lácteas por ácido lático para melhorar o rendimento e a textura do produto (CUNHA; VIOTTO; VIOTTO, 2006), mas somente a adição de culturas lácteas assegura uma permanente produção de ácido lático (FURTADO, 2005). Além disso, Buriti et al. (2007) relatam que estas adições podem interferir nas propriedades sensoriais deste tipo de queijo. Já Buriti, Rocha e Saad (2005) ressaltam que certas características do queijo Minas Frescal, como o baixo teor de sólidos totais, o pH

próximo da neutralidade, bem como a ausência de preservativos, são requisitos ideais para a manutenção da contagem de células viáveis probióticas.

Além da viabilidade, outro critério que determina o sucesso de um alimento probiótico é a análise sensorial (HEENAN et al., 2004). Por outro lado, o estudo do impacto da incorporação de probióticos em queijos é praticamente inexistente (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002; LUCKOW; DELAHUNTY, 2004). No entanto, tem-se creditado aos alimentos probióticos propriedades sensoriais diferenciadas (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002).

A opinião dos consumidores, através de análises sensoriais, são extremamente importantes no desenvolvimento de novos produtos, pois proporcionam uma opinião real sobre o gostar ou desgostar do alimento (BOLENZ; THIESSENHUSEN; SCHÄPE, 2003; WESTAD; HERSLETH; LEA, 2004; HARIOM et al., 2006). Dados demográficos como sexo, idade, nível de escolaridade e condições sócio-econômicas, também podem ajudar as indústrias alimentícias a determinar segmentos de consumidores em função de suas preferências sensoriais (THOMPSON et al., 2004). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a preferência, o perfil dos consumidores, a aceitabilidade global e a intenção de compra de queijos Minas Frescal adicionados de bactéria probiótica (*Bifidobacterium* Bb-12), diferenciados quanto à adição de ácido láctico.

2 Material e Métodos

2.1 Material

Leite pasteurizado padronizado (3,0 % de gordura; 11,5 % de sólidos totais; 3,0 % de proteína total; e 8,4 % de extrato seco desengordurado), ácido láctico (grau alimentício, Purac Sínteses, Rio de Janeiro, Brasil), cultura láctica liofilizada DVS (*Direct Vat Set*), contendo *Bifidobacterium* Bb-12 (Bb-12[®], Chr Hansen, Hoersholm, Dinamarca) cloreto de cálcio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e coalho Ha La[®] (Chr Hansen, Valinhos, Brasil) foram utilizados na elaboração de queijos. Todos os reagentes empregados foram de grau analítico (p.a.), enquanto as soluções e o meio de cultura

MRS (DE MAN, ROGOSA e SHARPE, Merck, Darmstadt, Alemanha) foram devidamente preparados e quando necessário padronizados.

2.2 *Elaboração de queijo Minas Frescal*

Foram elaborados dois tipos de queijos Minas Frescal, sendo um adicionado de bactéria probiótica (*Bifidobacterium* Bb-12) e ácido láctico, enquanto o outro somente com bifidobactéria, segundo Souza (2006), com modificações. Na preparação do queijo com bifidobactéria e ácido láctico, primeiramente o leite foi aquecido a 37 ± 1 °C e então incorporado 2,5 mL de uma solução de ácido láctico a 85 % diluída em 25 mL de água destilada; bactéria probiótica (20 mg L⁻¹); cloreto de cálcio (4 mL de uma solução a 40 %, para cada 10 L de leite) e coalho na quantidade especificada pelo fabricante. No outro queijo o ácido láctico não foi incorporado, sendo que as demais etapas permaneceram inalteradas. Após a coagulação (37 ± 1 °C, por 40 minutos), nos dois tipos de queijo foi realizado o corte da massa, em cubos com 1,5 cm de aresta; a mexedura, por 5 minutos; a enformagem; o armazenamento, por 12 horas sob refrigeração (5 ± 1 °C); e a salga, em salmoura a 20 % durante 1 hora. Os queijos foram embalados em embalagem Cryovac® (BN 200, São Paulo, Brasil), selados em embaladora a vácuo Selovac® (modelo 200 B, São Paulo, Brasil), e mantidos sob refrigeração (5 ± 1 °C) até a realização das análises.

2.3 *Análises físico-química e microbiológica*

Os dois tipos de queijos Minas Frescal probióticos, com e sem ácido láctico, foram avaliados quanto aos teores de sólidos totais (% m/m), obtido por secagem direta de uma amostra em estufa a 105 °C, segundo o descrito pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005); à acidez (% ácido láctico) conforme a AOAC (2005) e ao pH, em pHmetro (MP220, Metler-Toledo, Greinfensee, Suíça).

Antes da análise sensorial, a fim de garantir a segurança microbiológica dos queijos, foi realizada também a contagem de coliformes a 45 °C, Estafilococos coagulase positiva, *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*, conforme metodologia proposta pela APHA (2001).

Para a contagem de células viáveis probióticas (*Bifidobacterium* Bb-12), 25 g de queijo foram misturados em 225 mL de água peptonada (0,1 g/100 mL) em um saco Mixer 400 (Interscience, St. Nom, França) e submetidos à diluição seriada, empregando o mesmo diluente. Assim como o realizado por Vinderola e Reinheimer (2000), as diluições foram plaqueadas na superfície do meio ágar MRS modificado com a adição de 0,2 % (m/v) de cloreto de lítio e 0,3 % (m/v) de propionato de sódio. Após foi acrescentada uma sobrecamada do mesmo meio de cultura, a fim de garantir a anaerobiose imediata. As placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerogen[®], Oxoid, Hampshire, Reino Unido), a 37 ± 1 °C por 72 horas e o resultado expresso em log Unidade Formadora de Colônia por grama do produto (log UFC/g). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 Análise sensorial

Antes da avaliação sensorial, o trabalho foi submetido à aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina, protocolo N° 059/2008 (Anexo C). A análise sensorial foi realizada em duas etapas, primeiramente avaliando a preferência dos consumidores entre os queijos Minas Frescal probiótico com e sem ácido láctico, com posterior análise do perfil dos consumidores, aceitabilidade global e intenção de compra de acordo com Meilgaard, Civille e Carr (2007). A primeira etapa (teste de comparação pareada-preferência) foi realizada no laboratório de Análise Sensorial do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, com 42 julgadores não treinados, incluindo alunos, professores e funcionários do Departamento. Enquanto a segunda etapa (análise do perfil dos consumidores, aceitabilidade global e intenção de compra) foi realizada durante uma Feira na Universidade Federal de Santa Catarina (VII Sepex - Semana de Ensino, Pesquisa e Extensão), com 141 julgadores não treinados, incluindo a comunidade universitária e local. As amostras de queijos foram servidas aos julgadores em pratos descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos.

2.4.1 Teste de preferência

O teste de comparação pareada-preferência foi realizado seguindo o delineamento experimental de blocos completos balanceados. Foram servidas amostras de queijo Minas Frescal probiótico com e sem ácido láctico, sendo solicitado aos julgadores que indicassem a amostra preferida (Apêndice B).

2.4.2 Análise do perfil dos consumidores

Antes dos testes de aceitabilidade global e intenção de compra foi avaliado o perfil dos consumidores através de um questionário (Apêndice C), auto preenchido, contendo questões semi-estruturadas. O questionário incluía questões relacionadas às características sócio-econômicas e hábitos de consumo.

2.4.3 Teste de aceitabilidade global e intenção de compra

Consumidores em potencial de queijo Minas Frescal (homens e mulheres, com idade mínima de 18 anos) que não apresentassem intolerância à lactose, foram recrutados. Uma escala hedônica de 5 pontos, ancorada nos extremos “1 – desgostei muitíssimo” e “5 – gostei muitíssimo” foi utilizada para a realização do teste de aceitabilidade global (Apêndice D). Estes consumidores também avaliaram a intenção de compra das mesmas amostras de queijo, utilizando uma escala de intenção de compra de cinco pontos (1 – certamente não compraria; 5 – certamente compraria) (Apêndice D). Nestes testes as amostras de queijos foram apresentadas monadicamente.

2.5 Análise Estatística

A análise dos dados foi feita no *software* STATISTICA versão 6.0 (STATSOFT INC., 2001). A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para encontrar diferenças entre as médias das análises físico-químicas, microbiológicas, de aceitabilidade global e de intenção de compra, sendo estas diferenças avaliadas através do teste de Tuckey (nível de significância de 5 %). O número de respostas que indicaram a amostra preferida no teste de comparação pareada-preferência foi analisado através da tabela estatística bilateral (nível de significância de 5 %), conforme Roessler et al. (1978). O

teste de contingência Qui-quadrado foi utilizado para determinar a independência e a dependência entre os dados sócio-econômicos e hábitos de consumo obtidos através do perfil dos consumidores.

3 Resultados e Discussão

3.1 Análises físico-química e microbiológica

Os queijos Minas Frescal adicionados de probióticos, não diferiram ($p > 0,05$) quanto aos teores de sólidos totais ($32,87 \pm 0,55$ %, queijo com ácido láctico, e $32,89 \pm 0,62$ %, queijo sem ácido láctico), e quanto à acidez ($0,109 \pm 0,01$ % ácido láctico, com ácido láctico, e $0,099 \pm 0,02$ % ácido láctico, sem ácido láctico). Os teores de sólidos totais estão de acordo com os obtidos por Carvalho, Viotto e Kuaye (2007), que relatam como adequados valores inferiores a 45,00 %, para queijos Minas Frescal. Buriti et al. (2005) e Buriti, Rocha e Saad (2005), verificaram valores similares para a acidez, em torno de 0,118 % e 0,128 % de ácido láctico, respectivamente, em queijos Minas Frescal probióticos. No entanto, o queijo com ácido láctico apresentou menor valor ($p < 0,05$) de pH ($6,72 \pm 0,01$) do que o sem ácido láctico ($6,87 \pm 0,01$). O mesmo comportamento foi verificado por Buriti et al. (2005), Buriti et al. (2007) e Souza e Saad (2009) em queijos Minas Frescal probióticos.

Os resultados da contagem de coliformes a 45 °C, *Estafilococos* coagulase positiva, *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*, nos queijos Minas Frescal probióticos, com e sem adição de ácido láctico, indicaram ausência destes microrganismos, garantindo a segurança microbiológica dos produtos avaliados. A realização destas análises é necessária, pois segundo Silva et al. (2003) queijos, como o Minas Frescal, que contêm altos teores de umidade e, conseqüentemente baixos teores de sólidos totais, são mais susceptíveis à contaminação microbiológica.

Os dois tipos de queijo Minas Frescal, com e sem ácido láctico apresentaram contagem de células viáveis probióticas igual a 7,74 log UFC/g. Kiliç et al. (2009) relatam que mudanças tecnológicas poderiam influenciar na contagem de bactérias probióticas, no entanto, não foram observadas variações nas contagens de bifidobactéria

($p > 0,05$), quando empregado o ácido láctico. A sobrevivência de bactérias probióticas em derivados lácteos, como queijos, foi verificada por De Vuyst (2000), Bergamini et al. (2005) e Kiliç et al. (2009), que afirmam que para um produto ser considerado probiótico deverá apresentar uma contagem mínima, ou seja, conforme Betoret et al. (2003) e Shah (2007) contagens maiores ou iguais a $6,00 \log \text{ UFC/g}$.

Os resultados obtidos quanto à contagem de probióticos, estão de acordo com o relatado por Ong, Henriksson, Shah (2006), que sugerem os queijos como um dos melhores meios de manutenção de bactérias probióticas. Gomes et al. (1995) afirmam que queijos contêm maior pH do que outros derivados lácteos fermentados, por isso são mais recomendados como veículo para bactérias probióticas. De acordo com Ong e Shah (2009) maiores valores de pH, como os obtidos nos queijos elaborados, bem como a sua capacidade tamponante seriam responsáveis por uma maior proteção aos microrganismos probióticos durante a passagem através do trato gastrointestinal. Ong e Shah (2009) afirmam que a adição de 5 g de queijos em 10 mL de suco gástrico aumentam o seu pH de 2,00 para 4,74, o que poderia garantir a sobrevivência da bifidobactéria também no trato gastrointesnal. No entanto, de acordo com Kalavrouzioti et al. (2005) queijos probióticos devem ser consumidos regularmente para manter os efeitos benéficos à saúde do consumidor, sendo recomendada uma ingestão mínima de 100 g por dia.

3.2 Análise sensorial

3.2.1 Preferência

No teste de comparação pareada-preferência o queijo com bifidobactéria e com ácido láctico apresentou 17 notas que o classificaram como o mais preferido, enquanto o queijo com bifidobactéria e sem ácido láctico foi selecionado por 25 consumidores. Apesar destes resultados, os dois tipos de queijo Minas Frescal com probióticos não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) com relação à preferência dos consumidores, revelando que o ácido láctico não influenciou neste dado sensorial. Deste modo, as duas formulações foram selecionadas para o teste de aceitabilidade global.

Resultados semelhantes foram encontrados por Buriti, Rocha e Saad (2005) em relação à preferência de queijos Minas Frescal fabricados com e sem adição de ácido láctico, diferenciados quanto à adição de bactéria probiótica (*Lactobacillus acidophilus*) e mesofílica (tipo O). Estes autores não observaram diferenças ($p > 0,05$) entre os tipos de queijo avaliados, concluindo que a adição de ácido láctico não alterou as suas propriedades sensoriais. Por outro lado, Furtado (2005) afirma que o emprego de ácido láctico poderia alterar as propriedades físicas de queijos Minas Frescal, em decorrência dos menores valores de pH apresentados, modificando também as propriedades sensoriais, o que não foi observado nos queijos com bifidobactéria, adicionados ou não de ácido láctico.

3.2.2 Perfil dos consumidores que avaliaram o queijo Minas Frescal

Os dados sócio-econômicos e hábitos de consumo de potenciais consumidores de queijo Minas Frescal com probióticos, com e sem ácido láctico, obtidos através dos questionários, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Os resultados mostraram que a maioria dos consumidores era do sexo feminino (62,4 %), com idade entre 18 e 27 anos (58,2 %), com ensino superior (59,6 %) e com renda familiar mensal que variava entre R\$ 2.075,00 e R\$ 4.150,00. O perfil dos consumidores apresentado está de acordo com o público-alvo comercial citado por Miquelim, Behrens e Lannes (2008), ou seja, indivíduos jovens, com alto nível econômico, potenciais compradores, que buscam produtos de qualidade.

Com relação aos hábitos de consumo, 28,4 % relataram uma frequência semanal de consumo de pelo menos 3 vezes, sendo que 95,7 % dos 141 indivíduos demonstraram intenção de consumir queijo Minas Frescal, capaz de melhorar o funcionamento do intestino. Entretanto, a maioria dos consumidores (51,1 %) também declarou já possuir o hábito de utilizar alimentos que melhoram o funcionamento do intestino, sendo que 60,3 % do total de consumidores consideraram a característica “benefício à saúde” como o fator mais importante na hora da compra de um alimento.

Tabela 1: Dados socio-econômicos de potenciais consumidores de queijo Minas Frescal probiótico.

Dados sócio-econômicos	<i>n</i>^a	%
Sexo		
Masculino	53	37,6
Feminino	88	62,4
Idade		
entre 18-27 anos	82	58,2
entre 28-37 anos	22	15,6
entre 38-47 anos	18	12,8
entre 48-57 anos	15	10,6
acima de 58 anos	4	2,8
Escolaridade		
ensino fundamental: 1 ^a a 4 ^a série	2	1,4
ensino fundamental: 5 ^a a 8 ^a série	2	1,4
ensino médio	16	11,3
ensino superior	84	59,6
pós-graduação	37	26,2
Renda familiar mensal		
até R\$ 415,00	7	5,0
de R\$ 415,00 a R\$ 830,00	14	9,9
de R\$ 830,00 a R\$ 2.075,00	33	23,4
de R\$ 2.075,00 a R\$ 4.150,00	40	28,4
de R\$ 4.150,00 a R\$ 8.300,00	37	26,2
acima de R\$ 8.300,00	10	7,1

n^a: número de consumidores = 141.

%, percentual do total de 141 consumidores.

Tabela 2: Hábitos de consumo de potenciais consumidores de queijo Minas Frescal probiótico.

Hábitos de consumo	<i>n</i> ^a	%
Frequência de consumo do queijo Minas Frescal		
diariamente	8	5,7
pelo menos 3x por semana	40	28,4
1x por semana	28	19,9
2x por mês	18	12,8
1x por mês	20	14,2
raramente consumo	27	19,1
Intenção de consumir queijo Minas Frescal com aditivos que melhoram o funcionamento do intestino		
sim	135	95,7
não	6	4,3
Consumo de alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino		
sim - leites fermentados probióticos (42) / outros (30)	72	51,1
não	69	48,9
Dados relevantes na hora de comprar um alimento		
benefício à saúde	85	60,3
preço	31	22,0
marca	10	7,1
aparência	15	10,6

n^a: número de consumidores = 141.

%, percentual do total de 141 consumidores.

Os resultados mostraram uma dependência ($p < 0,05$) dos gêneros (masculino/feminino) em relação ao hábito de consumir alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino. As mulheres apresentaram maior hábito de consumo deste tipo de alimento (58,9 %), sendo que a maioria (60,2 %) delas afirmou consumir leites fermentados probióticos, enquanto o restante declarou consumir principalmente

alimentos ricos em fibras. No entanto, houve independência ($p > 0,05$) entre os gêneros e a escolaridade, discordando dos resultados obtidos por Viana et al. (2008), que observaram dependência do nível escolaridade com o gênero. Estes autores relatam que o sexo feminino apresentou maior nível de escolaridade do que o masculino.

Assim como o verificado nos resultados relativos ao hábito de consumo, Hekmat e Reid (2006) afirmam existir uma tendência pela procura de produtos considerados saudáveis, denominados funcionais. Aliado a este perfil tem-se o interesse do gênero feminino, principal público alvo, em consumir queijo Minas Frescal funcional, visando a melhora do funcionamento do trato gastrintestinal. Segundo Verbeke (2005), as mulheres preocupam-se mais com os alimentos e os problemas de saúde do que os homens, que são mais confiantes e demonstram uma visão tradicional e pouco crítica sobre a alimentação. Dados referentes aos consumidores de alimentos funcionais dos Estados Unidos revelam que a maioria é do sexo feminino, com alta escolaridade, alta renda e com idade superior a 35 anos (IFIC, 2000; VERBEKE, 2005). Já Bech-Larsen e Grunert (2003) sugerem que os consumidores europeus são do sexo feminino e com idade acima de 55 anos, mas não necessariamente com alta escolaridade. Nos resultados obtidos para o perfil dos consumidores, observou-se uma dependência entre o sexo (feminino) e a faixa etária (entre 18 e 27 anos), demonstrando menor faixa etária do que as apresentadas pelas consumidoras americanas e européias, na escolha de um alimento funcional. Dean et al. (2007) ressaltam que o gênero e a idade são fatores importantes, porque influenciam na aceitabilidade de alimentos funcionais.

3.2.3 Aceitabilidade global e intenção de compra

Com relação à aceitabilidade global, as médias das notas verificadas \pm desvio padrão para os queijos com bifidobactéria adicionados ou não de ácido lático foram $4,42 \pm 0,59$ e $4,39 \pm 0,64$, respectivamente. A maioria dos consumidores classificou as amostras de queijo entre as notas 4 e 5 (Figura 1), que na escala hedônica representam “gostei” e “gostei muitíssimo”. A nota mínima recebida pelo queijo com ácido lático foi 3 (indiferente), aplicada por 7 consumidores, enquanto que para queijo sem ácido lático foi 2 (desgostei), aplicada por apenas 2 consumidores. Além disso, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os queijos, indicando que o ácido lático não interferiu na aceitabilidade

global. Através destes resultados, observa-se que a presença de bifidobactéria nos queijos Minas Frescal resultou em uma boa aceitabilidade do produto. Boylston et al. (2004) relatam que apesar das bifidobactérias produzirem ácido acético e ácido láctico, não demonstram extensiva atividade metabólica, gerando, conforme Gomes e Malcata (1999), menor pós-acidificação do produto. A similaridade ($p > 0,05$) observada para os valores da acidez dos queijos probióticos, com e sem ácido láctico, pode ter contribuído na boa aceitabilidade dos queijos elaborados. Jayamanne e Adams (2004) observaram que o emprego da bactéria probiótica *Bifidobacterium longum* na produção de um leite de búfala coagulado (*meekiri*), seria responsável pela melhora das propriedades sensoriais do produto. Cardarelli et al. (2007) em estudo com queijo *petit suisse* fabricado com as culturas probióticas contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis*, além de fibra, observaram boa aceitabilidade do produto. Souza et al. (2008a) avaliando a aceitabilidade de queijo Minas Frescal, fabricado com a adição de *Lactobacillus acidophilus* e ácido láctico, também obtiveram produtos aceitos sensorialmente.

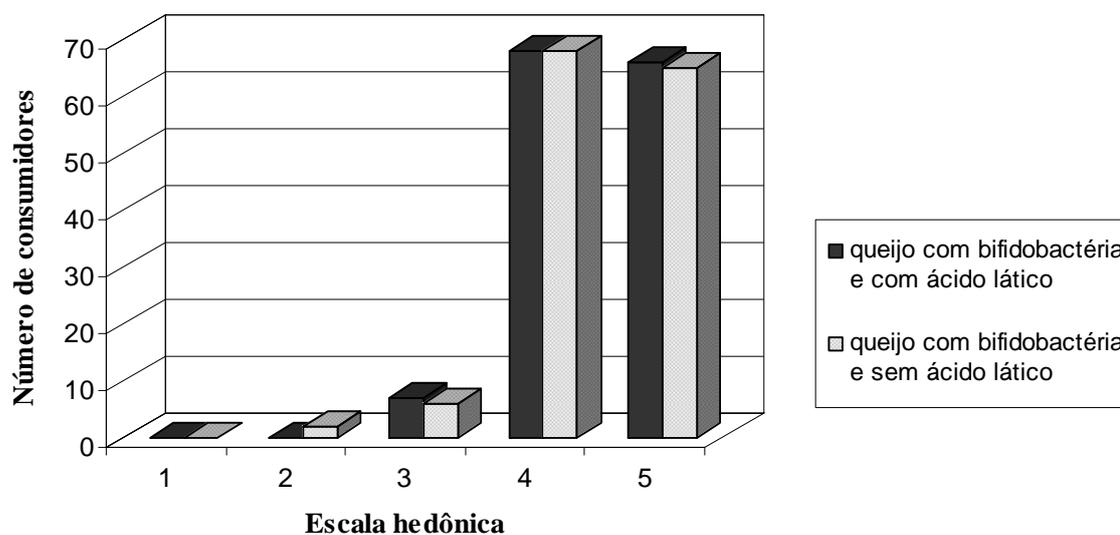


Figura 1: Frequência de notas da aceitabilidade global dos queijos com bifidobactéria e com ácido láctico e dos queijos com bifidobactéria e sem ácido láctico, de acordo com escala hedônica de cinco pontos “1 – Desgostei muitíssimo, 2- Desgostei, 3 – Indiferente, 4 – Gostei, 5 – Gostei muitíssimo”.

Quanto à intenção de compra, as notas médias \pm desvio padrão, apresentadas pelos consumidores dos queijos com bifidobactéria, adicionados ou não de ácido láctico, não apresentaram diferenças ($p > 0,05$) sendo iguais a $4,09 \pm 0,95$ e $4,06 \pm 0,89$, respectivamente. Na Figura 2 observa-se que a intenção de compra dos consumidores manteve-se principalmente entre as notas 4 e 5 da escala, ou seja, entre “provavelmente compraria” e “certamente compraria”, confirmando os resultados obtidos para a aceitabilidade global.

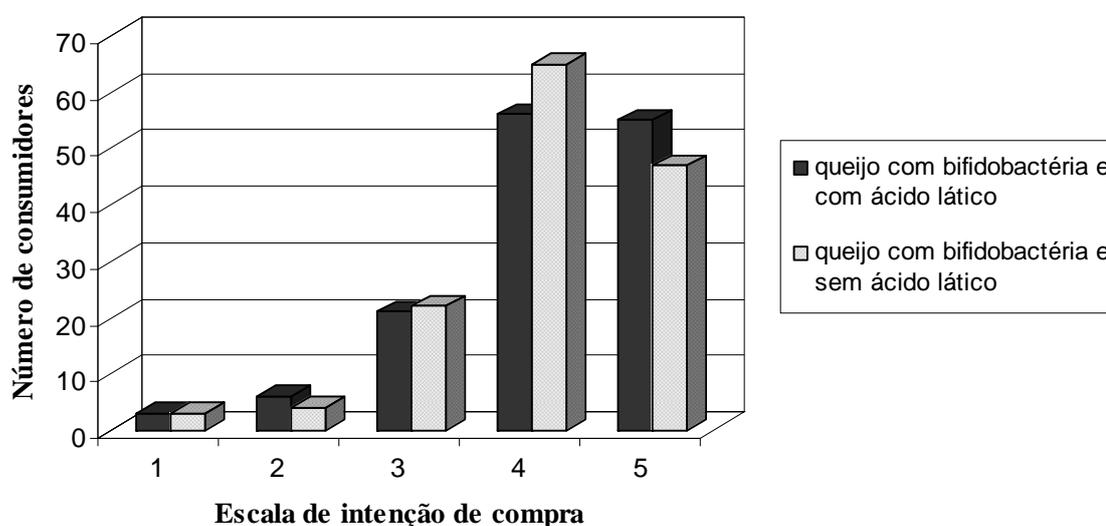


Figura 2: Frequência de notas de intenção de compra dos queijos com bifidobactéria e com ácido láctico e dos queijos com bifidobactéria e sem ácido láctico, de acordo com escala de cinco pontos “1 – Certamente não compraria, 2- Provavelmente não compraria, 3 – Talvez compraria/ talvez não compraria, 4 – Provavelmente compraria, 5 – Certamente compraria”.

Bhaskaran e Hardley (2002) e Gray, Armstrong e Farley (2003) citam que os alimentos funcionais devem responder às necessidades dos consumidores quanto a fatores como benefício à saúde, sabor e qualidade, que são determinantes para a intenção de compra destes alimentos.

4 Conclusão

Os queijos Minas Frescal, classificados como probióticos, com e sem ácido láctico, não apresentaram diferenças quanto aos teores de sólidos totais e quanto à acidez. No entanto, os queijos com ácido láctico apresentaram menores valores de pH. A adição de ácido láctico também não interferiu na preferência dos queijos. Os consumidores que avaliaram este produto apresentaram como perfil o gênero feminino, com idade entre 18 e 27 anos e que já possuem o hábito de consumir alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino. A maioria dos consumidores classificou os queijos como de boa aceitabilidade, sendo que comprariam estes produtos probióticos.

Referências Bibliográficas

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Compendium of methods of the microbiological examination of foods**. 4th. Edition. Washington D.C., 2001, 676p.

ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; GÁMBARO, A. Understanding consumers' perception of conventional and functional yogurts using word association and hard laddering. **Food Quality and Preference**, v.19, p.636–643, 2008.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the association analytical chemists**. 18th. Edition. Maryland, USA, 2005.

BECH-LARSEN, T.; GRUNERT, K. The perceived healthiness of functional foods: a conjoint study of Danish, Finnish, and American consumers' perception of functional foods. **Appetite**, v.40, p.9–14, 2003.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; QUIBERONI, A.; SUÁREZ, V. B.; ZALAZAR, C. A. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**, v.38, p.597–604, 2005.

BETORET, N.; PUENTE, L.; DÍAZ, M. J.; PAGÁN, M. J.; GARCÍA, M. J.; GRAS, M. L.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J.; FITO, P. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p.273–277, 2003.

BHASKARAN, S.; HARDLEY, F. Buyers beliefs, attitudes and behaviour: foods with therapeutic claims. **Journal of Consumer Marketing**, v.19, p.591–606, 2002.

- BOLENZ, S.; THIESSENHUSEN, T.; SCHÄPE, R. Influence of milk components on properties and consumer acceptance of milk chocolate. **European Food Research Technology**, v.216, p.28–33, 2003.
- BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C.G.; GHODDUSI, H.B.; REINHEIMER, J.A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v.14, p.375-387, 2004.
- 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**, v.38(2), p.173–180, 2005.
- 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(12), p.1279–1288, 2005.
- BURITI, F. C. A.; OKAZAKI, T. Y.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Effect of a probiotic mixed culture on texture profile and sensory performance of Minas fresh cheese in comparison with the traditional. **Arquivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.57, p.179-185, 2007.
- CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic *petit-suisse* cheese. **LWT—Food Science and Technology**, v. 41, p.1037–1046, 2007.
- CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v.18, p.262–267, 2007.
- CUNHA, C. R., VIOTTO, W. H.; VIOTTO, L. A. Use of low concentration factor ultrafiltration retentates in reduced fat “ Minas Frescal” cheese manufacture: Effect on composition, proteolysis, viscoelastic properties and sensory acceptance. **International Dairy Journal**, v.16, p.215-224, 2006.
- DE VUYST, L. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. **Food Technology and Biotechnology**, v.38, p.105–112, 2000.
- DEAN, M.; SHEPHERD, R.; ARVOLA, A.; VASSALLO, M.; WINKELMANN, M.; CLAUPEIN, E.; LÄHTEENMÄKI, L.; RAATS, M. M.; SABA, A. Consumer perceptions of healthy cereal products and production methods. **Journal of Cereal Science**, v.46, p.188–196, 2007.
- FAO/WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**: Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf. Acesso em 16 novembro de 2008.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**, 2º. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 200 p. 2005.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X.; KLAVER, F. A. M.; GRANDE, H. J. Incorporation of *Bifidobacterium* sp. Strain Bo and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a cheese product. **Netherlands Milk and Dairy Journal**, v.49, p.71-95, 1995.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v.10, n.4/5, p.139-157, 1999.

GRAY, J.; ARMSTRONG, G.; FARLEY, H. Opportunities and constrains in the functional food market. **Nutrition & Food Science**, v.33, p.213–218, 2003.

HALSTED, C. H. Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.1001-1007, 2003.

HARIOM; SHYAMALA, B. N.; PRAKASH, M.; BHAT, K. K. Vanilla flavor evaluation by sensory and electronic nose techniques. **Journal of Sensory Studies**, v.21, p.228–239, 2006.

HEENAN, C. N.; ADAMS, M. C.; HOSKEN, R. W.; FLEET, G. H. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. **LWT – Food Science and Technology**, v.37, p.461–466, 2004.

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

IFIC. **Functional foods attitudinal research August 2000: Quantitative and qualitative summary**. 2000. Washington: IFIC, International Food Information Council Foundation.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ- IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos (4 ed.)**, São Paulo, Brasil, 2005.

JAYAMANNE, V. S.; ADAMS, M. R. Survival f probiotic bifidobactéria in buffalo curd and their effect on sensory properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.719-725, 2004.

KALAVROUZIOTI, I.; HATZIKAMARI, M.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; TZANETAKIS, N. Production of hard cheese from caprine milk by the use of two types of probiotic cultures as adjuncts. **International Journal of Dairy Technology**, v.58, p.30-38, 2005.

KILIÇ, G. B.; KULEASAN, H.; ERALP, I.; KARAHAN, A. G. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. **LWT - Food Science and Technology**, v.42, p.1003–1008, 2009.

LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. **Food Research International**, v.37, p.805–814, 2004.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v.12, p.173-182, 2002.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2007.

MENRAD, K. Market and marketing of functional food in Europe. **Journal of Food Engineering**, v.56, p.181–188, 2003.

MIQUELIM, J.N.; BEHRENS, J. H.; LANNES, S. C. S. Analysis of Brazilian consumer preference of filled chocolate. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28(2), p.493-497, 2008.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium* sp. **International Dairy Journal**, v.17, p.937–945, 2007.

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** (2009), doi:10.1016/j.lwt.2009.01.011.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v.13, p.3-11, 2002.

ROESSLER, E. B.; PANGBORM, R. M.; SIDEL, J. L.; STONE, H. Expanded statistical tables for estimating significance in paired-preference, paired-difference, duo-trio and triangle tests. **Journal of Food Science**, v. 43, p.940-943, 1978.

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

SILVA, I. M. M.; ALMEIDA, R. C. C.; ALVES, M. A. O.; ALMEIDA, P. F. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, v.81, p.241–248, 2003.

SOUZA, C. H. B. **Influência de uma cultura starter termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas frescal probiótico**. 2006. 110p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, USP, São Paulo.

SOUZA, C. H. B.; BURITI, F. C. A.; BEHRENS, J. H.; SAAD, S. M. I. Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.871–877, 2008a.

SOUZA, T. B.; CRUZ, A. G.; MOURA, M. R. L.; VIEIRA, A. C. M.; SANT'ANA, A. S. Microscopic quality indicators of minas frescal cheese. **Food Control**, v.19, p.71-75, 2008b.

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**, v.42, p.633-640, 2009.

THOMPSON, J. L.; DRAKE, M. A.; LOPETCHARAT, K.; YATES, M. D. Preference mapping of commercial chocolate milks. **Journal of Food Science**, v.69(9), p.406-413, 2004.

VERBEKE, W. Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. **Food Quality and Preference**, v.16, p.45-57, 2005.

VIANA, J. V.; CRUZ, A. G.; ZOELLNER, S. S.; SILVA, R.; BATISTA, A. L. D. Probiotic foods: consumer perception and attitudes. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1577-1580, 2008.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v.10, p.271-275, 2000.

WESTAD, F.; HERSLETH, M.; LEA, P. Strategies for consumer segmentation with applications on preference data. **Food Quality and Preference**, v. 15, p. 681-687, 2004.

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**, v.8, p.473-479, 1998.

Conclusões

- Os queijos Minas Frescal adicionados da bifidobactéria foram considerados probióticos, pois apresentaram contagem de células viáveis superior a 6 log UFC/g durante os 28 dias de armazenamento.
- A adição de ácido lático e/ou bifidobactéria não interferiu no rendimento, no teor protéico e lipídico dos queijos.
- No dia 28 de armazenamento, os queijos sem ácido lático apresentaram menor umidade, influenciando no comportamento reológico e microestrutural, tornando-os mais elásticos, firmes e compactos.
- Todos os queijos avaliados demonstraram um comportamento viscoelástico com maior contribuição da componente viscosa.
- Após 28 dias de armazenamento, em todos os queijos verificou-se um escurecimento e diminuição da cor amarela, enquanto os queijos com bifidobactéria apresentaram uma estável tonalidade esverdeada.
- A adição de ácido lático não interferiu na preferência sensorial, sendo que os queijos probióticos apresentaram boa aceitabilidade e intenção de compra. Os dados obtidos no questionário demonstraram que as mulheres, com idade entre 18 e 27 anos, são o principal público alvo dos queijos Minas Frescal probióticos avaliados, principalmente pelo fato de possuírem o hábito de consumir alimentos que ajudam a melhorar o funcionamento do intestino.
- Por isso, a utilização de *Bifidobacterium* Bb-12 em queijo Minas Frescal torna-se uma promissora alternativa de alimento funcional.

Anexos

Anexo A – Trabalhos parciais apresentados em eventos.



Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais

Certificado

Certificamos que Luísa Marina Biazotto participou como apresentadora do trabalho intitulado "Avaliação das Propriedades de Queijos Minas Frescal Adicionados de Probióticos Durante o Armazenamento" e demais autores: Freire, C. B. F., Sant'Anna, E. J. e Prudêncio, E. J., no I Simpósio Internacional de Alimentos Funcionais promovido pela Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais nos dias 04 e 05 de junho de 2008 no Expo Center Norte, São Paulo - SP.

São Paulo, Junho de 2008.

Dra. Focelma Mastrodi Salgado
Prof. Titular ESALQ/USP
Presidente da Sociedade Brasileira de Alimentos Funcionais - SBAF



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico
**VIABILIDADE DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 EM QUEIJO MINAS FRESCAL
DURANTE O ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO,**
de autoria de C.B. Fritzen-Freire; F.P. Castro; J.G. Lorenz; E.S. Sant'Anna; E.S. Prudêncio, foi apresentado no
I SIMPÓSIO INTERNACIONAL: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS EM PRODUTOS LÁCTEOS
promovido pelo Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios e
realizado no Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Campinas, São Paulo,
nos dias 25 e 26 de agosto de 2008.

Campinas, 26 de agosto de 2008

Alciane Aparecida Torres Assunção
Coordenação Técnica


Diretor Geral do ITAL

ITAL
INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SGQ Certificado
ISO 9001



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico
**EFEITO DA ADIÇÃO DE BIFIDOBACTERIUM BB-12 SOBRE O PERFIL DE
TEXTURA INSTRUMENTAL DE QUEIJO MINAS FRESCAL,**
de autoria de C. B. Fritzen-Freire; C. M. O. Müller; J. B. Laurindo; E. S. Prudêncio, foi apresentado no
I SIMPÓSIO INTERNACIONAL: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS EM PRODUTOS LACTEOS
promovido pelo Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios e
realizado no Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Campinas, São Paulo,
nos dias 25 e 26 de agosto de 2008.

Campinas, 26 de agosto de 2008

Alleviana Adriana Torres Assunção
Coordenação Técnica

[Assinatura]
Diretor Geral do ITAL



SGQ Certificado
ISO 9001²⁰⁰⁰



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico
**AVALIAÇÃO DA COR OBJETIVA EM QUEIJO MINAS FRESCAL ADICIONADO
DE PROBIÓTICOS DURANTE O ARMAZENAMENTO,**
de autoria de C. B. Fritzen-Freire; L. M. Zanotta; R. D. M. C. Amboni; E. S. Prudêncio, foi apresentado no
I SIMPÓSIO INTERNACIONAL: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS EM PRODUTOS LACTEOS
promovido pelo Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios e
realizado no Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Campinas, São Paulo,
nos dias 25 e 26 de agosto de 2008.

Campinas, 26 de agosto de 2008

Elisvânia Adriana Tomaz Schuster
Coordenação Técnica

Diretor Geral do ITAL



SGQ Certificado
ISO 9001



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico
**COMPARAÇÃO DAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DE QUEIJOS
MINAS Frescal com ou sem Probióticos,**
de autoria de C. B. Fritzen-Freire; F. P. Castro; J. G. Lorenz; L. M. Zanotta;
J. Debon; E. S. Prudêncio, foi apresentado no
I SIMPÓSIO INTERNACIONAL: PREBIÓTICOS E PROBIÓTICOS EM PRODUTOS LÁCTEOS
promovido pelo Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios e
realizado no Instituto de Tecnologia de Alimentos, em Campinas, São Paulo,
nos dias 25 e 26 de agosto de 2008.

Campinas, 26 de agosto de 2008

Flora dos Anjos
Coordenação Técnica

[Assinatura]
Diretor Geral do ITAL



SGQ Certificado
ISO 9001²⁰⁰⁸

XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos



XV Seminário Latino Americano e do Caribe
de Ciência e Tecnologia de Alimentos

ara.jpg.br

Certificado

CARLISE BEDDIN FRITZEN-FREIRE

Participou do XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizados no período de 06 a 09 de outubro de 2008, em Belo Horizonte, Minas Gerais apresentando o trabalho "AVALIAÇÃO DE CÉLULAS VIÁVEIS PROBIÓTICAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE QUEIJO MINAS FRESCAL" na seção PÔSTER, de autoria de " CARLISE BEDDIN FRITZEN-FREIRE, MAIARA ALANO SPILLERE, JULIANA GOULART LORENZ, FABIANE PICININ DE CASTRO, ERNANI SEBASTIÃO SANT'ANNA, ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO".

José Benício Chaves
Presidente da Comissão Organizadora

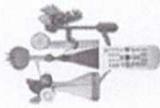
PROMOÇÃO



ORGANIZAÇÃO



XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos



XV Seminário Latino Americano e do Caribe
de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Certificado

Carlise Beddin Fritzen-Freire

Participou do XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizados no período de 06 a 09 de outubro de 2008, em Belo Horizonte, Minas Gerais apresentando na seção **POSTER** o trabalho **INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÁCIDO LÁCTICO SOBRE A PREFERÊNCIA E A COR OBJETIVA DE QUEIJOS MINAS FRESCAL PROBIÓTICOS**, de autoria de Carlise Beddin Fritzen-Freire, Malara Alano Spillere, Aureanna Negrão, Renata Dias de Mello Castanho Amboni, Ernani Sebastião Sant'Anna, Elaine Schwinden Prudêncio.

José Benício Chaves
Presidente da Comissão Organizadora

PROMOCÃO



ORGANIZAÇÃO



C o n g r e s o

XIV

Latinoamericano y del Caribe
de Nutricionistas y Dietistas

Compromiso Globalizado del Nutricionista Latinoamericano

CERTIFICADO

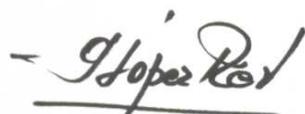
El Colegio de Nutricionistas Universitarios de Chile A. G.
certifica que:

**Tramonte KC., Fritzen-Freire CB., Bergamini D., Castro FP.,
Prudêncio ES.**

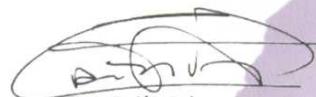
ha participado en calidad de autor del Trabajo Científico

**Evaluación de las propiedades físico-químicas del queso Minas
Frescal con probióticos durante el almacenamiento.**

Viña del Mar, Chile, 15-18 de Octubre 2008



Nut. Delfina López R.
Presidenta Comité Científico



Dr. Erik Díaz B.
Presidente Nacional

CO4



C o n g r e s o

XIVLatinoamericano y del Caribe
de Nutricionistas y Dietistas

Compromiso Globalizado del Nutricionista Latinoamericano

CERTIFICADO

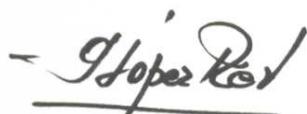
El Colegio de Nutricionistas Universitarios de Chile A. G.
certifica que:

Tramonte KC., Fritzen-Freire CB., Lorenz JG., Prudêncio ES.

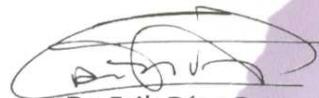
ha participado en calidad de autor del Trabajo Científico

**Influencia de la adición de ácido láctico sobre la contagem de células
viables probióticas en quesos Minas Frescal.**

Viña del Mar, Chile, 15-18 de Octubre 2008



Nut. Delfina López R.
Presidenta Comité Científico



Dr. Erik Díaz B.
Presidente Nacional

CO6



Anexo B – Submissão do artigo “**The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese**” para publicação no “**Journal of Food Engineering** ” (ISSN: 0260-8774).

 Caixa de Entrada
  Nova mensagem
  Pastas
  Pesquisar
  Abrir Pasta
  Caixa de Entrada

 Trazer Mensagens
  Horde
  Catálogo de Endereços
  Opções
  Problema

 Ajuda
  Desconectar

Caixa de Entrada: Submission Confirmation (538 de 539)



Marcar como:  Mover |  Copiar Esta mensagem para  Retornar para Caixa de Entrada  

Excluir | Responder | Encaminhar | Redirecionar | Ver Discussão | Lista Negra | Lista Branca | Código Fonte da Mensagem | Salvar como | Imprimir | Reportar como Spam

Data: 17 Apr 2009 16:31:50 +0100 [12:31:50 BRT]

De: Journal of Food Engineering <esubmissionsupport@elsevier.com>

Para: elane@cca.ufsc.br

Assunto: Submission Confirmation

Cabeçalhos: Exibir Todos os Cabeçalhos

Dear Dr Elane Prudêncio,

Your submission entitled "The influence of Bifidobacterium Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese" has been received by Journal of Food Engineering

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/jfoodeng/>.

Your username is:

Your password is:

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Journal of Food Engineering

Excluir | Responder | Encaminhar | Redirecionar | Ver Discussão | Lista Negra | Lista Branca | Código Fonte da Mensagem | Salvar como | Imprimir | Reportar como Spam

Marcar como:  Mover |  Copiar Esta mensagem para  Retornar para Caixa de Entrada  

Anexo C – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC.



**UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA**

**Pró-Reitoria de Pesquisa e Extensão
Departamento de Projetos e Extensão
Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos**

Campus Prof. João David Ferreira Lima – CEP 88040-900
Trindade - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil | www.cep.ufsc.br / +55 (48) 3721-9206

PARECER CONSUBSTANCIADO - PROJETO Nº 059/2008

I – Identificação:

Data de entrada no CEP: 11/04/08

Título do Projeto: **Efeito da Adição de *Bifidobacterium* Bb-12 Sobre As Características de Queijo Tipo Minas Frescal Elaborado por Diferentes Processos Tecnológicos**

Pesquisador Responsável: Elane Schwinden Prudêncio

Pesquisador Principal: Carlise Beddin Fritzen Freire

Propósito: Projeto de dissertação do programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos (CCA-UFSC).

Instituição onde se realizará: Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos, CCA – UFSC.

Verificar a utilização de *Bifidobacterium* Bb-12 como cultura probiótica em queijo tipo Minas Frescal, através do acompanhamento da viabilidade do microrganismo ao longo do seu período de armazenamento; além de avaliar as características físicas, químicas, sensoriais e reológicas do produto elaborado por diferentes processos tecnológicos.

II- Objetivos: Geral: Verificar a utilização de *Bifidobacterium* Bb-12 como cultura probiótica em queijo tipo Minas Frescal, através do acompanhamento da viabilidade do microrganismo ao longo do seu período de armazenamento; além de avaliar as características físicas, químicas, sensoriais e reológicas do produto elaborado por diferentes processos tecnológicos.

Específicos:

- (a) elaborar formulações de queijo tipo Minas Frescal, com e sem adições de *Bifidobacterium* Bb-12 e/ou ácido láctico;
- (b) avaliar os queijos, no tempo inicial, quanto ao rendimento, à microbiologia, às características físico-químicas, à proteólise, à reologia, ao índice de sinerese, à cor e à análise microestrutural;
- (c) avaliar os queijos adicionados de cultura probiótica, no tempo inicial, quanto às análises sensoriais (somente após comprovação da segurança alimentar dos queijos);
- (d) determinar os parâmetros contagem de células viáveis, pH, acidez e índice de sinerese dos queijos contendo bifidobactéria, após 14 e 28 dias de armazenamento; e
- (e) submeter os queijos contendo bifidobactéria e que apresentarem maior viabilidade em 14 e/ou 28 dias de armazenamento às análises físico-químicas, de proteólise, reológica, de cor e microestrutural.

III- Sumário do Projeto: Serão elaborados 4 tipos de queijo do tipo minas, cada um deles elaborado de diferentes maneiras. Cada tipo de queijo contendo *Bifidobacterium* Bb-12, será submetidos à análise sensorial, sendo avaliado quanto ao teste de ordenação de preferência, utilizando-se um grupo de no mínimo 30 julgadores não treinados para o teste de ordenação de preferência e de no mínimo 50 julgadores não treinados para os testes de aceitabilidade global e intenção de compra. O critério de inclusão para o recrutamento do grupo alvo para os testes sensoriais de ordenação preferência e aceitabilidade global foi definido como: pessoas com idade superior a 18 anos e com o hábito de consumir queijo do tipo Minas Fresca!. Após o teste de aceitabilidade global! E intenção de compra, os consumidores serão convidados a responder um questionário, com questões em relação às características socioeconômicas e frequência de consumo do queijo tipo Minas Frescal e alimentos probióticos, a fim de estabelecer correlações com os resultados dos testes sensoriais.

IV- Comentários: Trata-se de um estudo bem elaborado e bem definido, Tem relevância social e acadêmica e tem o pesquisador responsável com a qualificação apropriada. A documentação exigida está presente e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) está adequadamente elaborado.

V- Parecer:

Aprovado "ad referendum" (x)



Washington Portela de Souza
Coordenador do CEP SH - UFSC

Data da Reunião :
Florianópolis, 28 de julho de 2008

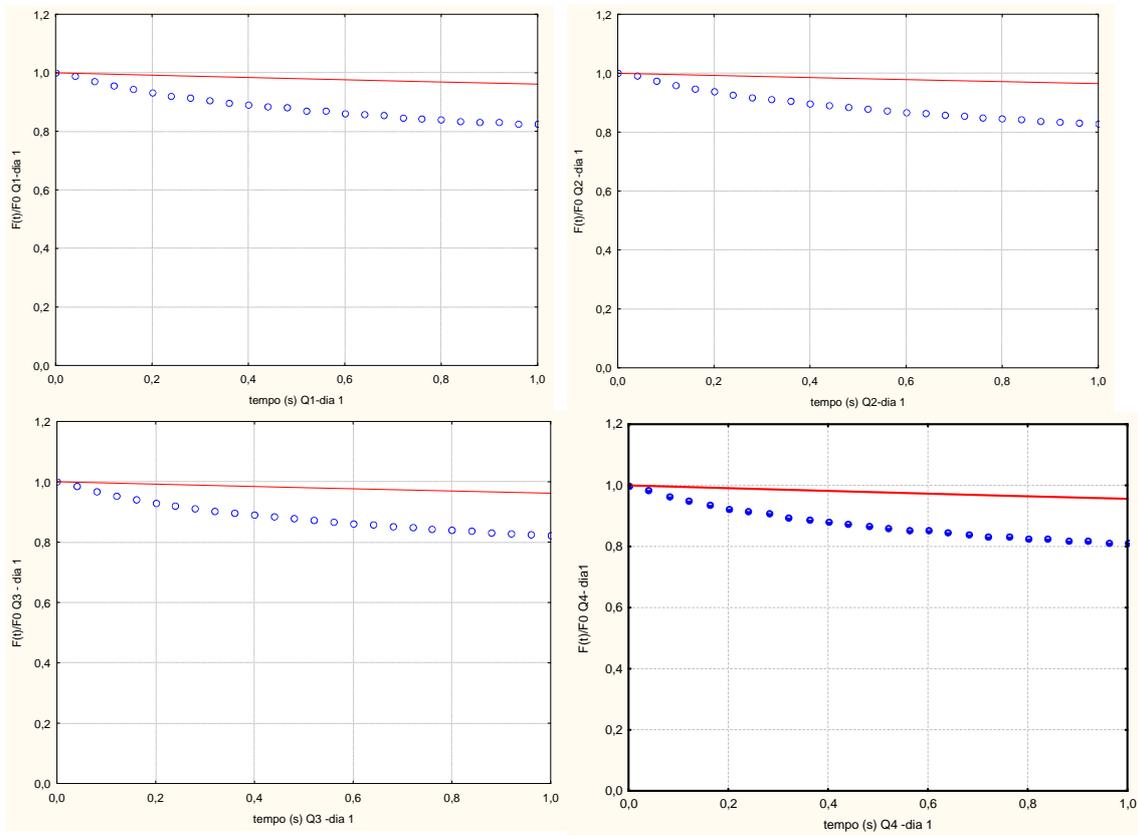
Fonte: CONEP/ANVS - Resoluções 196/ 96 e 251/ 97 do CNS.

Apêndices

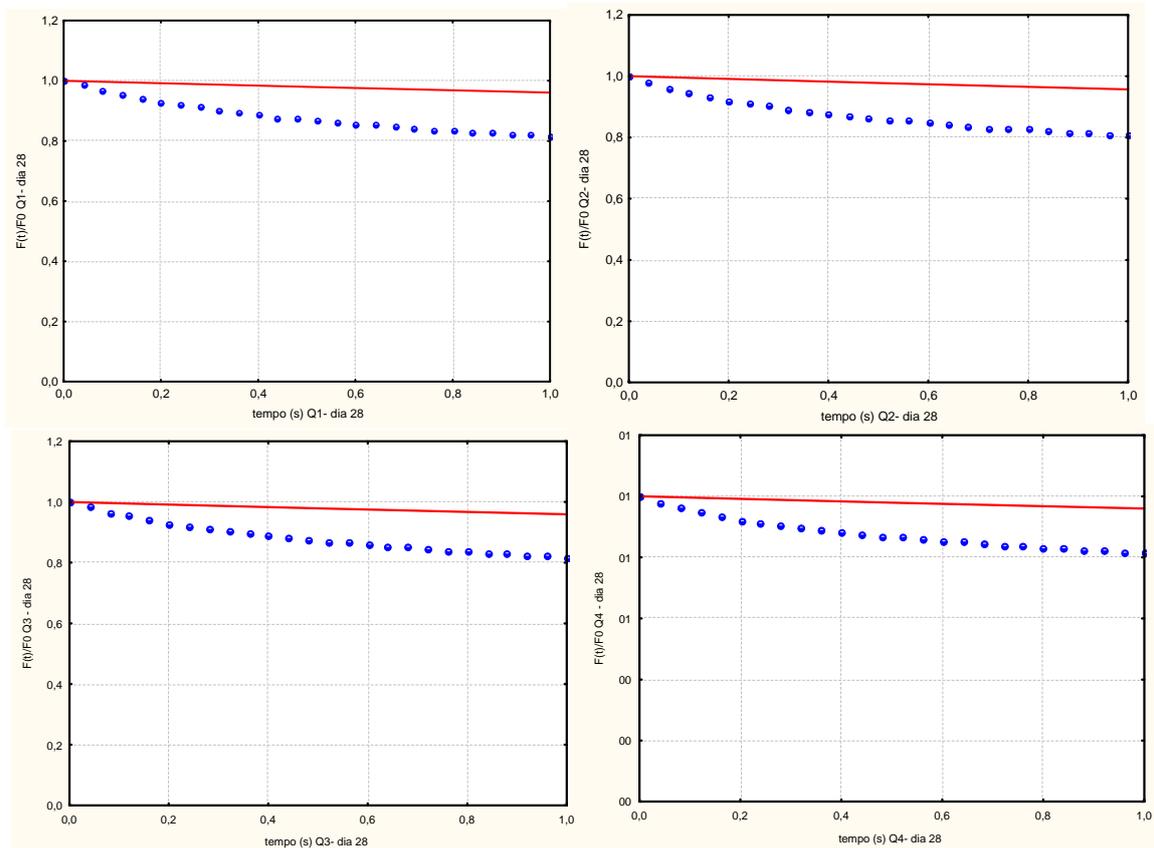
Apêndice A - Curvas de Relaxação: ajuste dos dados experimentais para a taxa inicial de decaimento da força (c_1/c_2)

Curvas de relaxação dos queijos Q1, Q2, Q3 e Q4, utilizando todos os dados experimentais, para os dias 1 (a) 28 (b) de armazenamento (sem ajuste dos dados).

(a)

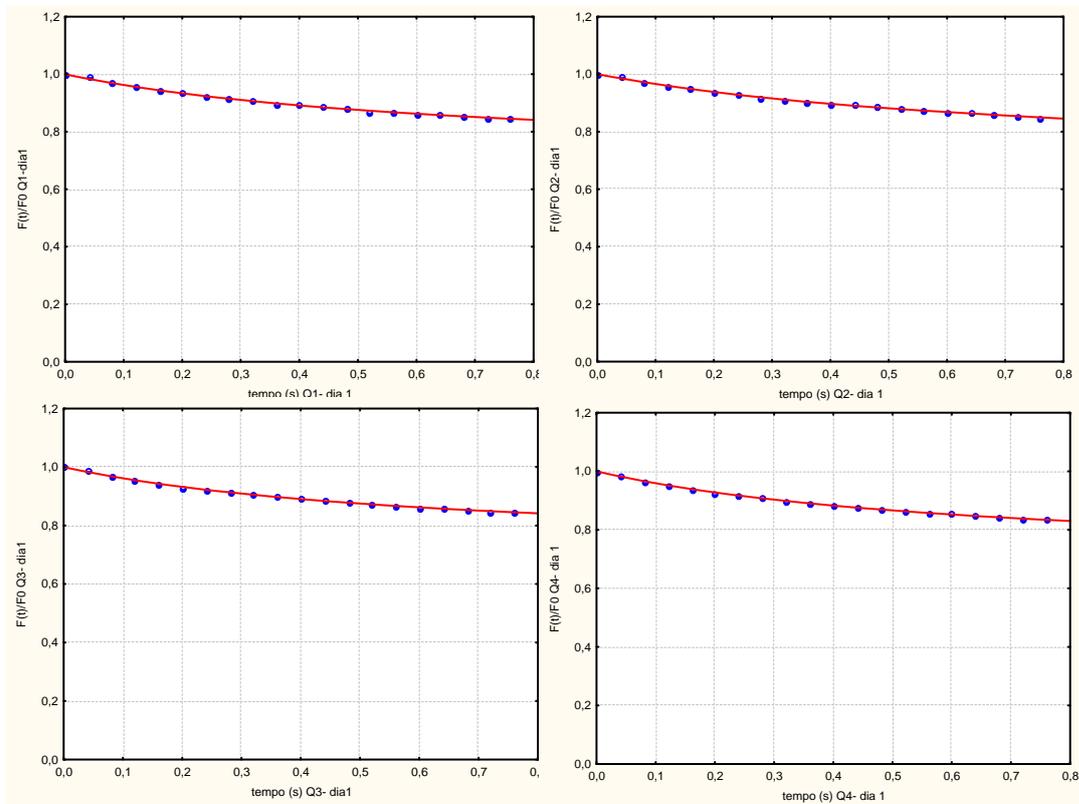


(b)

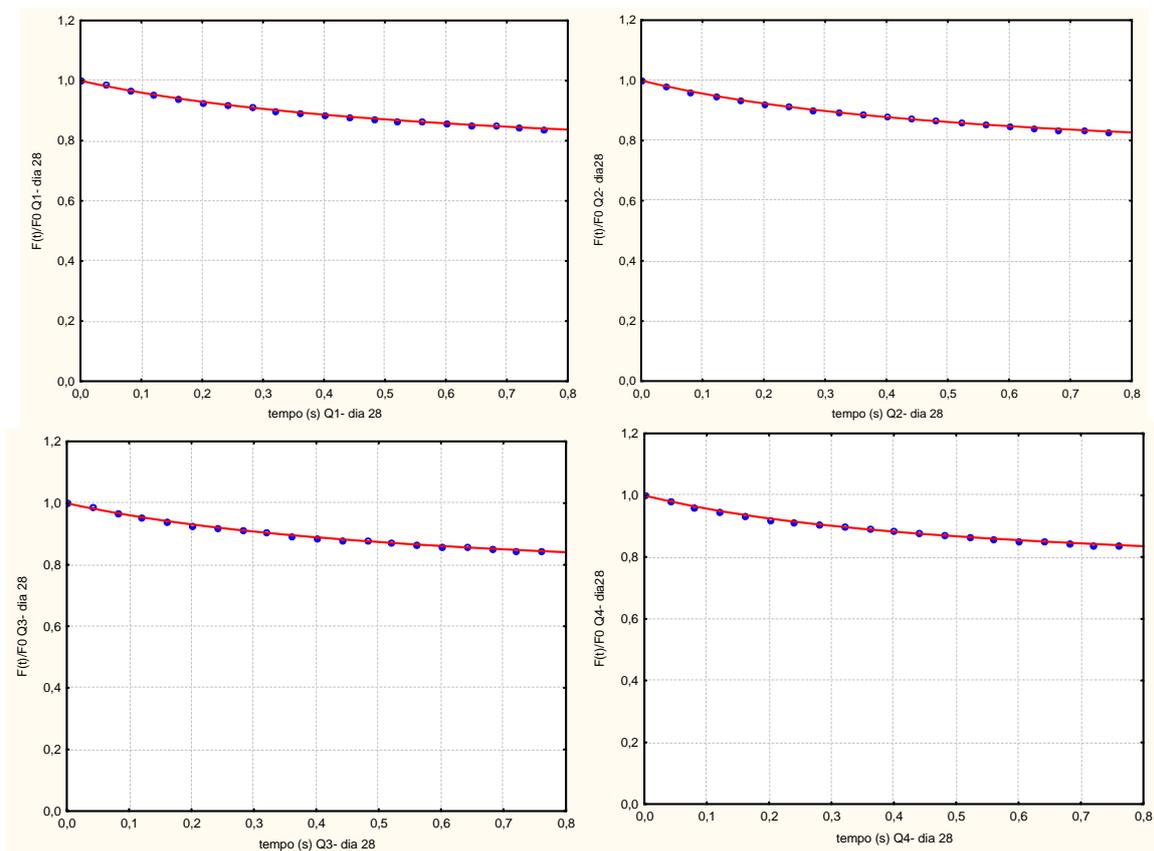


Curvas de relaxação dos queijos Q1, Q2, Q3 e Q4, utilizando os 20 primeiros dados experimentais, para os dias 1 (a) 28 (b) de armazenamento (com ajuste dos dados).

(a)



(b)



Apêndice B – Ficha para avaliação sensorial do teste de comparação pareada –
preferência.

TESTE DE COMPARAÇÃO PAREADA- PREFERÊNCIA

Nome:

Data:

Instruções: Avalie as amostras codificadas da esquerda para a direita e coloque-as em ordem decrescente de preferência.

Código da amostra:

- _____ 1. Amostra mais preferida
_____ 2. Amostra menos preferida

Comentários:

Obrigada!

Apêndice C – Questionário para avaliação do perfil dos consumidores de queijo Minas Frescal com probióticos.

QUESTIONÁRIO

1- Você consome queijo Minas Frescal com que frequência?

- todos os dias pelo menos 3x por semana 1x por semana
 2x por mês 1x por mês raramente consumo

2- Você consumiria um queijo Minas Frescal que tivesse ingredientes capazes de melhorar o funcionamento do intestino?

- Sim Não

3- Você consome algum alimento que ajuda a melhorar o funcionamento do intestino?

- Sim Não Se a resposta foi sim, qual?
 Leites fermentados probióticos Outros-citar _____

4- O quê você leva mais em consideração na compra de um alimento?

- benefício à saúde preço marca aparência

5- Sexo:

- Feminino Masculino

6- Idade:

- entre 18 – 27 anos entre 28 – 37 anos entre 38 – 47 anos
 entre 48 – 57 anos acima de 58 anos

7- Escolaridade:

- ensino fundamental: 1ª a 4ª série ensino fundamental: 5ª a 8ª série
 ensino médio ensino superior pós-graduação

8- Renda familiar mensal: sm= salário mínimo = R\$ 415,00.

- Até 1 sm De 1 a 2 sm De 2 a 5 sm
 De 5 a 10 sm De 10 a 20 sm Mais de 20 sm

Apêndice D – Ficha para avaliação sensorial dos testes de aceitabilidade global e intenção de compra.

TESTE DE ACEITABILIDADE – ESCALA HEDÔNICA

Nome:

Data:

Instruções:

- Represente o quanto gostou ou desgostou da amostra, de acordo com a seguinte escala:

1- Desgostei muitíssimo

2- Desgostei

3- Indiferente

4- Gostei

5- Gostei muitíssimo

Código da amostra: _____

Valor atribuído: _____

Comentários:

TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA

Se você encontrasse esse produto no mercado você:

(1) certamente não compraria

(2) provavelmente não compraria

(3) talvez compraria/talvez não compraria

(4) provavelmente compraria

(5) certamente compraria

Comentários:

Obrigada!