



**Universidade Norte do Paraná**

---

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE

MARILSA SUEMY SAKAMOTO SANTINI

**VIABILIDADE DE *L. PARACASEI* EM QUEIJO  
CREMOSO SABOR TOMATE SECO**

---

Londrina  
2008

MARILSA SUEMY SAKAMOTO SANTINI

**VIABILIDADE DE *L. PARACASEI* EM QUEIJO  
CREMOSO SABOR TOMATE SECO**

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do grau de Mestre em  
Ciência e Tecnologia do Leite

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup> Lina Casale Aragon Alegro

LONDRINA  
2008

MARILSA SUEMY SAKAMOTO SANTINI

**VIABILIDADE DE *L. PARACASEI* EM QUEIJO  
CREMOSO SABOR TOMATE SECO**

Dissertação aprovada em 15 de dezembro de 2008, pela banca examinadora constituída pelos professores:

---

**Profa. Dra. Lina Casale Aragon Alegro**  
**Universidade Norte do Paraná**

---

**Profa. Dra. Kátia Sivieri**  
**Universidade Norte do Paraná**

---

**Profa. Dra. Mayka Reghiany Pedrão**  
**Universidade Federal Tecnológica**

Sobretudo à Deus, que me deu forças sobre-humanas em todos os momentos difíceis da minha vida. Deu-me como berço a família Okada Sakamoto, a qual devo tudo que sou e presenteou-me com a melhor pessoa do mundo, meu amado marido Wilson Miguel Santini, a quem devo os melhores momentos da minha vida e os meus maiores bens, meus filhos Willian e Camila. Marido e filhos amados, esta conquista também dedico à vocês, que sempre estiveram ao meu lado, compartilhando minhas alegrias e tristezas, mas acima de tudo me ajudando a vencer. Venci, sem dúvida, mais uma etapa da minha vida..

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Lina Casale Aragon Alegro, pelo incentivo e acima de tudo por partilhar seus conhecimentos, sua orientação me fez desenvolver este trabalho com segurança e tranquilidade;

Ao técnico de laboratório Jorge “Macgyver” Donato, mais do que um colaborador competente, um precioso amigo;

À Profa. Dra. Christiane Maciel Vasconcellos Barros de Rensis, pelo apoio e incentivo dados para a execução deste trabalho;

À nutricionista, ex-aluna e querida amiga Evelyn Caroline Koga, que dedicou momentos preciosos para ajudar e ensinar-me;

À técnica de laboratório Elaine Trevisoto e à funcionária Joelma Araújo Trindade Delfino, pelo apoio e presteza;

Ao estatístico Ms Davi Casale Aragon pela preciosa colaboração na análise estatística dos dados do meu trabalho;

À Profa. Ms Valéria Helena Guazeli Amin, sua serenidade e carinho amenizaram os momentos difíceis, obrigada pelo apoio, querida amiga;

À Profa. Ms Cristina Simões de Carvalho Tomasetti, uma coordenadora ímpar, sua força e dedicação serão exemplos para mim sempre;

À Profa. Ms Beatriz Lourenço Venegas Ulate, uma pessoa imprescindível para as minhas conquistas;

A todos os meus alunos, que pelo apoio e carinho me motivam a buscar sempre novos conhecimentos;

Ao meu inesquecível pai Minoro Sakamoto, pouco tempo tivemos juntos, mas seus ensinamentos e seu caráter foram a minha mais preciosa herança. Te amarei para sempre, meu querido pai;

À minha mãe Ana Okada Sakamoto, exemplo de pessoa, mãe e mulher, que ainda de longe me deu forças para continuar a caminhar, mesmo quando as minhas pernas insistiam em parar no meio do caminho. Dizia ela: *GAMBARÊ, GAMBARÊ..., minha filha!* Mãe, suas palavras sábias me mantiveram no caminho e me levaram a vencer mais um desafio. Obrigada, por tudo! Te amo!

## RESUMO

Ultimamente, a preocupação dos consumidores com a alimentação saudável, aliada à diversidade de tecnologias na área de laticínios, têm feito com que diversos produtos com boa qualidade nutricional e propriedades funcionais sejam elaborados, com o intuito de promover benefícios à saúde. A utilização de culturas probióticas pela indústria de laticínios vem ganhando destaque, com o lançamento, no mercado, de uma série de produtos funcionais. Neste trabalho, desenvolveu-se um queijo cremoso probiótico (P) sabor tomate seco, contendo *Lactobacillus paracasei*. O mesmo produto sem a adição do microrganismo probiótico (C) foi utilizado como controle. Os microrganismos *Lactobacillus lactis* subespécie *lactis* e *Lactococcus lactis* subespécie *cremoris* foram utilizados como cultura starter. A cada sete dias, durante os 21 dias de armazenamento sob refrigeração, foram avaliados pH e acidez, nas duas formulações, e a população de *Lactobacillus paracasei*, na formulação P. Os experimentos foram realizados em três séries e as análises, em triplicatas, utilizando-se metodologias reconhecidas. A composição centesimal foi realizada a fim de se caracterizar o produto. Com os resultados obtidos, pôde-se observar que a população de probióticos manteve-se superior ao recomendado ( $10^6$  UFC/g), durante todo o período de armazenamento, caracterizando o produto como potencialmente probiótico. O produto controle apresentou boa aceitação e 52,29% dos provadores relataram que certamente comprariam o produto. O teste triangular revelou que não há diferença sensorial entre os queijos C e P.

**Palavras-chave:** alimentos funcionais; queijo cremoso; probióticos; *Lactobacillus paracasei*

## ABSTRACT

Lately, consumer's concern about healthy eating, allied to the diversity of technology in the dairy field, has caused the creation of several products with good nutritional quality and functional properties, aiming to promote health benefits. The use of probiotic cultures by the dairy industry has gained prominence, with the launching in industry of a series of functional products. In this study, a probiotic dry tomato flavored cream cheese (P) containing *Lactobacillus paracasei* was developed. The same product without the microorganism addition (C) was used as control. The microorganisms *Lactobacillus lactis* subspecies *lactis* and *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* were used as starter cultures. Every seventh day during the 21 days of storage under refrigeration, pH and acidity were analyzed, in both formulations, and also the *Lactobacillus paracasei* population from formulation P. The experiments were done in three series and the analysis in triplicates, with renowned methodology being used. The centesimal composition was obtained in order to characterize the product. With the obtained results, it could be observed that the probiotics population remained superior to recommended ( $10^6$  CFU/g) during the entire storage period, characterizing the product as potentially probiotic. The control product presented good acceptance and 52,29 % of those who tasted the product said they certainly would buy the product. The triangular test revealed that there was no sensory difference between the cheeses C and P.

Keywords: Functional foods; Cream cheese; Probiotics; *Lactobacillus paracasei*

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma dos Métodos de Análise Sensorial.....	22
Figura 2 - Fluxograma de produção do queijo cremoso probiótico sabor tomate seco.....	26
Figura 3 - Ficha utilizada para testes de aceitação e intenção de compra.....	30
Figura 4 - Ficha de avaliação do teste triangular.....	31
Figura 5 - Valores de pH dos queijos cremosos sabor tomate seco controle e probiótico, durante o período de armazenamento.....	35
Figura 6 - Valores de acidez titulável dos queijos, expressos em porcentagem de ácido láctico, durante o período de armazenamento refrigerado.....	37
Figura 7 - Viabilidade de <i>Lactobacillus paracasei</i> (UFC/g), durante o período de armazenamento.....	38
Figura 8 - Notas atribuídas ao produto ao queijo cremoso sabor tomate seco.	41
Figura 9 - Intenção de compra dos provadores em relação queijo cremoso sabor tomate seco.....	44



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
3.1 Alimentos Funcionais.....	13
3.1.1 Microrganismos probióticos.....	14
3.1.1.1 Gênero <i>Lactobacillus</i> .....	17
3.2 Queijo.....	18
3.3 Viabilidade de Microrganismos Probióticos em Produtos Lácteos .....	19
3.4 Análise Sensorial.....	21
3.4.1 Teste de aceitação.....	22
3.4.1.1 Escala hedônica.....	23
3.4.2 Teste triangular.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Elaboração do Queijo Cremoso Sabor Tomate Seco.....	25
4.2 Armazenamento e Períodos de Amostragem.....	27
4.3 Análises Microbiológicas.....	27
4.3.1 Enumeração de <i>Lactobacillus paracasei</i> .....	27
4.4 Análises Físico-químicas.....	27
4.4.1 Determinação de pH.....	27
4.4.2 Determinação de Acidez.....	28

4.4.3 Determinação de Cinzas.....	28
4.4.4 Determinação de Gordura.....	28
4.4.5 Determinação de Nitrogênio.....	29
4.4.6 Determinação de Umidade.....	29
4.4.7 Determinação de Carboidrato .....	29
4.5 Análise Sensorial.....	30
4.5.1 Teste de Aceitação.....	30
4.5.2 Teste Triangular.....	31
4.6 Planejamento experimental e análise dos dados.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1 Composição Centesimal e Umidade.....	33
5.2 Parâmetros Físico-químicos.....	34
5.2.1 pH.....	34
5.2.2 Acidez Titulável.....	36
5.3 Viabilidade do <i>Lactobacillus paracasei</i> .....	38
5.4 Aceitação Sensorial e Intenção de Compra.....	41
5.5 Teste Triangular.....	47
6 CONCLUSÃO.....	48
7 REFERÊNCIAS.....	48

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a preocupação com a alimentação saudável, aliada à diversidade de tecnologias na área de laticínios, fez com que diversos produtos com boa qualidade nutricional e propriedades funcionais fossem elaborados, com o intuito de promover benefícios à saúde. (OLIVEIRA et al., 2002).

Alimento funcional é aquele que, além de fornecer a nutrição básica do organismo, promove a saúde por meios não contemplados na nutrição convencional, ressaltando-se que tal ação não se refere à cura de doenças, mas sim à promoção da saúde (OLIVEIRA et al., 2002).

A utilização de culturas probióticas pela indústria de laticínios vem ganhando destaque, com o lançamento no mercado de uma série de produtos funcionais. Os probióticos são microrganismos que interferem positivamente no organismo, por meio do equilíbrio da microbiota intestinal e das funções fisiológicas do trato intestinal humano (GOMES; MALCATA, 1999).

O desenvolvimento de um produto lácteo probiótico, com boa aceitação pelos consumidores, como um queijo cremoso sabor tomate seco é uma boa alternativa para aqueles que buscam opções para melhorar a qualidade da alimentação.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Desenvolver um queijo cremoso probiótico sabor tomate seco.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Verificar a viabilidade do microrganismo probiótico, durante os 21 dias de armazenamento do produto, sob refrigeração;

Analisar os parâmetros físico-químicos (pH e acidez) dos queijos controle (sem adição de probióticos) e probiótico e verificar se estes interferem na viabilidade do microrganismo;

Verificar a aceitação sensorial do produto sem probiótico e a intenção de compra deste pelos consumidores;

Verificar se há diferença sensorial entre os produtos com e sem microrganismos probióticos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Alimentos funcionais

O consumo excessivo de gorduras, em especial as saturadas, e a ingestão elevada de açúcares, associados à redução do consumo de alimentos ricos em fibras, vitaminas e sais minerais importantes, têm provocado aumento na incidência de doenças como a obesidade, câncer, hipertensão arterial, diabetes e cardiopatias (De ANGELIS , 2002).

Tal constatação reforça a necessidade da adoção de medidas que acarretam melhoria na qualidade de vida. Dentre essas medidas, o consumo de alimentos que promovam, além da nutrição básica, a saúde é de extrema importância. As ações benéficas de alguns alimentos sobre a saúde humana já são conhecidas há muito tempo, porém, é recente o estudo sobre esses alimentos, chamados funcionais, e seus componentes responsáveis pelo efeito benéfico (OLIVEIRA et al., 2002).

O registro dos alimentos funcionais, no Brasil, é um problema de difícil resolução, particularmente no que diz respeito aos rótulos dos produtos alimentícios. Discussão vem sendo feita no sentido de se estabelecer se o controle feito pela legislação existente é suficiente para a regulamentação dos alimentos funcionais ou se devem ser introduzidos registros específicos (ALEGRO, 2003).

A portaria ANVS/MS (Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde) número 18, de 30.04.1999, dá as diretrizes básicas para a análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas na rotulagem de alimentos. São discutidas alegações sobre conteúdo, função metabólica e saúde, sendo permitidas apenas as que falam sobre redução de risco. A alegação de propriedades funcionais ou de saúde é permitida em caráter opcional. Segundo a Portaria, o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos,

fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para o consumo sem supervisão médica.

Para que um alimento tenha suas propriedades funcionais reconhecidas é preciso comprovar que o mesmo interfere beneficemente em uma ou mais funções do organismo, além de possuir os adequados efeitos nutricionais, refletindo positivamente no bem-estar, na saúde e também na redução do risco de uma doença (ROBERFROID, 2002).

A suplementação de componentes com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituía os alimentos funcionais de primeira geração. Nos últimos anos, esse conceito voltou-se principalmente para a adição, aos alimentos, de substâncias prebióticas e microrganismos probióticos, ingredientes que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal (ZIEMER; GIBSON, 1998).

Os prebióticos são ingredientes não digeríveis que são adicionados aos alimentos, com o objetivo de selecionar determinadas bactérias da microbiota intestinal, devido à sua atuação como substrato seletivo no cólon (ZIEMER; GIBSON, 1998; LEE et al., 1999). São considerados prebióticos: a lactulose, o lactitol, o xilitol, a inulina e alguns oligossacarídeos não digeríveis e que estimulam seletivamente o crescimento de bifidobactérias no cólon (ZUBBILAGA et al., 2001).

Segundo Grittenden (1999), dentre as bactérias do cólon, as bifidobactérias são uma das mais eficientes na utilização de carboidratos não digeríveis, o que representa uma vantagem competitiva na sua multiplicação em relação a outras espécies, quando consome-se prebióticos.

### **3.1.1 Microrganismos probióticos**

O termo probiótico é de origem grega e significa “para a vida”. A denominação é conhecida há mais de 35 anos (SOUSA; SILVA, 2002), mas somente em 1989, Fuller os definiu como suplementos alimentares à base de

microrganismos vivos que afetam benéficamente o animal hospedeiro, promovendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal.

Atualmente a definição mais aceita é a proposta por Sanders (2003), que define probióticos como “culturas puras ou mistas de microrganismos vivos (bactérias lácticas e outras bactérias ou leveduras aplicadas como células secas ou em um produto fermentado) que, quando aplicadas aos animais ou ao homem, têm efeitos benéficos ao hospedeiro, promovendo o balanço de sua microbiota intestinal”.

Três possíveis mecanismos de atuação dos probióticos, foram descritos por Fuller (1989), sendo o primeiro deles a supressão do número de células viáveis por meio da produção de compostos com atividade antimicrobiana, pela competição por nutrientes e, também, pela competição por sítios de adesão. O segundo mecanismo se refere à alteração do metabolismo microbiano, pelo aumento ou diminuição da atividade enzimática e o terceiro relaciona-se ao estímulo da imunidade do hospedeiro, por meio do aumento nos níveis de anticorpos e da atividade de macrófagos.

Um microrganismo probiótico deve, necessariamente, sobreviver às condições adversas do trato gastrintestinal (ácidos, bile e enzimas pancreáticas) e colonizar o intestino, mesmo que temporariamente, por meio da adesão ao epitélio intestinal (ZIEMER; GIBSON, 1998).

Além do controle da microbiota intestinal, há ainda outros benefícios das culturas probióticas à saúde do hospedeiro, tais como: estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrintestinal à colonização de patógenos; diminuição da população de patógenos por meio da produção de ácidos acético e láctico, de bacteriocinas e outros compostos antimicrobianos; promoção da digestão da lactose em indivíduos intolerantes a esse carboidrato; estímulo do sistema imune; alívio da constipação e aumento da absorção de minerais e vitaminas (SAAD, 2006).

Embora ainda não comprovados, outros efeitos benéficos podem, também, ser atribuídos ao uso das culturas probióticas: diminuição do risco de câncer de cólon, prevenção contra doenças cardiovasculares, redução

das concentrações plasmáticas de colesterol, efeito anti-hipertensivo, redução da atividade ulcerativa de *Helicobacter pylori*, controle da colite ulcerativa provocada por rotavírus e por *Clostridium difficile*, prevenção de infecções urogenitais, além de efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade (TUOHY et al., 2003).

Em virtude da falta de estudos científicos clínicos conclusivos, foi criado em 1996, o projeto PROBDEMO – “Demonstration of the Nutritional Functionality of Probiotic Foods”, em parceria com universidades, centros de pesquisa e indústrias de toda a Europa. O principal objetivo desse estudo colaborativo era demonstrar a influência dos probióticos sobre a microbiota intestinal e a saúde humana, utilizando-se estudos clínicos pilotos controlados. No início do ano 2000, com a finalização dos estudos verificou-se que alguns probióticos poderiam influenciar na composição da microbiota intestinal e modular o sistema imunológico do hospedeiro, resultando em efeitos benéficos mensuráveis sobre a sua saúde, incluindo o controle de eczema atópico de criança com alergia alimentar. Segundo Mattila-Sandholm et al. (1999) o emprego de probióticos selecionados mostrou-se bastante promissor no controle de doenças intestinais inflamatórias e de infecções em crianças e idosos.

Gomes; Malcata (1999) realizaram diversos estudos com o objetivo de esclarecer os efeitos benéficos das culturas probióticas sobre o hospedeiro. Os autores concluíram que algumas das propriedades benéficas atribuídas às culturas probióticas necessitam de estudos mais controlados para serem definitivamente estabelecidas, em virtude dos resultados variáveis e, em muitos casos, contraditórios.

A dose mínima diária da cultura probiótica considerada terapêutica é de  $10^8$  a  $10^9$  UFC (Unidades Formadoras de Colônia), correspondente ao consumo de 100 g de produto que contenha  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g (LEE; SALMINEN, 1995).

A cultura a ser empregada como suplemento alimentar deve apresentar uma propriedade fundamental que se refere a sua viabilidade durante o armazenamento do alimento utilizado como veículo, antes de seu consumo (GILLILAND, 1979). De acordo com Shah (2000), a viabilidade das



bactérias probióticas pode ser comprometida pela presença de substâncias inibitórias, que se formam durante a produção e o armazenamento do produto sob refrigeração. Segundo o autor, dentre os fatores que podem interferir na viabilidade dessas bactérias, nos alimentos lácteos, destacam-se: a cepa empregada, a interação entre as espécies presentes, as condições de cultivo, a produção de peróxido de hidrogênio, a acidez final do produto e a concentração de ácidos láctico e acético.

Destacam-se, entre os microrganismos empregados como probióticos, as bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e, em menor escala, as bactérias *Enterococcus faecium* e *Streptococcus thermophilus*. No gênero *Bifidobacterium*, destacam-se: *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. longum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, as principais são: *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius* (LEE et al., 1999).

### 3.1.1.1 Gênero *Lactobacillus*

Os *Lactobacillus* foram isolados pela primeira vez em 1900, a partir das fezes de lactentes em aleitamento materno. Estes microrganismos são Gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, e possuem a forma bacilar ou cocobacilar; são aerotolerantes ou anaeróbios (GOMES; MALCATA, 1999).

A espécie *Lactobacillus paracasei*, junto com as espécies *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus rhamnosus*, fazem parte do “Grupo *Lactobacillus casei*” e são utilizadas na produção de leites fermentados e, também, como culturas iniciadoras de fermentação, na fabricação de queijos (BURITI, et al., 2007).

Estudos têm sido realizados com o intuito de esclarecer as propriedades benéficas das espécies *Lactobacillus casei/paracasei* à saúde,

estas espécies são comumente utilizadas na indústria de alimentos como probióticos ou em culturas mistas (MEDICI et al., 2004).

### 3.2. Queijo

Os queijos são concentrados de leite, obtidos pela eliminação maior ou menor de água e elementos solúveis. A massa é formada essencialmente por caseína e matéria gorda. O soro que se extrai contém a maior parte de lactose, substâncias nitrogenadas não coaguladas e uma proporção variável de minerais (AMIOT, 1991). A fabricação de queijos é um processo de concentração do leite por um fator de 6 a 12 vezes, dependendo da variedade (FOX; McSWEENY, 1998).

A coagulação do leite ocorre, geralmente, de duas formas: pelo emprego de ácidos (coagulação ácida, quase sempre láctica) ou pelo uso de enzima (coagulação enzimática) (SPREER, 1991). Durante este processo, a camada de  $\kappa$ -caseína, localizada na superfície das micelas de caseína e responsável pela sua estabilidade, sofre hidrólise enzimática. A porção N-terminal da molécula de  $\kappa$ -caseína, denominada para- $\kappa$ -caseína, permanece ligada à micela de caseína, enquanto a porção C-terminal, conhecida como caseíno-macropéptido, é perdida no meio aquoso. Conseqüentemente, na presença de cálcio e em temperaturas adequadas, ocorre a aglomeração das micelas desestabilizadas de caseína, resultando na formação da coalhada (FOX et al., 2000).

A etapa seguinte consiste na desidratação, mais ou menos intensa, deste coágulo, para obtenção de uma pasta de consistência variável (AMIOT, 1991).

O queijo quark é um queijo cremoso, de origem alemã, que pode ser incluído na categoria de queijo fresco. Possui as seguintes características: branco e úmido, feito de leite desnatado; sua textura fica entre a do iogurte e a do queijo fresco; tem sabor levemente citronado (OLIVEIRA, 2004). O processo de fabricação do quark tradicional é iniciado com adição de

cultura láctica ao leite desnatado e pasteurizado, com temperatura entre 20 e 30°C. O leite é incubado até o pH atingir o valor de 6,3, quando, então, é adicionada a renina em pequenas quantidades, para evitar sabores estranhos. Quando o pH atinge o valor de 4,5, faz-se a drenagem do soro. A massa obtida é o queijo quark, ao qual podem-se adicionar os ingredientes de acordo com o seu uso (VAN DENDER, 1985).

Em termos de rendimento na fabricação de queijo quark, tem-se a relação de 4,6 litros de leite / kg de queijo produzido, pelo método tradicional; pelo método de filtração, esta diminui para até 3,8 litros de leite / kg produzido, representando uma melhora de cerca de 20% (MORGADO; BRANDÃO, 1998).

### **3.3 Viabilidade de microrganismos probióticos em produtos lácteos**

Já há alguns anos têm-se procurado desenvolver produtos com boa qualidade e que possuam um valor agregado, trazendo benefícios à saúde dos consumidores. Inúmeras pesquisas sobre o desenvolvimento de novos produtos probióticos vêm sendo realizadas, no sentido de atender a essa tendência mundial.

A indústria de laticínios é um dos segmentos que apresenta maior número de lançamentos de produtos funcionais contendo culturas probióticas. Segundo Gomes; Malcata (1999) existem, no mercado mundial, cerca de 80 produtos lácteos probióticos comerciais, os quais são produzidos, principalmente, no Japão, que lidera o mercado com aproximadamente 50 tipos desses produtos, na Comunidade Européia e nos EUA. Os produtos mais comuns são leites fermentados, iogurtes e queijos, nos quais, além da cultura starter convencional, os probióticos são adicionados.

No Brasil, os produtos lácteos funcionais probióticos, vêm sendo produzidos, principalmente, com *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus casei*. São encontrados no mercado brasileiro alguns produtos alimentícios contendo probióticos, como leite fermentado aromatizado ou não, e iogurtes (OLIVEIRA et al., 2002)

Vários trabalhos realizados em nosso país demonstram esse aumento do desenvolvimento de produtos lácteos utilizando-se culturas probióticas. Alegro (2003) verificou a influência do emprego das culturas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*, isoladas e em co-cultura, na tecnologia de fabricação de queijo Minas frescal, sobre as características do produto ao longo de seu armazenamento refrigerado. Os resultados demonstraram que o queijo Minas frescal contendo as duas culturas revelou-se mais adequado quanto à viabilidade dos microrganismos, durante os 21 dias de armazenamento.

Buriti (2005) pesquisou a viabilidade de um queijo tipo Minas simbiótico, processado com a adição de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (LBC 82) e do ingrediente prebiótico inulina. O autor verificou que *L. paracasei* se manteve viável durante os 21 dias de armazenamento sob refrigeração, apresentando populações sempre acima de 7 log UFC/g.

Fuchs et al. (2006) testaram a resistência de uma cepa de *Lactobacillus casei* à acidez gástrica e à bile e desenvolveram um iogurte desnatado simbiótico, utilizando esta cultura como probiótico e inulina e oligofrutose, como ingredientes prebióticos. O microrganismo probiótico mostrou-se resistente à acidez e a bile, sendo esta uma das características desejadas para uma cultura probiótica. A população de *L. casei* permaneceu acima da recomendada ( $10^6$  UFC/g). Além disso, o índice de aceitação do produto foi superior a 80%.

A caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico foi realizada por Thamer e Penna (2006). Segundo os autores, os probióticos mantiveram-se viáveis durante armazenamento sob refrigeração.

Cardarelli (2006) desenvolveu um queijo petit-suisse simbiótico, adicionado das culturas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* e suplementado com inulina, oligofrutose e mel. Verificou-se que as populações de probióticos permaneceram, durante todo o período de armazenamento, superiores aos valores recomendados para a promoção dos efeitos benéficos.

### 3.4. Análise Sensorial

Os diversos segmentos da produção de alimentos devem ter a preocupação de identificar e atender os anseios dos consumidores em relação a seus produtos. Desta forma, a análise sensorial tem-se mostrado um importante instrumento para esse processo, abrangendo um conjunto de diversas técnicas elaboradas com o intuito de avaliar um produto quanto à sua qualidade sensorial (MINIM, 2006).

A análise sensorial é utilizada para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação de produtos já existentes no mercado, estudo da vida de prateleira, determinação das diferenças e similaridades apresentadas entre produtos concorrentes, identificação das preferências dos consumidores por um determinado produto e, também, para a otimização e melhoria da qualidade. Os testes sensoriais são capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definir características sensoriais importantes de um produto, de forma rápida, e detectar particularidades que não podem ser identificadas por outros procedimentos analíticos (SCHNEIDER et al., 2006).

Segundo Schneider et al. (2006) os métodos de análise sensorial são classificados em (Figura 1):

1-Método Sensorial Descritivo, com o qual se avalia a intensidade dos atributos sensoriais dos produtos, sendo empregadas equipes de provadores treinados;

2-Método Sensorial Discriminativo, em que são avaliadas as diferenças sensoriais entre dois ou mais produtos;

3- Método Sensorial Afetivo, cujo objetivo é avaliar a aceitação e a preferência dos consumidores em relação a um ou mais produtos.



**Figura 1-** Fluxograma dos Métodos de Análise Sensorial.

Fonte: SGS do Brasil, disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/bn/hotsites/sgs/>

Na análise sensorial, é de extrema importância selecionar o método mais adequado para quantificar e/ou qualificar a sensação experimentada pelo homem, em resposta ao estímulo provocado pelo alimento, estabelecendo-se a equipe de julgadores e as condições ambientais do teste (MINIM, 2006).

### 3.4.1. Teste de aceitação

Os testes de aceitação são aplicados quando se deseja avaliar se os consumidores gostam ou desgostam de um determinado produto (MINIM, 2006).

Nos testes de aceitação recomenda-se um grande número de participantes ( $\geq 50$ ), e que estes possam representar a população de

consumidores atuais ou potenciais do produto avaliado. Esse número pode ficar na faixa de 30 a 50 julgadores não-treinados, quando se deseja uma triagem inicial ou uma avaliação preliminar da aceitação. Um número não inferior a 100 é indicado quando se quer uma avaliação mais representativa. Em trabalhos de campo, o número de julgamentos deve ser superior a 1000. Para se medir o grau de aceitação de um produto, são utilizadas vários tipos de escalas; dentre estas, destaca-se a escala hedônica (ALMEIDA et al., 1999).

#### **3.4.1.1 Escala Hedônica**

A escala hedônica foi desenvolvida para se avaliar a aceitabilidade de alimentos destinados a militares. No estudo, foram testadas várias escalas diferentes, variando o comprimento, o número de categorias e, também, a seleção de palavras mais apropriadas para cada categoria. Os resultados geraram uma escala com nove pontos ou categorias e nove afirmações. Este tipo de instrumento tem sido utilizado na avaliação de uma variedade de produtos, obtendo-se resultados satisfatórios. É uma escala considerada de fácil compreensão pelos consumidores. Nela, o consumidor expressa sua aceitação pelo produto seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente entre os atributos “gosta” e “desgosta” (MINIM, 2006). A escala hedônica com 10 pontos também tem sido utilizada.

A escala hedônica híbrida é derivada da escala linear, a partir de uma combinação das escalas estruturadas e não estruturadas. A escala híbrida apresenta marcações com expressões verbais afetivas nas regiões extremas e no meio da escala; além disso, permite marcações entre as expressões, definindo melhor o grau de aceitação do produto pelo provador ou consumidor (VILLANUEVA et al., 2005). Alguns pesquisadores têm utilizado, com consumidores, a escala hedônica híbrida, por ser de fácil uso e favorecer a segmentação das amostras, comparativamente à escala hedônica de categoria (DA RE, 2006).

### 3.4.2 Teste Triangular

É um teste que pertence à categoria dos métodos sensoriais discriminativos, cujo objetivo é o de verificar se existe diferença significativa entre duas amostras que sofreram processos diferentes de produção, comparando-se três amostras; destas, duas são iguais e uma, diferente. (SCHENEIDER et al., 2006; FERREIRA et al., 2000).

O teste triangular é o mais utilizado dentre os testes discriminativos. As três amostras apresentadas ao provador recebem um código com três dígitos. O provador deve experimentar as amostras e identificar qual é a diferente, baseando-se em alguma característica específica ou na qualidade global da mesma (OLIVEIRA, 2006). Para a aplicação desse teste, recomenda-se um contingente de 20 a 40 provadores. Um mínimo de 12 julgadores pode ser usado quando a diferença entre as amostras não for muito pequena (FERREIRA et al., 2000).



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório do Curso de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, da Universidade Norte do Paraná, em Londrina-PR.

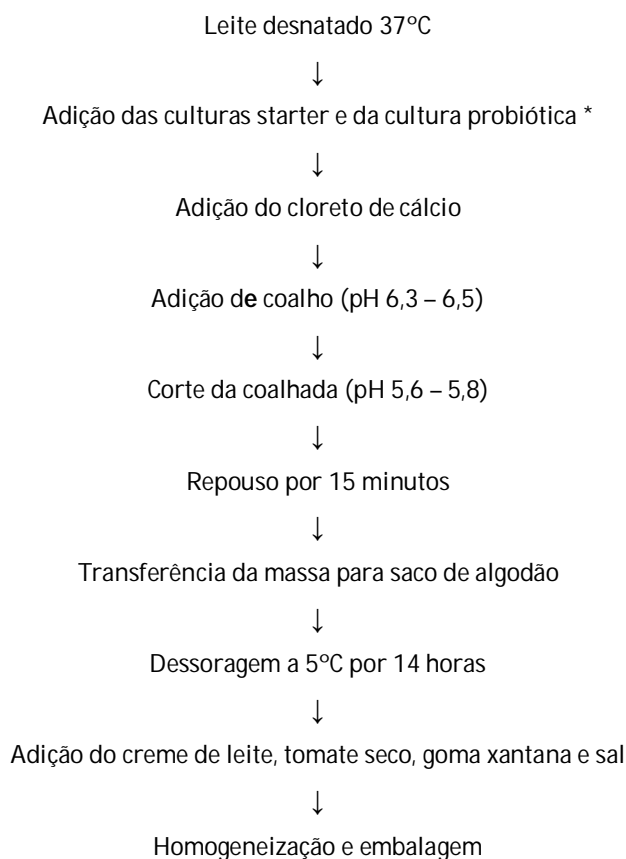
### 4.1. Elaboração do queijo cremoso sabor tomate seco

Duas formulações de queijo foram produzidas, uma com adição do microrganismo probiótico *Lactobacillus paracasei* (Lpc 37 LYO 50 DCU, Danisco, Dangé-Saint-Romain, France) (P) e outra sem adição deste microrganismo (C). O leite desnatado (Frimesa, Marechal Cândido Rondon-PR, Brasil) foi aquecido a 37 °C e o cloreto de cálcio (0,25 mL/L) e as culturas starter (1% - *Lactococcus lactis* subespécie *lactis* e *Lactococcus lactis* subespécie *cremoris*, Danisco Dangé-Saint-Romain, France) foram adicionados. No produto contendo probiótico, esses microrganismos foram adicionados juntamente com as culturas *starter*. Após homogeneização, adicionou-se o coalho (diluído em 50 mL de água fervida e resfriada – HÁ-LA, Niebüll, Germany), seguido, novamente, de homogeneização. Após a coagulação (pH 5,6 - 5,8), a coalhada foi cortada e mantida em repouso por, aproximadamente, 15 minutos. Em seguida, transferiu-se a massa para sacos de algodão esterilizados. Realizou-se a dessoragem em câmara a 5°C, por 14 horas. Após este período, a massa obtida foi homogeneizada, com o auxílio de mixer elétrico (Britânia, Camaçari, Brasil), com creme de leite esterilizado (Nestlé, Araçatuba, Brasil), goma xantana (Cargill, Cosmópolis, Brasil), tomate seco industrializado picado (Speciale, Limeira, Brasil) e sal (Cisne, Cabo Frio, Brasil). As quantidades adicionadas em cada formulação estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1-** Ingredientes e respectivas quantidades utilizadas na produção das duas formulações de queijo cremoso.

Ingrediente	P	C
Massa de queijo	50%	50%
Tomate seco	18,36%	18,36%
Creme de leite	29,64%	29,64%
Sal	1,5%	1,5%
Goma xantana	0,5%	0,5%

Esta produção foi repetida três vezes, conforme fluxograma apresentado a seguir:



**Figura 2 -** Fluxograma de produção do queijo cremoso probiótico sabor tomate seco.

\* No queijo controle, foram adicionadas somente as culturas starter.

## 4.2. Armazenamento e períodos de amostragem

O queijo foi armazenado sob refrigeração (5°C). A composição centesimal (cinzas, proteínas, gordura, carboidrato) e a umidade do produto foram realizadas no dia seguinte à fabricação. A enumeração de *Lactobacillus paracasei* determinações dos parâmetros microbiológicos (contagem do microrganismo probiótico) e físico-químicos (pH e acidez) das amostras foram feitas nos queijos recém produzidos (um dia) e após sete, 14 e 21 dias de armazenamento. As análises sensoriais foram realizadas sete dias após o processamento, tendo em vista o tempo necessário para o equilíbrio dos componentes que interferem no seu sabor.

## 4.3. Análises microbiológicas

**4.3.1. Enumeração de *Lactobacillus paracasei*:** Decorridos os tempos de armazenamento, descritos no item 4.2, porções de 25 g do produto foram retiradas, assepticamente, e homogeneizadas com 225 mL de água peptonada (Himedia, Mumbai, Índia) 0,1%. Foram preparadas diluições decimais subseqüentes utilizando-se o mesmo diluente. Um mL de cada diluição foi adicionado em placas de Petri e homogeneizado com 20 mL de ágar MRS acidificado (pH 5,4) com ácido acético (Synth, Diadema, Brasil). Contaram-se as colônias após três dias de incubação em anaerobiose, a 37°C, e os resultados foram expressos em UFC/g (Unidades Formadoras de Colônia por grama) de queijo.

## 4.4. Análises físico-químicas

**4.4.1. Determinação de pH (AOAC, 1995):** O pH foi avaliado com o auxílio de um potenciômetro digital (Tecnal, Piracicaba, Brasil), em temperatura ambiente.

**4.4.2. Determinação de Acidez (AOAC, 1995):** 10 g da amostra foram pesados, homogeneizados com 95 mL de água destilada previamente aquecida a 60°C e levados ao freezer durante 10 a 15 minutos, até a solidificação da gordura. A mistura foi filtrada em papel Whatman nº1 e 25 mL do filtrado foram titulados com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando-se fenolftaleína como indicador, até o surgimento de coloração ligeiramente rosa. A acidez titulável foi calculada da seguinte maneira:

$$\% \text{ acidez titulável} = \frac{(\text{mL NaOH}) \times (3,3732)}{\text{g de queijo}}$$

**4.4.3. Determinação de cinzas (AOAC, 1995):** Pesou-se 5 gramas da amostra em cadinhos previamente tarados, que foram levados ao bico de Bunsen até carbonização completa. Em seguida, os cadinhos foram levados ao forno mufla, a 550°C, por 12 horas, resfriados em dessecador e pesados. Para determinação das cinzas utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ cinzas} = \frac{100 \times P}{p'}$$

Onde: P = peso das cinzas, em gramas

p' = peso da amostra, em gramas

**4.4.4. Determinação de gordura pelo método de Gerber (KOSIKOWSKI; MISTRY, 1997):** Pesou-se 3 g de amostra no copo do butirômetro, adicionando-se 5 mL de água destilada fria, 10 mL de ácido sulfúrico (Synth, Diadema, Brasil) e 1 mL de álcool isoamílico (Synth, Diadema, Brasil) completando-se a escala com água destilada 65°C. Centrifugou-se o material por 5 minutos e, em seguida, os butirômetros foram colocados em banho-maria, por 5 minutos. Procedeu-se a leitura direta.

**4.4.5. Determinação de Nitrogênio (AOAC 991.20, 1995):** Foram pesados 1,5 g de catalisador (Synth, Diadema, Brasil) em tubo de digestão e, aproximadamente, 0,2 g de amostra. Em seguida, acrescentou-se 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (Synth, Diadema, Brasil) . Os tubos foram levados ao bloco digestor e aquecidos até 350°C. O conteúdo dos tubos foi digerido, até apresentar-se transparente, com coloração verde-azulado. A amostra foi destilada com NaOH 50% (Synth, Diadema, Brasil), sendo o conteúdo destilado recolhido em erlenmeyer contendo H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2% (Synth, Diadema, Brasil), com indicador misto. Titulou-se o destilado utilizando-se HCl 0,02 N (Synth, Diadema, Brasil) até que o indicador passasse da coloração azul para vinho. O cálculo para determinação da porcentagem de proteínas foi feito utilizando-se a fórmula:

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{\text{mL (HCl)} \times \text{N (HCl)} \times \text{fc (HCl)} \times 1,4008}{\text{Peso da amostra}}$$

% Proteína total= % Nitrogênio X fator de correção para proteínas

\* O fator de correção utilizado foi o de 6,38.

**4.4.6. Umidade (AOAC, 925.23, 1995):** Cerca de 5 g de amostra foram pesados e homogeneizados em placa previamente tarada. As placas foram levadas à estufa a 105°C, durante 16 horas. O material resfriado foi pesado. Para cálculo da umidade utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ Umidade} = \frac{100 \times P}{P1}$$

Onde: P = perda de peso em gramas

P1= peso da amostra em gramas

**4.4.7. Determinação de Carboidrato totais:** A porcentagem de carboidratos foi determinada pela diferença entre os componentes.

## 4.5. Análise Sensorial

### 4.5.1. Teste de aceitação

Foi avaliada, em um primeiro momento, a aceitação do queijo cremoso sem probiótico. Cento e nove avaliadores não treinados (funcionários, professores, alunos e pessoas da comunidade) foram recrutados, no campus da Universidade Norte do Paraná – UNOPAR. O teste foi realizado em dois dias consecutivos, no período da manhã das 8h00 às 10h30 e no período da noite das 18h00 às 19h30.

A aceitação do produto foi avaliada utilizando-se escala hedônica híbrida de 10 pontos. Os provadores não treinados foram encaminhados para cabines individuais, onde receberam uma bandeja contendo aproximadamente 20 g do produto espalhados em uma bolacha cream cracker, um copo com água, guardanapo e a ficha contendo a escala (Figura 3). Os provadores experimentaram a amostra e, na sequência marcaram, na escala, a nota correspondente.

Nome: _____	Data: _____
Idade: _____	Sexo: (    ) Masculino                      (    ) Feminino
<p>Você está recebendo uma amostra de queijo cremoso sabor tomate seco. Por favor, experimente-a e em seguida marque com um “X” na escala abaixo o lugar (incluindo os espaços entre os pontos) que melhor representa o quanto você gostou ou desgostou da amostra.</p>	
<p>Se esse produto fosse comercializado você:</p>	
<p>(    ) Certamente compraria.</p>	
<p>(    ) Provavelmente compraria</p>	
<p>(    ) Tenho dúvidas se compraria</p>	
<p>(    ) Provavelmente não compraria</p>	
<p>(    ) Certamente não compraria</p>	

**Figura 3** - Ficha utilizada para testes de aceitação e intenção de compra.

#### 4.5.2. Teste Triangular:

Em um segundo momento, realizou-se o teste triangular, para verificar se havia diferença perceptível entre os queijos cremosos sem probiótico e com probiótico. Participaram do teste 42 avaliadores não treinados, recrutados no campus da Universidade, sendo formados por professores, convidados, funcionários e alunos.

Os participantes foram instruídos a dirigir-se para as cabines individuais, nas quais recebiam uma bandeja contendo as três amostras, codificadas com números aleatórios, apresentadas sem sequência lógica. Cerca de 20 gramas de amostras eram distribuídas em bolachas do tipo cream cracker. Foram entregues, também, um copo com água, guardanapo e a ficha do teste. Duas amostras iguais e uma diferente foram servidas aos provadores, que deveriam assinalar, na ficha (Figura 4), qual era a amostra diferente. O teste foi realizado em um dia, no período das 8h30 às 10h30.

Nome: _____ Data: _____
Você está recebendo três amostras de queijo cremoso sabor tomate seco. Duas delas são iguais e uma, diferente. Por favor, experimente as amostras, iniciando da esquerda para a direita e, em seguida, assinale abaixo qual é a DIFERENTE, na sua opinião.
(     ) AMOSTRA 207     (     ) AMOSTRA 124     (     ) AMOSTRA 701
COMENTÁRIOS: _____
_____

**Figura 4** - Ficha utilizada para teste triangular.

#### **4.6. Planejamento experimental e análise estatística dos resultados**

Para se avaliar os dados físico-químicos, foi utilizado um modelo de efeitos mistos (LITELL et al., 1996). Esses modelos têm como pressuposto que seus resíduos tenham distribuição normal com média 0 e variância  $\sigma^2$ . Quando as suposições residuais não foram atendidas, uma transformação foi aplicada a cada variável resposta. Utilizou-se o procedimento PROC MIXED do software SAS, versão 8.02. Para os dados microbiológicos, composição centesimal e umidade, média e desvio padrão foram calculados.

Analisaram-se os resultados obtidos no teste de aceitação utilizando-se ANOVA e teste de Tukey, quando necessário, com nível de significância 5%. Para a análise dos resultados do teste triangular foi contado o número de respostas corretas e usada a tabela citada pela American Society for Testing and Materials (1968).



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Composição centesimal e umidade:

A fim de se caracterizar o produto, foram realizadas as análises de composição centesimal e umidade dos queijos cremosos com e sem a adição de probiótico sabor tomate seco. As análises foram realizadas, em triplicatas, no 1º dia após a produção de cada lote.

A Tabela 2 apresenta a média e desvio padrão da composição centesimal dos queijos cremosos sabor tomate seco controle e probiótico.

**Tabela 2** - Média e desvio padrão da composição centesimal dos queijos cremosos sabor tomate seco controle e probiótico.

produto	Proteína (%)	Gordura (%)	Carboidrato (%)	Cinzas (%)	Umidade (%)
Controle	11,61 ± 1,49	9,36 ± 0,77	11,10 ± 1,53	3,13 ± 0,57	64,80 ± 1,51
probiótico	10,37 ± 1,05	9,06 ± 0,85	9,98 ± 2,18	3,23 ± 0,62	67,36 ± 1,43

O conhecimento da composição centesimal de um produto é importante para direcionar os consumidores à escolha adequada dos alimentos. Além disso, dados da composição dos alimentos servem para promover a comercialização nacional e internacional de alimentos (TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS, 2006).

Em relação à composição centesimal e à umidade dos produtos, verificou-se que os valores não diferiram muito entre o queijo C e o queijo P.

De acordo com Perry (2004), a classificação dos queijos se dá pelas características decorrentes do tipo de leite utilizado, do tipo de coagulação, da consistência da pasta, do teor de gordura, do tipo de casca, do tempo de cura, etc. A Organização Mundial de Saúde (OMS) classifica os queijos de acordo com seus teores de gordura (GMS) e de umidade (HBNG). Desta forma, queijos com HBNG <1, são classificados como queijos extra duros, queijos com HBNG > 67, são classificados como queijos macios. Os queijos com GMS >60, são classificados como queijos gordurosos e queijos com GMS<10 como queijos não gordurosos.

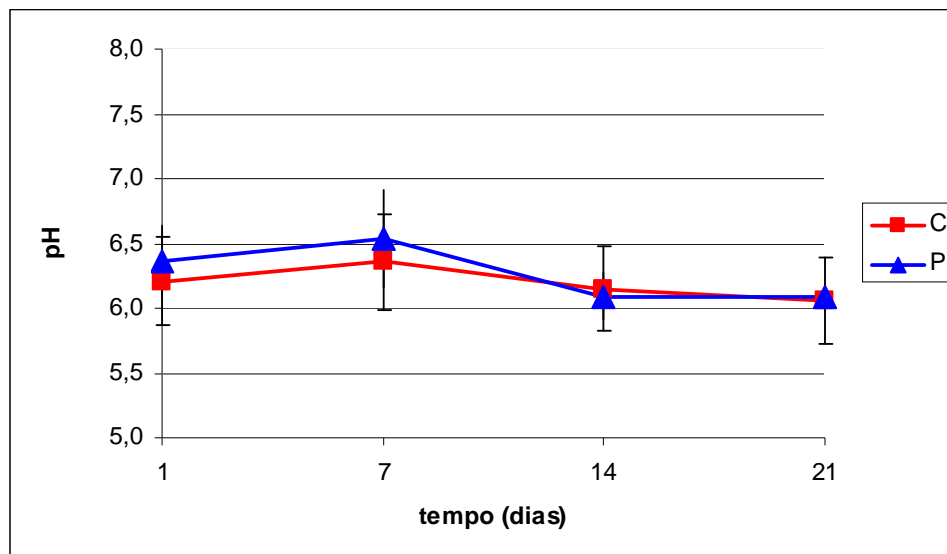
A umidade observada no queijo P o classifica como queijo de muita alta umidade. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijos em vigência no Brasil, queijos com essa classificam apresentam umidade não inferior a 55% (PERRY, 2004).

O queijo fresco cremoso simbiótico desenvolvido por Buriti (2005) apresentou umidade semelhante ao obtido nesse trabalho.

## **5.2. Parâmetros físico-químicos**

### **5.2.1. pH**

As características físico-químicas (pH e acidez titulável) dos queijos C e P foram analisadas em triplicata, em todas as séries produzidas, no 1º, 7º, 14º e 21 º dia de produção das respectivas séries. A Figura 5 apresenta os valores de pH dos queijos C e P, durante o período de análise.



**Figura 5** - Valores de pH dos queijos cremosos sabor tomate seco controle e probiótico, durante o período de armazenamento.

Analisando-se os dados da Figura 5, observou-se que houve um pequeno aumento dos valores de pH na 1ª semana, tanto para o queijo C, quanto para o P. Esse aumento não era esperado e não foi estatisticamente significativo ( $p > 0,05$ ). A redução do pH era esperada, em virtude da produção de ácido láctico e de outros ácidos orgânicos pelas culturas *starters* e pela cultura probiótica (GOMES; MALCATA, 1999). Nas semanas seguintes, observou-se essa diminuição dos valores de pH dos queijos ( $p < 0,05$ ).

No trabalho realizado por Alegro (2003), o autor observou que o queijo contendo *Bifidobacterium lactis* apresentou predominância de acidez inicial e o queijo contendo *Lactobacillus acidophilus*, de acidez final. Porém, o autor relata não ter sido observado pH menor inicial para o primeiro queijo e, tampouco, pH menor final para o segundo. De acordo, com o autor, tal fato pode ter ocorrido devido a algum fator de tamponamento do meio como, por exemplo, liberação de aminas pela proteólise.

Verificou-se, ainda, neste trabalho, que o queijo probiótico apresentou, até próximo ao 14º dia, pH maior do que o queijo C. Uma constatação semelhante foi observada por Stanton et al. (2001), que verificaram que, queijos contendo probióticos apresentaram valores de pH

maiores, quando comparados com queijos que não continham a cultura probiótica. No trabalho, os autores relacionaram tal fato à maior atividade proteolítica verificada. Isso pode ter acontecido neste trabalho, porém, não se pode afirmar, já que essas análises não foram realizadas.

Em um estudo realizado por Buriti et al. (2005), os autores verificaram uma maior acidificação, ao longo dos 21 dias de armazenamento, nos queijos probióticos contendo cultura *starter*.

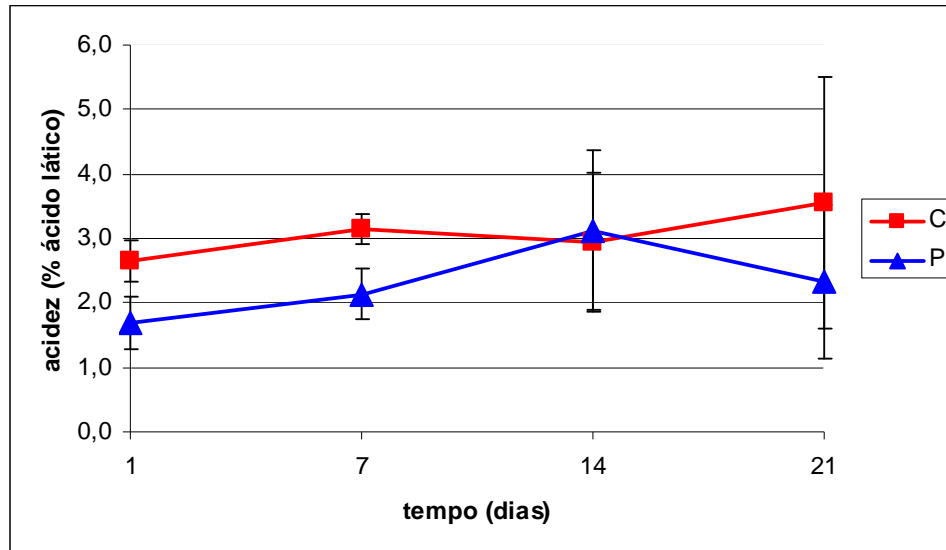
Maruyama et al. (2006) verificaram que o pH de todas as formulações de queijo petit-suisse contendo probióticos diminuiu durante o período de estocagem, com relevância estatística ( $p < 0,05$ ) entre o 1º e o 7º dia de armazenamento.

Buriti (2005) comparando três queijos com diferentes formulações: um queijo contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei* e inulina; outro queijo contendo *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei*, sem inulina e um terceiro contendo somente a cultura *starter Streptococcus thermophilus*, verificou que o primeiro queijo apresentou valores de pH significativamente menores ( $p < 0,05$ ) do que os outros queijos.

De acordo com Jay (2000) a acidez titulável é mais expressiva do que o pH isolado, quando deseja-se determinar a quantidade de ácidos orgânicos em alimentos, pois a medição do pH é dada pela concentração de íons hidrogênio e os ácidos orgânicos podem não estar completamente dissociados. Segundo o autor, a acidez titulável é o melhor indicador da quantidade de acidez presente em alguns alimentos. Assim, uma melhor interpretação dos níveis de ácidos dos queijos C e P pode ser observada na figura 6.

### **5.2.2 Acidez Titulável**

A Figura 6 apresenta os valores de acidez titulável dos queijos, expressos em porcentagem de ácido láctico, durante o período de armazenamento refrigerado.



**Figura 6** - Valores de acidez titulável dos queijos, expressos em porcentagem de ácido láctico, durante o período de armazenamento refrigerado.

Comparando-se a acidez dos queijos controle (C) e probiótico (P), verifica-se que C apresentou valores maiores do que P, mostrando relevância estatística ( $p < 0,05$ ), com exceção do dia 14 ( $p > 0,05$ ). O esperado era que o queijo contendo os microrganismos probióticos apresentasse valores maiores de acidez que os do queijo controle, uma vez que, no primeiro queijo, foram adicionadas quantidades maiores de bactérias produtoras de ácido.

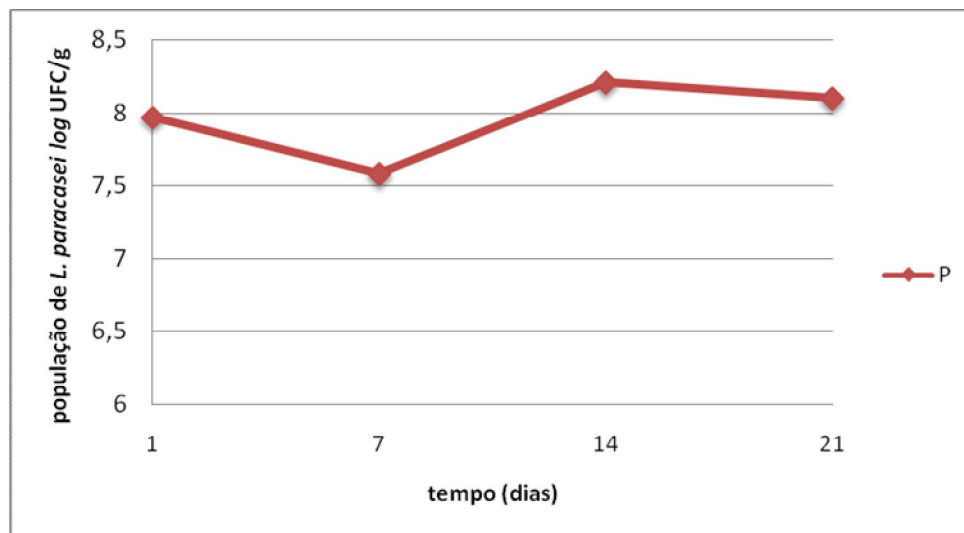
Comparando-se a acidez do queijo C, entre os diferentes dias, verificou-se que, mesmo tendo sido observado um pequeno aumento dos valores do 1º para o 7º dia de produção, esse aumento não apresentou relevância estatística ( $p > 0,05$ ). Comportamento diferente ocorreu com o queijo P, cujo aumento da acidez foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ); esse aumento de acidez foi crescente até o 14º dia de produção.

Buriti (2005) também observou um aumento da acidez titulável em queijo cremoso probiótico contendo *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus paracasei*, entre o 1º e 21º dia de armazenamento. À bactéria *Streptococcus thermophilus* relacionou-se a maior produção de ácido em queijos probióticos, e em menor grau, por *Lactobacillus paracasei*, utilizados no desenvolvimento de queijo fresco cremoso probiótico proposto pelo autor.

Em um estudo com queijos Minas frescal probióticos, contendo *Lactobacillus paracasei* LBC-82, com ou sem a adição de cultura starter composta de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, verificou-se uma maior acidificação ao longo de 21 dias de armazenamento nos queijos probióticos contendo a cultura starter em comparação aos queijos, nos quais adicionou-se somente a cultura starter (BURITI et al., 2005).

### 5.3. Viabilidade do *Lactobacillus paracasei*

A viabilidade de *Lactobacillus paracasei* foi verificada durante os 21 dias de armazenamento refrigerado do queijo P. A Figura 7 apresenta os valores da população desse microrganismo (UFC/g), durante o período de armazenamento.



**Figura 7** - Viabilidade de *Lactobacillus paracasei* log UFC/g, durante o período de armazenamento.

Apesar de não apresentarem relevância estatística ( $p > 0,05$ ), os resultados demonstram uma pequena redução da população probiótica na 1ª semana do produto, revelando um resultado inesperado, pois, de acordo com

Svensson (1999), em geral, as bactérias do gênero *Lactobacillus* sobrevivem melhor às condições de baixo pH. A análise de acidez titulável revelou que, no mesmo período, o queijo P apresentou uma elevação nos níveis de acidez, conforme observa-se na Figura 6.

Neste ponto um aspecto merece destaque, a elevação da acidez observada no 14º dia, coincide com o melhor desenvolvimento probiótico durante todo o período de armazenamento, constatando-se que a culturas probióticas se multiplicaram e produziram mais ácido.

Porém, mesmo com essa pequena redução de população, o queijo probiótico manteve os valores recomendados para ser caracterizado como um produto probiótico, que é de  $10^6$  UFC/g. Vale ressaltar que o citado valor é sugerido como o mínimo para a produção de efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (LEE; SALMINEN, 1995; BLANCHETTE et al., 1996 e SHAH; RAVULA, 2000). Valores um pouco mais baixos são sugeridos por Naidu; Clemens (2000) que indicam a concentração mínima de  $10^5$  UFC/g do microrganismo probiótico no produto final, para que o efeito probiótico seja alcançado.

Os resultados obtidos neste trabalho podem ser corroborados com diversos trabalhos citados a seguir, que demonstraram a viabilidade de microrganismos probióticos em produtos lácteos.

Desenvolvendo um queijo tipo Minas frescal probiótico, Alegro (2003) constatou que o queijo contendo *Lactobacillus acidophilus* + *Bifidobacterium lactis* revelou-se mais apropriado quanto à multiplicação de bactérias probióticas. No estudo todos os produtos estudados mantiveram-se dentro dos valores populacionais recomendados para um produto probiótico, que é  $10^6$  UFC/g.

Oliveira; Damin (2003) estudaram o efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. Foram utilizadas as seguintes bactérias *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbruecki subsp. bulgaricus*; *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus acidophilus*;

*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*. Os produtos desenvolvidos mantiveram população probiótica acima do valor recomendado para o efeito probiótico, sendo que após 1 dia de armazenamento obteve-se, em média,  $6,5 \times 10^7$  UFC/mL,  $1,4 \times 10^9$  UFC/mL e  $1,8 \times 10^9$  UFC/mL, respectivamente de *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus*. Após sete dias, o número de bactérias manteve-se estável, porém com ligeiro aumento de *Lactobacillus bulgaricus* e melhor viabilidade de *Lactobacillus rhamonosus*.

Estudando o efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas, Thamer; Penna (2005) observaram, em seu estudo, que a contagem total de probióticos da bebida láctea desenvolvida no trabalho variou entre  $10^8$  a  $10^{13}$  UFC/ml. As populações probióticas eram compostas por *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium* e *Lactobacillus acidophilus*. O *Streptococcus thermophilus* predominou sobre as outras culturas.

Maruyama et al. (2006) desenvolveram um queijo tipo petit-suisse potencialmente probiótico, o qual apresentou contagem acima de 6,41 e 7,46 log UFC/g, respectivamente, de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*, alcançando as recomendações para caracterizar-se como produto probiótico.

Fuchs et al. (2006) desenvolveram um iogurte simbiótico, contendo a cultura starter *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, além de *Lactobacillus casei*, como probiótico, e inulina e oligofrutose, como prebióticos. Os autores testaram as características probióticas – resistência ao ácido e a bile - do *Lactobacillus casei*, que apresentou boa resistência ao ácido estomacal e à bile, confirmando importantes características probióticas. O iogurte apresentou quantidade de bactérias lácticas superior ao mínimo necessário.

A viabilidade de *Lactobacillus paracasei* foi suficiente para caracterizar o queijo probiótico desenvolvido por Buriti et al. (2007), apresentando populações acima de 7 log UFC/g.

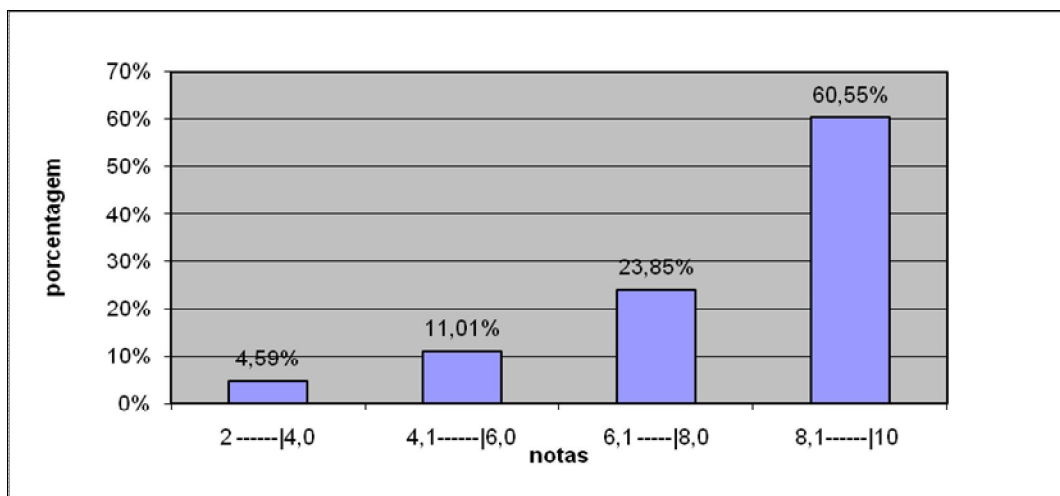


O potencial probiótico de um flan de coco, suplementado com *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium lactis* foi avaliado por Corrêa et al. (2007). Os resultados demonstraram que as duas culturas probióticas mantiveram-se sempre acima de 7 log UFC/g nos produtos, durante todo o período de armazenamento.

#### 5.4. Aceitação sensorial e intenção de compra

Um total de 109 provadores não treinados, recrutados do Campus da Universidade Norte do Paraná participaram do teste de aceitação sensorial do queijo cremoso sabor tomate seco. Este teste mostra a somatória de todas as percepções sensoriais e expressa o julgamento do provador, em relação à qualidade do produto (OLIVEIRA, 2008).

A amostra analisada não continha o probiótico *Lactobacillus paracasei*, pois o objetivo era o de submeter o queijo cremoso sabor tomate seco à aceitação dos consumidores em potencial, e estabelecer a intenção de compra desse produto pelos provadores. A Figura 8 apresenta as notas atribuídas ao produto, pelos consumidores.



**Figura 8** - Notas atribuídas ao produto ao queijo cremoso sabor tomate seco.

Como pode ser observado na Figura 8, o produto apresentou boa aceitação, uma vez que 60,55% dos participantes deram notas que variaram entre 8,1 e 10 e as notas de 23,85% dos recrutados permaneceram entre 6,1 e 8,0. Notas entre 2,0 e 6,0 representaram 15,6% dos provadores.

Os produtos lácteos, com ou sem a adição de probióticos, possuem, geralmente, boa aceitação dos consumidores, conforme se apresenta na sequência

Zacarchenco: Massaguer-Roig (2004) produziram três leites fermentados, o primeiro contendo *S. thermophilus*, o segundo, *Bifidobacterium longum* e o terceiro, elaborado pela mistura de volumes iguais dos leites fermentados. Os autores constataram que não houve diferença significativa para os atributos sensoriais entre o leite fermentado com mistura e aquele contendo as culturas probióticas.

Oliveira et al. (2004) avaliaram a aceitação de sobremesas lácteas de chocolate, sendo três pudins com açúcar, cinco pudins dietéticos e dois flans comerciais. A análise sensorial foi realizada por 56 provadores não treinados, utilizando-se a escala hedônica estruturada de 9 pontos. Os resultados demonstraram que os pudins com açúcar obtiveram heterogeneidade nas médias de aceitação, e porcentagem de aprovação entre 52 a 86%. Os flans tiveram aceitação intermediária e os pudins dietéticos obtiveram boa aceitação.

Fuchs et al. (2006) desenvolveram um iogurte simbiótico, contendo as culturas starter *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*, além de *Lactobacillus casei*, como probiótico, e inulina e oligofrutose, como prebióticos. Os iogurtes foram adoçados com dois tipos de edulcorantes. Os autores realizaram testes de aceitação com 50 provadores não-treinados, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos. Os resultados demonstraram que não houve diferença significativa entre a aceitação dos iogurtes adoçados com os dois tipos diferentes de edulcorantes e ambos apresentaram índice de aceitação acima de 80%.

Para a avaliação sensorial realizada com queijo petit-suisse potencialmente probiótico, adicionado de diferentes gomas, Maruyama et al. (2006) utilizaram 35 provadores não treinados. Os autores observaram que a formulação contendo *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium longum*, somada à proporção 2,5 (xantana): 2,5 (carragena): 5 (guar), apresentaram maior preferência do que os outros queijos petit-suisse com teores diferentes destas gomas.

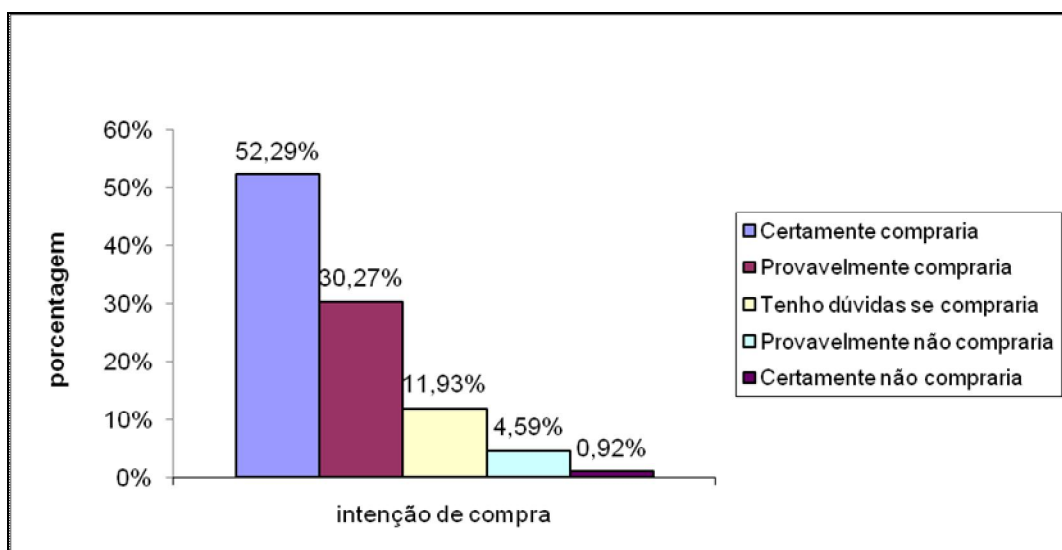
Na análise sensorial de flan de coco probiótico, Côrrea et al. (2007) observaram uma tendência de melhor pontuação para o flan de coco contendo probiótico, em comparação ao flan controle, no qual não havia adição de culturas probióticas. A combinação de culturas *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium lactis*, no flan, não produziu interferência significativa na aceitabilidade do flan próximo a vida útil, porém, observou-se uma tendência para a redução da pontuação quando ambos os microrganismos estiveram presentes na formulação do flan.

Aragon-Alegro et al. (2007) desenvolveram uma mousse de chocolate probiótica e os resultados revelaram que a adição de *Lactobacillus paracasei* não interferiu nas preferências sensoriais do produto.

Buriti et al. (2008) avaliaram o efeito da adição do probiótico *Lactobacillus paracasei* e da fibra prebiótica inulina sobre o perfil de textura e as características sensoriais de queijo fresco cremoso, sendo T1 (*Streptococcus thermophilus* + *L. paracasei* subsp. *paracasei*), T2 (*Streptococcus thermophilus* + *L. paracasei* subsp. *paracasei* + inulina) e T3 (*Streptococcus thermophilus*). A análise sensorial foi conduzida aos sete dias de armazenamento dos queijos. Os queijos T1 apresentaram a menor preferência na análise sensorial e diferiram significativamente de T2 e T3 ( $p < 0,05$ ). Os autores atribuem este fato ao sabor ácido, relatado por uma parcela dos provadores. Em contrapartida, T2 foi o preferido, porém, não apresentando diferença estatística significativa de T3 ( $p > 0,05$ ). Os autores concluíram, ainda, que a adição de inulina ao queijo fresco cremoso produzido com uma cepa potencialmente probiótica de *Lactobacillus paracasei* resultou

em um produto com características adequadas e com propriedades funcionais agregadas.

A intenção de compra do produto, pelos 109 provadores que realizaram o teste, está representada na Figura 9.



**Figura 9** - Intenção de compra dos provadores em relação queijo cremoso sabor tomate seco.

Conforme pode ser observado na Figura 9, se o queijo cremoso sabor tomate seco fosse lançado no mercado, 52,29% dos provadores certamente comprariam o produto e 30,27%, provavelmente compraria. Somente 11,93% dos consumidores responderam que teriam dúvidas se comprariam, 4,59% disseram que provavelmente não comprariam e 0,92%, que certamente não comprariam o produto.

Santana et al. (2006) avaliaram a aceitabilidade e a intenção de compra de três amostras de iogurte light, sabor pêssego, contendo pedaços da fruta. Os iogurtes diferiam apenas em relação a alguns ingredientes, sendo a amostra A, produzida com leite e/ou leite reconstituído, a amostra B, com soro de leite e a amostra C, com proteína de soja. Os produtos foram avaliados por 40 provadores previamente selecionados. Para a análise, foi utilizada uma

escala não-estruturada de nove centímetros. Para avaliar a intenção de compra, os autores utilizaram uma escala estruturada de cinco pontos, variando de 5 (certamente compraria o produto), até 1 (certamente não compraria o produto). Os resultados observados pelos autores revelaram que o iogurte C foi muito bem aceito, em relação a todos os atributos avaliados, não sendo detectada, pelos provadores, a presença de proteínas de soja, que confere sabor não muito apreciado por algumas pessoas. No entanto, em relação à intenção de compra, observou-se que os consumidores apresentaram 45% de intenção de compra para o iogurte A e C e 62,5% de intenção de compra para a amostra B.

No presente trabalho, 85,96% dos provadores que “Certamente comprariam o produto” deram nota entre 8,1 à 10 no teste de aceitação, enquanto 14,04%, deram nota de 6,1 à 8,0. As notas de 51,52% dos provadores que “Provavelmente comprariam o produto”, permaneceram entre 8,1 à 10 e 48,48% dos provadores deram notas entre 6,1 à 8,0. Em relação ao item “Tenho dúvidas se compraria” 30,77% dos provadores deram notas entre 6,1 à 8,0 e 69,23% dos provadores assinalaram notas entre 4,1 à 6,0. Quanto ao item “Provavelmente não compraria” 80% dos provadores assinalaram notas entre 2 à 4,0 e 20% dos provadores deram notas entre 4,1 à 6,0. No item “Certamente não compraria”, o único provador a assinalar este item deu nota entre 2 à 4,0.

Uma tendência semelhante pode ser observada em um estudo proposto por Oliveira (2008), no qual elaborou-se 4 formulações de leite fermentado, sendo uma padrão sem probiótico (P); uma com 3% de goma acácia (A); uma com 3% de inulina (B) e uma última contendo 1,5% de inulina + 1,5% de goma acácia (C). Na análise sensorial utilizou-se o teste de preferência com escala hedônica de 9 pontos e participaram da análise 60 provadores não-treinados. Os resultados demonstraram que o produto C apresentou maior índice de aceitação, com 93%, seguido pelas amostras A, B e P, com 92%, 90% e 85%, respectivamente. Verificou-se que a formulação com maior índice de aceitação foi a que recebeu maior votação, no teste de intenção de compra, em relação a “Sim, eu compraria o produto”.

## 5.5 Teste Triangular

Os resultados do teste Triangular demonstraram que, dos 42 participantes, apenas 13 assinalaram a amostra diferente corretamente, que era a representada pela sequência 701. Utilizando-se a tabela da *American Society for Testing and Materials* verificou-se que não existe diferença entre a amostra do queijo controle e do queijo probiótico.

Como verificado neste trabalho, altas contagens de *Lactobacillus*, em queijo Cheddar, não provocaram alterações significativas nas características sensoriais deste queijo, pois apresentaram sabor e textura similares ao queijo controle (GARDINER et al. 1998 ; STANTON et al. 1998).

## 6 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste trabalho, pôde-se concluir que:

- o microrganismo probiótico *Lactobacillus paracasei* permaneceu viável durante os 21 dias de armazenamento do produto sob refrigeração, mantendo sua população sempre maior que  $10^6$  UFC/g de queijo.

- A acidez e o pH não atingiram valores críticos, a ponto de impedirem a sobrevivência e a multiplicação de *Lactobacillus paracasei* no produto.

- o queijo cremoso sabor tomate seco teve boa aceitação pelos consumidores e a maioria deles relatou a intenção de compra do produto. Não foi identificada diferença sensorial entre o queijo com probiótico e o queijo sem probiótico.

- os resultados do teste Triangular demonstraram que não existe diferença entre a amostra do queijo controle e do queijo probiótico.

## 7 REFERÊNCIAS

- A.O.A.C Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Washington, 1995. 109 p.
- ALEGRO, J. H. A. **Desenvolvimento de queijo Minas frescal probiótico com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* isolados e em co-cultura**. São Paulo: 2003, Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – São Paulo, 2006.
- ALMEIDA, T. C. A; HOUGH, G; DAMÁSIO, M.H; SILVA, M. A. A. P. **Avanços em análise sensorial (*Avances en análisis sensorial*)**, São Paulo: Varela, 1999, 283p.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Manual of Sensory Testing Methods**. STP 434. ASTM, p. 77, 1968.
- AMIOT, J. **Ciência y Tecnología de la leche**. Zaragoza: Acribia. 1991.
- ARAGON-ALEGRO, L. C. et al. Potentially probiotic and symbiotic chocolate mousse. **LWT – Food Science and Technology**, v. 40, p. 669-675, 2007.
- BLANCHETTE, L. et al. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **Journal Dairy Science**, Lancaster, v. 79, p. 8-15, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. **Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análises e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos**. Brasília, 1999.
- BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. São Paulo: 2005, 86 f. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – São Paulo, 2005.
- BURITI, F. C. A. et al. Probiotic potencial of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**. Amsterdam, v. 38, n.2 p. 173-180, 2005.
- BURITI, F. C. A. et al. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**. n. 104, p. 1605-1610, 2007.
- BURITI, F. C.A. et al. Sybiotic potential of fresh cream chesse supplemented whit inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, n. 104, p. 1605-1610, 2007.
- BURITI, F. C. A. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 1, jan./mar., 2008.
- CARDARELLI, H. R. **Desenvolvimento de queijo petit-suisse simbiótico**. São Paulo: 2006, Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – São Paulo, 2006. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-21092006-012549/>. Acesso em: 12 abr. 2008.



CORRÊA, S. B. M. et al. Probiotic potential and sensory properties of coconut flan supplemented with *Lactobacillus paracasei* and *Bifiobacterium lactis*. **Internacional Journal of Food Science and Technology**, 2007.

DA RE, R. **Desempenho de crianças em testes sensoriais discriminativos e afetivos com escalas híbridas ilustradas**. Campinas: 2006, Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos – Campinas, 2006. <http://libdigi.unicamp.br/document/?code=vtls000376285>. Acesso em: 21 mai. 2008.

DE ANGELIS, R. C. Alimentos de origem vegetal são saudáveis: verdades e alguns questionamentos. **Nutrição em Pauta**, v. 57. p. 30-34, 2002.

FERREIRA, et al. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000.

FOX, P.F. et al. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, 2000. 587p.

FOX, P.F; McSWEENEY, P.L.H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. Blackie Academic & Professional, 1998.

FUCHS, R. H. B. et al. Utilização de *Lactobacillus casei* e cultura iniciadora na obtenção de iogurte suplementado com inulina e oligofrutose. Curitiba: **B. CEPPA**. v. 24, n.1, p. 83-98, jan./jun., 2006.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal Applied Bacteriology**, Oxford, v.66, p.365-378, 1989.

GARDINER, G. R. et al. Development of a probiotic Cheddar cheese containing human derived *Lactobacillus paracasei* strains. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 64, p. 2192-2199, 1998.

GILLILAND, S.E. Beneficial interrelationships between certain microorganisms and humans: candidate microorganisms for use as dietary adjuncts. **Journal Food Protection**, Des Moines, v.42, n.2, p.164-167, 1979.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Biociência Alimento**. São Paulo, n. 64, dez., 1999.

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

GRITTENDEN, G. R. Prebiotics. In: TANNOCK, G. W., ed. **Probiotics: a critical review**. Wyomndham: Horizon Scientific, p. 141-156, 1999.

HAVENAAR, R.; BRINK, T.; HUIS IN'T VELDT, J.H.J. In: FULLER, R., ed. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman and Hall, 1992. P. 209-224.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. Gaithersburg: Aspen Publication, 2000. 679 p.

LEE, Y. K. et al. **Handbook of probiotics**. New York: Wiley, 1999. 211p.

- LEE, Y-K; SALMINEN, S. The coming of age of probiotics. **Trends in Food Science & Technology**. v. 6, jul., p. 241-245, 1995.
- LITTELL, R.C. et al. **SAS System for Mixed Models**, Cary, NC: SAS Institute Inc. 1996.
- MARAGKOUDAKIS, P.A. et al. Production of traditional Greek yoghurt using Lactobacillus strains with probiotic potential as starter adjuncts. **Internacional Dairy Journal, Barking**, v. 16, n. 1, p. 52-60, 2006.
- MARUYAMA, L. Y. et al. **Avaliação sensorial de queijo “petit-suisse” potencialmente probiótico adicionado de diferentes gomas**. Anais da 58ª Reunião Anual da SBPC. Florianópolis. jun. 2006.
- MATTILA-SANDHOLM, T. The PROBDEMO project: demonstration of the nutritional functionality of probiotic foods. **Trends Food Science Technology**, Amsterdam, v.10, p.385-386, 1999.
- MEDICI, M. et al. Gut mucosal immunomodulation by probiotics fresh cheese. **Internacional Dairy Journal**, Amsterdam, v. 14, p. 611-618, 2004.
- MINIM, V. P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2006.
- MORGADO, F.E.F.; BRANDÃO, S.C.C. Ultrafiltração do leite para a fabricação de queijo tipo petit suisse. **Indústria de Laticínios**. p. 35-39, jan.-fev.,1998.
- NAIDU, A.S.; CLEMENS, R.A. Probiotics. In: NAIDU, A.S. **Natural food antimicrobial systems**. Boca Raton, CRC, p. 431-462, 2000.
- OLIVEIRA, L. B. **Efeito da goma acácia e inulina na viabilidade de bactérias probióticas e nas características físico-químicas de leite fermentado simbiótico**. São Caetano do Sul: 2008, Dissertação de Mestrado – Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. Disponível em: [www.maua.br/arquivos/dissertacao/h/56e5b5bb9e16bb86](http://www.maua.br/arquivos/dissertacao/h/56e5b5bb9e16bb86). Acesso em: 19 nov. 2008.
- OLIVEIRA, M. da C. L.de. **Avaliação sensorial e caracterização química de queijo fresco cremoso obtido por ultrafiltração de leite fermentado e de bebida láctea elaborada a partir do permeado**. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, 2004, Disponível em: <http://www.tede.ufsc.br/teses/PCAL0163.pdf>. Acesso em 20 jul.2008.
- OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M.R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p.172-176, dez.2003.
- OLIVEIRA, M.N et al. Aspectos Tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n.1, jan.mar., 2002.
- OLIVEIRA, V. M. de. **Formulação de bebida láctea fermentada com diferentes concentrações de soro de queijo, enriquecida com ferro: caracterização físico-química, análises bacteriológicas e sensoriais**. Niterói: 2006, Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Niterói, 2006. [http://www.uff.br/higiene\\_veterinaria/teses/vinicius\\_oliveira\\_completa\\_mestrado.pdf](http://www.uff.br/higiene_veterinaria/teses/vinicius_oliveira_completa_mestrado.pdf). Acesso em: 21 mai. 2008.

- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.
- ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-110, 2002.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n.1, jan./mar., 2006.
- SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Review**, New York, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003.
- SANTANA, L. R. R. Perfil sensorial de iogurte light sabor pêssego. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 619-625, jul./set.,2006.
- SCHNEIDER, F. et al. **Resposta técnica**: Análise sensorial para bebidas lácteas fermentadas. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas (SBRT) – Senai. Rio Grande do Sul. 2006. <http://www.sbrt.ibict.br>. Acesso em: 19 mai. 2008.
- SHAH, N. P.; RAVULA, R.R Influence of water activity on fermentation, organic acid production and viability of yogurt and probiotic bacteria. **Australian Journal Dairy Thecnology**, Melbourne, v. 55, n. 3, p. 127-131, 2000.
- SHAH, N.P. Probiotic bacteria:selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 83, n. 4, p. 894-907, 2000.
- SOUSA, J. S.; SILVA, A. Informações técnicas: Probióticos. 2002. [http://www.laticinio.net/inf\\_tecnicas.asp?cod=](http://www.laticinio.net/inf_tecnicas.asp?cod=). Acesso em: 12 abr. 2008.
- SPREER, E. **Lactologia industrial**. Zaragoza: Acríbia, 1991.
- STANTON, C. et al. Market potential for probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, v. 73, n. 3, p. 476-483, 2001.
- STANTON, C. et al. Probiotic cheese. **Internacional Dairy Journal**, Amsterdam, v. 8, p. 491-497, 1998.
- SVENSSON, U. Industrial perspectives. In: TANNOCK, G.W. **Probiotics: a critical review**. Wymondham: Horizon Scientific Press, 1999. P. 57-64.
- TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS / NEPA-UNICAMP**.- Versão II. 2. Ed. Campinas, São Paulo: NEPA-UNICAMP, 2006. 113 p.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n.3 p. 393-400, 2005.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 26, n. 3, jul./set., 2006.
- TUOHY, K.M. et al. Using probiotics and prebiotics bacteria used for fermented dairy products. **Journal Dairy Science**, Savoy, v. 85, p.721-729, 2002.
- VAN DENDER, A. G. F.; VALLE, L.J.E.; GARCIA, S.; MORENO, I. Adaptação da tecnologia de fabricação e termização do queijo quark. **Revista do ILCT**, v. 40, n. 239, p. 33 – 53, 1985.

VILLANUEVA, N. D. M. Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. **Food Quality and Preference**. n.16, p. 691-703, 2005.

ZACARCHENCO, P. B.; MASSAGUER-ROIG, S. Avaliação sensorial, microbiológica e de pós-acidificação durante a vida-de-prateleira de leites fermentados contendo *Streptococcus*, *Bifidobacterium longum* e *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 674-679, out./dez. 2004.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics, prebiotics and sybiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **Internacional Dairy Journal**, Amerstam, v. 8, p. 473-479, 1998.

ZUBILLAGA, M. et al. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. **Nutricional Researche**, New York, v. 21, p. 569-579, 2001.