



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE**

BÁRBARA CAMILLA DOMINGUES ARRAIS

**DESENVOLVIMENTO DE RICOTA FUNCIONAL:
AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

Londrina
2015

BÁRBARA CAMILLA DOMINGUES ARRAIS

**DESENVOLVIMENTO DE RICOTA FUNCIONAL:
AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E
MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO**

Dissertação apresentada à UNOPAR, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite.

Orientadora: Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza

Londrina

2015

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.**

**Dados Internacionais de catalogação-na-publicação
Universidade Norte do Paraná
Biblioteca Central
Setor de Tratamento da Informação**

A797d	<p>Arrais, Bárbara Camilla Domingues Desenvolvimento de ricota funcional: avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do produto / Bárbara Camila Domingues Arrais. Londrina: [s.n], 2015. 57f.</p> <p>Dissertação (Mestrado). Ciência e Tecnologia do Leite – Fabricação de Derivados. Universidade Norte do Paraná. Orientadora: Profª Drª. Cíntia Hoch Batista de Souza</p> <p>1- Tecnologia do leite- dissertação de mestrado – UNOPAR 2- Prebiótico 3- Probiótico 4- Soro de leite 5- Textura instrumental I- Souza, Cíntia Hoch Batista de, orient. II- Universidade Norte do Paraná.</p> <p>637.1</p> <p style="text-align: right;">CDU</p>
-------	--

BÁRBARA CAMILLA DOMINGUES ARRAIS

DESENVOLVIMENTO DE RICOTA FUNCIONAL: AVALIAÇÃO DAS
CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO
PRODUTO

Dissertação apresentada à UNOPAR, no Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, área e concentração em Ciência e Tecnologia do Leite, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre conferida pela Banca Examinadora formada pelos professores:

Profa. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza
UNOPAR

Prof. Dra. Lina Casale Aragon Alegro
UNOPAR

Dra. Ana Paula Pavão Battaglini
Agência de Defesa Agropecuária do Paraná

Londrina, 16 de março de 2015.

Dedico este trabalho a Deus, que jamais põe um sonho em nosso coração sem nos dar os meios para concretizá-lo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar e iluminar minha vida.

À minha amada família, pelo apoio incondicional. Em especial aos meus pais, Gilvan e Sirlene, pelo incentivo, compreensão e por todo sacrifício realizado.

Ao meu noivo, Gilmar, pelo carinho e paciência.

À Prof. Dra. Cíntia Hoch Batista de Souza pela orientação, dedicação, auxílio, amizade e confiança.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À CONFEPAR, Agro-Industrial Cooperativa Central, especialmente ao professor Dr. Bruno Garcia Botaro, pelo fornecimento do soro de leite em pó.

Aos alunos de iniciação científica, Caio Moura, Evelyn Marssola, Tayna Ferreira e Thiago Borges, pelo auxílio na fabricação das ricotas e análises.

Às colegas de curso, pela amizade e convivência. Em especial a Evelyn Koga e a Marisa Marroni Mexia pela colaboração na elaboração deste trabalho.

Às técnicas dos laboratórios Flávia Kawahigashi e Geyci Colognesi por toda atenção e bondade.

À todos que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, meu muito obrigada.

“Nem tudo que se enfrenta pode ser modificado,
mas nada pode ser modificado até que seja enfrentado.”
Albert Einstein

ARRAIS, B. C. D. **Desenvolvimento de ricota funcional**: avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do produto. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite) – UNOPAR, Londrina, 2015.

RESUMO

Atualmente, o desenvolvimento de produtos funcionais, como os que contêm probióticos e prebióticos, tem sido de grande importância, uma vez que o consumidor tem se interessado cada vez mais por alimentos mais saudáveis. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma ricota funcional e avaliar a influência da adição do prebiótico inulina sobre suas características físico-químicas, principalmente sobre a firmeza, bem como a viabilidade da cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e seu possível efeito bioconservante no produto, durante o armazenamento por 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Para isso, quatro formulações de ricota foram produzidas: sem adição de inulina e/ou cultura probiótica (controle – R1), com adição de cultura probiótica (R2), com adição de inulina (R3) e com adição de inulina e cultura probiótica (R4). Avaliaram-se as características físico-químicas (pH, acidez livre titulável e textura) e microbiológicas (viabilidade de La-5 e presença de bolores e leveduras). As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas após 1, 7, 14 e 21 de armazenamento sob refrigeração a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. Os valores de pH e acidez das formulações R2 e R4 apresentaram uma maior variação quando comparados com a controle. Para R4, foram observados os menores valores de pH, quando comparados às demais formulações. A contagem de *Lactobacillus acidophilus* La-5 nas ricotas R2 e R4 mantiveram-se acima de 10^7 UFC/g durante todo o período de armazenamento, permitindo a classificação destas como probiótica e simbiótica, respectivamente. A adição de inulina em R4 favoreceu positivamente a contagem de La-5. A cepa La-5 não foi capaz de exercer um efeito bioconservante nos produtos. As ricotas adicionadas de inulina apresentaram um aumento progressivo na firmeza, quando comparadas às demais ($p < 0,05$), no entanto, isto não afetou negativamente os produtos. Dessa forma, pode-se sugerir a ricota como uma matriz láctea alternativa para a ingestão de *L. acidophilus* La-5 e/ou inulina.

PALAVRAS CHAVE: Prebiótico. Probiótico. Soro de leite. Textura instrumental.

ARRAIS, B.C.D. **Desenvolvimento de ricota funcional:** avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do produto. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite) – UNOPAR, Londrina, 2015.

ABSTRACT

Nowadays, the manufacture of functional foods containing prebiotics and probiotics have been of great importance, since consumers have increasingly been interested for healthier foods. The objective of this study was evaluate the influence of the addition of prebiotic inulin on the physico-chemical characteristics of ricotta, mainly on the texture, as well as the viability of probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5 and its possible effect biopreservative on the product during storage for 21 days at 4 ± 1 ° C. For this, four ricotta formulations were produced: R1 (without inulin and / or probiotic culture supplementation), R2 (supplementation with La-5), R3 (supplementation with inulin) and R4 (supplementation with inulin and La-5). The physico-chemical (pH, titratable acidity and firmness) and microbiological characteristics (La-5 viability and the presence of molds and yeasts) were evaluated after 1, 7, 14 and 21 days of storage under refrigeration at 4 ± 1 ° C. The pH and titratable acidity values varied significantly for R2 and R4 ($p < 0.05$). For R4, the lower pH values were observed when compared to the other formulations. *Lactobacillus acidophilus* La-5 populations in R2 and R4 ricottas remained above 10^7 CFU / g during the whole storage period, allowing classifying these as probiotic and synbiotic, respectively. The addition of inulin in R4 positively promoted La-5 populations. The La-5 strain was not able to exert an biopreservative effect on products. The ricotta supplemented with inulin showed a progressive increase in hardness, when compared to the others ($p < 0.05$). However this result did not negatively affect the product. Thus, it can be suggested the ricotta as an alternative dairy matrix for to the intake of *L. acidophilus* La-5 and / or inulin.

KEY-WORDS: Prebiotic. Probiotic. Cheese whey. Instrumental texture.

SUMÁRIO

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
1.1 SORO DE LEITE.....	9
1.2 QUEIJO RICOTA.....	10
1.3 PREBIÓTICOS.....	12
1.3.1 INULINA.....	13
1.4 PROBIÓTICOS.....	15
1.4.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5.....	17
1.5 SIMBIÓTICOS.....	19
1.6 A RICOTA COMO UM POTENCIAL ALIMENTO FUNCIONAL.....	20
2. REFERÊNCIAS.....	22
3. OBJETIVOS.....	32
3.1 OBJETIVO GERAL.....	32
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
4. ARTIGO.....	33

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 SORO DE LEITE

O soro de leite é o líquido residual obtido a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína (BRASIL, 2005). Esse importante co-produto, gerado pelos laticínios apresenta-se como um líquido opaco, aguado e fino, de coloração amarela/verde, variando suas características de acordo com a qualidade do leite e tipologia de processamento (ALVES et al., 2014; SMITHERS, 2008).

Este subproduto apresenta cerca de 55% dos nutrientes do leite (proteínas solúveis, lactose, vitaminas, minerais e uma quantidade mínima de gordura) (ALVES et al., 2014; LIVNEY, 2010; SMITHERS, 2008).

O soro de leite pode ser obtido por três operações principais: pela coagulação enzimática, resultando na coagulação das caseínas e no soro doce; pela precipitação ácida no pH isoelétrico das caseínas (pH = 4,6), resultando na caseína isoelétrica e no soro ácido; e pela separação física das micelas de caseína por microfiltração, utilizando-se membranas de 0,1 μm , obtendo-se um concentrado de micelas e as proteínas do soro (MORIN et al., 2007). Dessa forma, a composição do soro e o seu sabor, ligeiramente ácido ou doce, dependem do tipo de coagulação do leite e da operação de fabricação do queijo (ALVES et al., 2014).

Por muitas décadas o soro de leite foi um problemático subproduto da indústria leiteira, pois 90% do leite destinado à fabricação de queijos é convertido em soro, que era lançado em rios e sistemas de esgoto. Porém, o reconhecimento de problemas ambientais, a expansão e sofisticação do mercado, juntamente com o avanço da tecnologia e interesse na recuperação dos constituintes do soro, fez com que este se tornasse um produto valioso (McSWEENEY, 2007; SMITHERS, 2008). De fato, o soro de leite possui alto valor nutricional devido à presença de aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B, proteínas (lactoferrina, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina, glicomacropéptidos, imunoglobulinas e a albumina de soro bovino) e minerais importantes, como o cálcio. Assim, empresas que buscam inovação utilizam-se de ingredientes funcionais associados ao uso de soro de leite como

matéria-prima para obtenção de novos alimentos e bebidas (BALDISSERA et al., 2011; CATTANEO et al., 2013; FRITZEN-FREIRE, 2013; SMITHERS, 2008).

Com isso, além da produção dos chamados “queijos de soro de leite”, uma das formas mais comuns de se aproveitar esse co-produto (McSWEENEY, 2007; SMITHERS, 2008), novas formas de utilização fez com que o soro de leite fosse reconhecido como um dos mais versáteis produtos da indústria de alimentos e como uma fonte útil de proteínas de alta qualidade nutricional e funcional (BALDISSERA et al., 2011). Na literatura, pode-se encontrar relatos do uso do mesmo não só no desenvolvimento de produtos como bebidas lácteas (ALMEIDA, BONASSI, ROÇA, 2001; KRÜGER et al., 2008; THAMER; PENNA, 2006) e filmes protéicos (YOSHIDA; ANTUNES, 2009; CERQUEIRA et al., 2011), mas também no enriquecimento de alimentos, como bebidas lácteas enriquecidas com proteínas e sais minerais do soro de leite (PEREGRINE; CARRASQUEIRA, 2008), pão de forma enriquecido com soro de leite em pó (LIMA et al., 2009) e bolos (ZAVAREZE; MORAES; SALAS-MELLADO, 2010). Além disso, o soro de leite já foi adicionado em alimentos a fim de melhorar as características do produto, como retenção de iogurte desnatado (ANTUNES; CAZZETTO; BOLINI, 2004) e substituição de outro ingrediente, como na fabricação de sorvetes (SILVA; BOLINI, 2006).

1.2 QUEIJO RICOTA

Um pequeno grupo de queijos é produzido através da coagulação por uma combinação da aplicação de calor e ácido. O mais importante membro desse subgrupo é a ricota, um queijo de origem italiana, produzido a partir de soro de leite. O nome “Ricota” é derivado do italiano *ricottura*, que significa “requentada” (FOX et al., 2000; SMITHERS, 2008). No Brasil, o único regulamento vigente que descreve parâmetros de identidade e qualidade para a ricota é o regulamento de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal, que a define como:

“produto obtido da albumina do soro de queijos, adicionado de leite até 20% (vinte por cento) do seu volume, tratado convenientemente e tendo o máximo de três dias de fabricação”, devendo o mesmo

apresentar-se com uma consistência mole, não pastosa e friável; crosta rugosa, não formada ou pouco nítida; textura fechada ou com alguns buracos mecânicos; cor branco ou branco-creme e odor e sabor próprios (BRASIL, 1952).

Assim, a ausência de um regulamento técnico específico para este produto, com a classificação, definições das características, aditivos e dos padrões físico-químicos, o controle oficial da qualidade das ricotas produzidas é prejudicado, o que resulta na falta de padronização do produto, além de comprometer a segurança dos consumidores.

A ricota é tradicionalmente preparada pelo aquecimento do soro de leite, com adição ou não de soro e leite. Para a realização desta etapa, procede-se à acidificação induzida pelo calor (85-90°C) e algum agente de acidificação (ácido acético/ cítrico), a fim de coagular as proteínas do soro de leite e/ou caseína. A massa coagulada permanece na superfície, sendo retirada e colocada em formas perfuradas, próprias para a drenagem do soro residual. O rendimento típico desse tipo de queijo é de apenas 6%; no entanto, a adição de leite ou uma pré-concentração do soro pode melhorá-lo (MODLER; EMMONS, 2001; PRUDÊNCIO et al., 2014; SMITHERS, 2008).

Devido a algumas características, como pH (5,9) e alto teor de umidade (~73%), mesmo sob refrigeração, a ricota é muito susceptível à deterioração microbiológica e, portanto, apresenta uma vida de prateleira relativamente curta (1 a 3 semanas sob refrigeração a 4±1°C) (Di PIERRO et al., 2011; FOX et al., 2000; SMITHERS, 2008).

A ricota, devido ao seu baixo teor de gordura, alta digestibilidade e ausência ou porcentagem reduzida de sal, é considerada um produto leve, sendo mundialmente consumido em dietas alimentares (HOUGH et al., 1999). Além disso, apresenta-se como um produto versátil, podendo ser comercializada de várias formas: defumada, condimentada ou cremosa, na forma prensada ou em potes (RIBEIRO et al., 2005).

Diversos estudos tem sido desenvolvidos a fim de agregar valores a esse produto. Maia, Ferreira e Abreu (2004) desenvolveram uma ricota com açafão a fim de reduzir a contaminação microbiana. Di Pierro et al. (2011) revestiram a ricota com filme de proteína do soro e quitosana a fim de estender a vida de prateleira do produto. Fritzen-Freire et al. (2013) aplicaram microcápsulas de probiótico com prebiótico a fim de avaliar seu efeito nas

propriedades do creme de ricota. Outras características, como sabor e aroma deste alimento também tem sido estudadas. Andrade et al. (2014) avaliaram as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de ricota em pasta condimentadas. Silva et al. (2014) estudaram o processamento de ricota natural e condimentada quanto às características sensoriais e microbiológicas.

1.3 PREBIÓTICOS

Os prebióticos podem ser definidos como “ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro por estimularem seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou de um número limitado de bactérias no cólon e, portanto, melhoram a saúde do hospedeiro”. No entanto, para que um ingrediente alimentar seja um prebiótico é necessário que esse apresente resistência ao ácido gástrico, à hidrólise enzimática e não seja absorvido pelo trato gastrointestinal; seja seletivamente fermentado pela microbiota intestinal; e principalmente, estimule seletivamente a multiplicação e/ou atividade das bactérias intestinais que contribuem para a saúde e bem-estar (GIBSON; ROBERFROID, 1995; ROBERFROID, 2007a).

Com relação aos benefícios dos prebióticos, pode-se citar o efeito bifidogênico, modulações de funções fisiológicas chaves, como a absorção de cálcio, redução do risco de aparecimento do câncer de cólon, estimulação da defesa intestinal, reduzindo a incidência de diarreia, melhora nos parâmetros lipídicos sanguíneos e aumento da saciedade (GIBSON; ROBERFROID, 1995; HAULY; MOSCATTO, 2002; ROBERFROID, 2000; SAAD, 2006; SANDERS, et al., 2014). Os prebióticos identificados para utilização em alimentos são carboidratos não-digeríveis. Dentre esses estão incluídos a lactulose, o lactitol, o xilitol, a inulina e alguns oligossacarídeos não digeríveis, que fornecem carboidratos que as bactérias benéficas do intestino, principalmente as presentes no cólon, são capazes de fermentar. Dentre esses prebióticos citados, a inulina e os frutoligossacarídeos (FOS) são os mais investigados (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008; GIBSON; ROBERFROID, 1995; SAAD, 2006).

1.3.1 INULINA

A inulina é uma fibra solúvel. Trata-se de um carboidrato cuja cadeia é composta predominantemente por unidades de frutose (2 a 150), com uma unidade de glicose terminal (GFn). A ligação entre as moléculas de frutose é do tipo β 2-1, estando essas moléculas em quantidade variável (~20-50). Assim, a inulina é uma substância polidispersa em polímeros de frutose, apresentando variação no grau de polimerização (GP), variando entre 2 e 65, com GP médio de 12 (APOLINÁRIO, et al., 2014; CHI et al., 2011; GOMES et al., 2007; KELLY, 2008; ROBERFROID, 2005).

Uma interessante fonte de inulina é a alcachofra de Jerusalém (*Helianthus tuberosus*), que contém um polifrutano (aproximadamente 75-80% massa seca) com um grau de polimerização de 3-30 unidades de glicose. Além da alcachofra, a inulina está presente em quantidades significativas em vegetais como aspargo, alho-poró, alho e trigo (APOLINÁRIO, et al., 2014; CHI et al., 2011; GOMES et al., 2007).

Este prebiótico também é comumente extraído da chicória (*Cichorium intybus*), cuja raiz contém aproximadamente de 15 a 20% de inulina. Após a extração e secagem, a inulina se apresenta como um pó branco, amorfo, higroscópico, com odor e sabor neutros (APOLINÁRIO et al., 2014; HAULY; MOSCATTO, 2002).

A inulina é utilizada no processamento de alimentos por apresentar propriedades promotoras de saúde e melhorar aspectos sensoriais nos mesmos (APOLINÁRIO et al., 2014; FRANCK, 2002; GONÇALVES; ROHR, 2009). Com relação às propriedades fisiológicas e nutricionais, por ser resistente à digestão na porção superior do trato intestinal e alcançar o intestino grosso praticamente intacta, onde será fermentada pelas bactérias benéficas, a inulina possui características de fibra alimentar solúvel (HAULY; MOSCATTO, 2002; KOLIDA; GIBSON, 2007; ROBERFROID, 2007a), o que pode trazer benefícios para o sistema digestivo, pois a ingestão de ingredientes prebióticos melhora o equilíbrio da microbiota intestinal humana, aumentando significativamente as populações de bifidobactérias (principalmente) e lactobacilos benéficos, inibindo os patógenos. Com isso, outras funções do organismo também podem ser melhoradas, como por exemplo, a absorção dos

nutrientes como cálcio, magnésio e ferro (BORTOLOZO; QUADROS, 2007; GARCÍA; CÁCERES; SELGAS, 2006; KOLIDA; GIBSON, 2007; MORRIS; MORRIS, 2012; ROBERFROID, 2005). Tecnicamente, a inulina pode ser utilizada como substituto da gordura em alimentos, uma vez que estabiliza a água em uma estrutura cremosa, mantendo a mesma percepção de paladar de gordura, porém, com reduzido valor calórico. Dessa forma, esse ingrediente pode ser utilizado como composto retentor de água, em emulsões, ou mesmo para modificar a textura e a viscosidade dos alimentos. Além disso, a inulina apresenta a capacidade de formar microcristais altamente estáveis, quando misturada com água e leite. Estes microcristais interagem para formar uma mistura cremosa e macia, promovendo a sensação de presença de gordura, contribuindo assim com as propriedades reológicas e texturais do alimento (APOLINÁRIO et al., 2014; BORTOLOZO; QUADROS, 2007; CHI et al., 2011; GARCÍA; CÁCERES; SELGAS, 2006; MEYER et al., 2011; SANTOS; GOULART; RAMOS, 2012).

A solubilidade da inulina varia em função da temperatura da água, a qual é de aproximadamente 6% a 10°C, enquanto que a 90°C é de 35%, o que dificulta seu emprego à temperatura ambiente (HAULY; MOSCATTO, 2002). No entanto, este ingrediente é pouco estável a pH inferior a 4 e a temperaturas maiores que 180°C, substituindo matérias graxas sem grandes modificações no processo de fabricação (GOMES et al., 2007).

A funcionalidade da inulina está baseada em seu efeito sobre soluções aquosas a vários níveis de sólidos. À medida que a concentração de inulina aumenta, a viscosidade aumenta gradativamente (HAULY MOSCATTO, 2002).

Na literatura científica mundial, não existe um consenso quanto à concentração mínima a ser ingerida para que inulina exerça os efeitos benéficos mencionados. Estudos em humanos mostraram que uma dose de 5 gramas por dia de inulina é suficiente para alterar a microbiota intestinal pelo aumento da população de bifidobactérias (BOUHNİK et al., 2007). No entanto, outros estudos, como o realizado por Klessen et al. (1997) demonstram que é necessário o consumo diário de 20 a 40 gramas de inulina para ocorrer um aumento das populações de bifidobactérias nas fezes. Machado et al. (2001) relataram que o consumo de 15 g diárias de inulina não produziu aumento significativo na absorção de cálcio em adultos saudáveis, porém com uma

suplementação da dieta com 40 gramas por dia de inulina gerou um aumento significativo (58%) na absorção de cálcio. Porém, segundo Roberfroid (2007a), a dose diária de um frutano do tipo inulina não é um fator determinante de seu efeito prebiótico, pois a dose diária de um prebiótico não se correlaciona com o número absoluto de novas células bacterianas que surgem como consequência da ingestão do prebiótico, e sim com a composição da microbiota fecal (especialmente o número de bifidobactérias antes da ingestão do prebiótico), o que é característico de cada indivíduo. Portanto, o que determina a eficácia de um prebiótico não é necessariamente a dose em si. O prebiótico ingerido estimula a multiplicação da população de probióticos presentes no ambiente intestinal humano, principalmente as bifidobactérias, e quanto maior for esta população, maior será o número de novas células bacterianas nas fezes. Portanto o argumento dose não deve ser generalizado, pois os fatores que controlam o efeito prebiótico são múltiplos (ROBERFROID, 2007a; ROBERFROID, 2007b).

No entanto, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), descreve na Lista de Alegações de Propriedade Funcional para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, que a porção do produto pronto para consumo deve fornecer no mínimo 3 gramas de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 grama se o alimento for líquido, para que possa ser especificado no rótulo que o produto contribui para o equilíbrio da microbiota intestinal (ANVISA, 2008).

1.4 PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, afetam benéficamente a saúde do hospedeiro, por promover um balanço da microbiota intestinal (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLS HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Para ser considerado probiótico, os microrganismos devem necessariamente sobreviver às condições adversas do estômago, resistir à ação do suco gástrico e pancreático e à bile, colonizar o intestino, mesmo que

temporariamente, por meio da adesão ao epitélio intestinal (OLIVEIRA et al., 2002). Além disso, o microrganismo deve ter origem na microbiota intestinal humana sadia, apresentar capacidade de estabilizar a microbiota intestinal, ser capaz de produzir compostos antimicrobianos, ser metabolicamente ativo no intestino, possuir propriedades antígenotóxicas e não ser patogênico (GOLDIN, 1998; GUARNER et al., 2005; KRAVTSOV et al., 2008; VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Diversos estudos têm relatado os benefícios atribuídos à ingestão de culturas probióticas a saúde do hospedeiro. Dentre esses benefícios destacam-se: controle e preservação da integridade da microbiota intestinal; atenuação e prevenção dos efeitos de doenças intestinais, como diarreia induzida por rotavírus, a doença intestinal inflamatória e a colite; estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos; promoção da resistência gastrintestinal à colonização por patógenos; a inibição da colonização gástrica com *Helicobacter pylori* e outros agentes patogênicos intestinais; alívio da intolerância à lactose; tratamento e prevenção de alergia; redução do risco associado à mutagenicidade e carcinogenicidade; diminuição dos níveis de colesterol; alívio da constipação; aumento da absorção de minerais; estimulação do sistema imune; prevenção de infecções urogenitais; efeitos dermatológicos; além de efeitos anti-hipertensivos (BAQUERIZO NOLE et al., 2014; EJTAHED et al., 2011; ISMAL; LICCIARDI; TANG, 2013; JAIN et al., 2004; JUNTUNEN et al., 2001; MATSUMOTO et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2002; PROTIC et al., 2005; SAAD, 2006; SANDERS, 2003; SANDERS et al., 2014; SHING et al., 2014; TRIPATHI; GIRI, 2014; VASILJEVIC; SHAH, 2008; WANG et al., 2004). Além disso, microrganismos probióticos têm apresentado um potencial bioconservante. Buriti, Cardarelli e Saad (2007) relataram esse efeito em queijo fresco cremoso adicionado do probiótico *Lactobacillus paracasei*, em co-cultura com *Streptococcus thermophilus*, que apresentou inibição satisfatória de contaminantes microbianos. Segundo os autores, esse fato foi associado à produção de ácidos por ambas as linhagens.

Dentre os microrganismos empregados como probióticos em alimentos, destacam-se as bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* uma vez que essas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal do humano saudável. Dentre as bactérias pertencentes ao

gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destacam-se *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* subsp. *paracasei*, *L. casei* subsp. *tolerans*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *Lb. salivarius* (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; OLIVEIRA et al., 2002; SAAD, 2006).

No Brasil, a ANVISA permite a utilização em alimentos de algumas cepas classificadas como probióticas, dentre elas está o *Lactobacillus acidophilus* La-5 (ANVISA, 2008).

Em produtos lácteos para o consumo humano, os lactobacilos (principalmente *Lactobacillus acidophilus* e *L. casei*) são comumente utilizados como probióticos, como única espécie ou em co-cultura com outras cepas, sejam deste mesmo gênero ou não (HAULY et al., 2005; GIBSON; ROBERFROID, 1995; OLIVEIRA et al., 2002). Para a utilização de culturas probióticas na tecnologia de fabricação de alimentos, as culturas devem permanecer viáveis durante todo o armazenamento dos mesmos. Além disso, a adição dos probióticos não devem alterar as características físico-químicas e sensoriais do produto ao longo do armazenamento (SOUZA; SAAD, 2009). Dessa maneira, para que um alimento probiótico exerça seus efeitos benéficos, é recomendado que ele apresente uma concentração mínima do microrganismo probiótico dentro do seu prazo de validade. No Brasil, atualmente, a legislação vigente preconiza que a quantidade mínima viável de cultura probiótica deve ser de 8 a 9 log UFC na porção diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante (ANVISA, 2008).

1.4.1 *Lactobacillus acidophilus* La-5

Apesar das culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* serem consideradas seguras na tecnologia de fabricação de produtos alimentícios, é necessário o reconhecimento de que a cepa a ser utilizada ofereça segurança, antes que haja o lançamento e divulgação de um novo produto (OLIVEIRA et al., 2002).

Dessa forma, estudos como os realizados por Jain et al. (2004) e Wang et al. (2004) são indispensáveis, uma vez que os mesmos demonstraram que a

cepa La-5 pode ser considerada comprovadamente segura e probiótica. Jain et al. (2004) estudou a influência de um simbiótico contendo *Lactobacillus acidophilus* (La-5), *Bifidobacterium lactis* subsp. *animalis* (Bb 12), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e oligofrutose na função de barreira intestinal e sepsia em pacientes críticos. Os pesquisadores observaram que a administração de tal simbiótico em pacientes doentes alterou favoravelmente a composição microbiana do trato gastrointestinal superior, gerando uma redução significativa no potencial patogênico existente. O estudo conduzido por Wang et al. (2004) avaliou os efeitos da ingestão de iogurte contendo *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium lactis* Bb12 em indivíduos colonizados por *Helicobacter pylori*. Os autores concluíram que o consumo regular de iogurte contendo Bb12 e La-5 suprimiu eficazmente a infecção causada por *H. pylori* em humanos. Dessa forma, a cepa La-5 é considerada comprovadamente probiótica, uma vez que apresentou resultados positivos quando administrada em humanos.

A cepa La-5 de *Lactobacillus acidophilus* tem sido largamente empregada em estudos com alimentos probióticos (MARQUES RIBEIRO et al., 2012). Saad, Buriti e Komatsu (2007) avaliaram a atividade das polpas de maracujá e goiaba sobre a cepa La-5 de *Lactobacillus acidophilus* em musses refrigeradas. Buriti, Castro e Saad (2010) estudaram a viabilidade dessa cepa em musses de goiaba e sua sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. Souza e Saad (2009) avaliaram a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* (La-5) em queijo minas frescal isoladamente e em co-cultura com *S. thermophilus*. Pereira et al. (2010) e Marques Ribeiro et al. (2012) avaliaram a adição de La-5 em queijo *petit-suisse*. Em todos esses estudos, La-5 apresentou populações satisfatórias para um alimento probiótico, demonstrando que tal cepa tem uma boa adaptação em alimentos lácteos. Estudos envolvendo avaliações sensoriais de alimentos lácteos com a cepa de La-5 também foram realizados. Souza et al. (2008) observou que queijos minas frescal suplementados com La-5 apresentaram maior estabilidade sensorial e, conseqüentemente, maior aceitabilidade do que os queijos sem tal suplementação. Da mesma forma, Pereira et al. (2010) avaliaram a aceitação sensorial de queijos *petit-suisse* suplementados com *L. acidophilus* La-5 e observaram que o queijo suplementado com a cultura esta cultura associada com *Bifidobacterium*

animalis subsp. *lactis* BL04 foi o mais aceito nos dois períodos de avaliação (após 7 e 14 dias de armazenamento refrigerado). Porém, observou-se também que o queijo que continha apenas a cepa La-5 foi mais bem aceito que os demais (controle, sem adição de culturas e queijo contendo BL04), obtendo, de maneira geral, uma boa aceitação sensorial, principalmente com relação ao sabor.

1.5 SIMBIÓTICOS

Um produto simbiótico é aquele no qual são combinados microrganismos probióticos e substâncias prebióticas. Essa junção traz mais benefícios aos seres humanos do que apenas ingeri-los individualmente, uma vez que a interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anterior ao consumo. Além disso, os probióticos, na maioria das vezes, utilizam os prebióticos como substrato, o que pode promover sua adaptação à microbiota intestinal humana, favorecendo sua multiplicação e sua ação funcional (OLIVEIRA; JURKIEWICZ, 2009; SAAD, 2006).

Inúmeros estudos têm demonstrado o efeito da associação de prebióticos e probióticos nos alimentos. Vasconcellos et al. (2013) desenvolveram uma sobremesa láctea potencialmente simbiótica contendo o probiótico *Lactobacillus acidophilus* e calda de yacon como ingrediente prebiótico, e observaram populações significativas do probiótico, resultando assim em um produto que pode ser considerado simbiótico, de acordo com a legislação brasileira. Cardarelli et al. (2008a) estudaram a influência da adição de inulina e oligofrutose na viabilidade de probióticos em queijos *petit-suisse* e observaram que os queijos suplementados com inulina e oligofrutose em combinação foram os mais promissores, uma vez que apresentaram maior sobrevivência de *L. acidophilus* e *B. animalis* subsp. *lactis* e melhor aceitação sensorial. Em estudo semelhante, Buriti, Cardarelli e Saad (2008) constataram que a adição de inulina ao queijo fresco cremoso produzido com a adição de uma cepa potencialmente probiótica de *Lactobacillus paracasei*, resultou em um produto com características adequadas e com propriedades funcionais agregadas. Oliveira e Jurkiewicz (2009) avaliaram a influência de inulina e goma acácia na

viabilidade de bactérias probióticas em leite fermentado simbiótico, onde observaram que o aumento da concentração de inulina favoreceu significativamente a sobrevivência de *B. animalis* no leite fermentado, uma vez que os produtos com baixa concentração de inulina não mantiveram a população de bactérias probióticas acima do preconizado pela legislação.

1.6 A RICOTA COMO UM POTENCIAL ALIMENTO FUNCIONAL

A ricota, um dos meios mais convenientes para utilização do soro, é um produto consumido mundialmente em muitas dietas alimentares, principalmente pelo seu baixo valor energético e boa digestibilidade, o que faz com que sua produção aumente a cada ano devido a procura por alimentos mais saudáveis (Mc SWEENEY et al., 2007; RIBEIRO et al., 2005; SALVATORE et al., 2014; SMITHERS, 2008; SANTOS; HOFFMANN, 2010; SILVA; FERREIRA, 2010).

Além dessas vantagens, queijos de soro de leite podem oferecer uma série de outras vantagens ao se tratar de inovação, uma vez que os mesmos por apresentarem pH relativamente alto, teor de gordura, consistência mecânica, juntamente com o baixo nível de oxigênio típico, faz com que esse ofereça uma proteção extra para cepas probióticas durante o armazenamento e até mesmo no trato gastrointestinal, o que dificilmente é exercido em outros produtos. Além disso, são produtos promissores para a veiculação de probióticos, por possuírem uma tecnologia de fabricação mais simplificada, teor reduzido de sal, ausência de conservantes, teor de umidade e atividade de água elevados, natureza não curada, o que faz deste ser armazenado em temperatura de refrigeração e possuir uma vida de prateleira curta (KARIMI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; MADUREIRA et al., 2011; MADUREIRA et al., 2013; VINDEROLA et al., 2000). Outro fato bastante atrativo nos queijos frescos são que esses são bastante versáteis à adição de ingredientes funcionais prebióticos, como a inulina (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008). A utilização da inulina em produtos lácteos com baixo teor de gordura, como queijos frescos, resulta em sabor e cremosidade mais equilibrados, aumentando a qualidade do produto (FRANCK, 2002). Dessa forma, diante das boas perspectivas de utilização dos queijos como veículos de probióticos e da possibilidade de incorporação de prebióticos nesse tipo de

alimento, o desenvolvimento de queijo ricota simbiótico apresenta-se como uma boa alternativa para o mercado de alimento funcional. Uma vez que, além das características já atrativas ao consumidor, este queijo poderá possuir também propriedades funcionais, atendendo, assim, os anseios da população por alimentos que promovam a saúde, além da nutrição.

2. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comissões de assessoramento tecnocientífico em alimentos funcionais e novos alimentos. **Aprova alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.** Lista das alegações aprovadas de 11 de janeiro de 2005. Atualizada em julho de 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 13 nov. 2008.

ALMEIDA, K.E de; BONASSI, I.A.; ROÇA, R. de O. Características físicas e químicas de bebidas lácteas fermentadas e preparadas como soro de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 187-192, 2001.

ALVES, M. P.; MOREIRA, R. de O.; RODRIGUES JÚNIOR, P.H.; MARTINS, M.C. de F.; PERRONE, I.T.; CARVALHO, A.F. de. Soro de leite: tecnologias para o processamento de coprodutos. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 3, p. 212-226, 2014.

ANDRADE, S. de; FLORESTA, P.M. de M.; MARTINS, A.D. de O.; MARTINS, M.L.; MARTINS, J.M. Avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de ricotas em pasta condimentadas. **Vértices**, v.16, n. 1, p. 87-99, 2014.

ANTUNES, A.E.C.; CAZETTO, T.F.; BOLINI, H.M.A. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinérese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 107-114, 2004.

APOLINÁRIO, A.C.; DAMASCENO, B.P.G. de L.; BELTRÃO, N.E. de M.; PESSOA, A.; CONVERTI, A.; SILVA, J.A. da. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 368-378, 2014.

BALDISSERA, A.C.; BETTA, F.D.; PENNA, A.L.; LINDNER, J. de D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: ciências agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.

BAQUERIZO NOLE, K.; YIM, E.; KERI, J.E. Probiotics and prebiotics in dermatology. **Journal American Academy of Dermatology**, v. 71, n. 4, p.814-

821, 2014.

BORTOLOZO, E. Q.; QUADROS, M. H. R. Aplicação de inulina e sucralose em iogurte. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 01, n. 01, p. 37-47, 2007.

BOUHNİK, Y.; RASKINE, L.; CHAMPION, K.; ANDIEUX, C.; PENVEN, S.; JACOBS, H.; SIMONEAU, G.. Prolonged administration of low-dose inulin stimulates the growth of bifidobacteria in humans. **Nutrition Research**, v.27, p.187-193, 2007.

BRASIL, Ministério da Agricultura e da Agropecuária. Instrução Normativa nº16 de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida Láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário oficial da União**, Brasília, DF.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus* potentially probiotic and symbiotic fresh cream cheeses. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 1, p. 228-235, 2007.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 75-83, 2008.

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

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. **Food Science and Technology**, n. 41, p. 1037-1046, 2008a.

CATTANEO, T.M.P.; MARINONI, L.; IAMETTI, S.; MONTI, L. Behavior of Aflatoxin M1 in dairy wastes subjected to different technological treatments: ricotta cheese production, ultrafiltration and spray-drying. **Food control**, v. 32, p. 77-82, 2013.

CERQUEIRA, T.S.; JACOMINO, A.P.; SASAKI, F.F.; ALLEONI, A.C.C.. Recobrimento de goiabas com filmes protéicos e de quitosana. **Bragantina**, v. 70, n. 1, p. 216-221, 2011.

CHI, Z-M.; ZHANG, T.; CAO, T-S.; LIU, X-Y.; CUI, W.; ZHAO, C-H. Biotechnological potential of inulin for bioprocesses. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 4295-4303, 2011.

Di PIERRO, P.; SORRENTINO, A.; MARINIELLO, L.; GIOSAFATTO, C.V.L. Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. **Food Science and Technology**, v.44, p. 2324-2327, 2011.

EJTAHED, H.S.; MOHTADI-NIA, J.; HOMAYOUNI-RAD, A.; NIAFAR, M.; ASGHARI-JAFARABADI, M.; MOFID, V.; AKBARIAN-MOGHARIT, A.. Effect of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* on lipid profile in individuals with type 2 diabetes mellitus. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 7, p. 3288-3294, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>. Acesso em: 24 set. 2013. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H.. **Fundamentals of Cheese Science**, Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland, 2000. 559p.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofrutose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 287-291, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C.B.; PRUDÊNCIO, E.S.; PINTO, S.S.; MUÑOZ, I.B.; MÜLER, C.M.O.; VIEIRA, C.R.W.; AMBONI, R.D.M.C. Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, p. 50-55, 2013.

GARCÍA, M. L.; CÁCERES, E.; SELGAS, M. D. Effect of inulin on the textural and sensory properties of mortadella, a spanish cooked meat product. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 1207-1215, 2006.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GOLDIN, B.R. Health benefits of probiotics. **British Journal of Nutrition**, v.80, p.S203-S207, 1998.

GOMES, C. R.; VISSOTO, F.Z.; FADINI, A.L.; FARIA, E.V. de; LUIZ, A.M. Influência de diferentes agentes de corpo nas características reológicas e sensoriais de chocolates diet em sacarose e light em calorias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 614-623, 2007.

GONÇALVES, A.A.; ROHR, M. Desenvolvimento de balas mastigáveis adicionadas de inulina. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 471-478, 2009.

GUARNER, F.; PERDIGON, G.; CORTIER, G.; SALMINEN, S.; KOLETZKO, B.; MORELLI, L. Should yoghurt cultures be considered probiotic? **British Journal of Nutrition**, v. 93, p. 783-786, 2005.

HAULY, M. C. de O.; FUCHS, R.H.B.; BORSATO, D.; BONA, E. "iogurte" de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 105-118, 2005.

HAULY, M. C. de O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e oligofrutoses: uma revisão sobre as propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, 2002.

HOUGH, G.; PUGLIESO, M. L.; SANCHEZ, R.; DA SILVA, M. O. Sensory and Microbiological Shelf-Life of a Commercial Ricotta Cheese. **Journal of Dairy Science**, New York, v.82, n.3, p.454-459, 1999.

ISMAL, I.H.; LICCIARDI, P.; TANG, M.LK.. Probiotic effects in allergic disease. **Journal of Paediatrics and Child Health**, v. 49, p. 709-725, 2013.

JAIN, P. K.; McNAUGHT, C.E.; ANDERSON, A.D.G.; MACFIE, J.; MITCHELL, C.J. Influence of synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La5, *Bifidobacterium lactis* Bb 12, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomised controlled trial. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 467-475, 2004.

JUNTUNEN, M. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.8, n. 2, p.293-296, 2001.

KARIMI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, M. Sensory characteristics of probiotic cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 437-452, 2012.

KELLY, G. Inulin – type prebiotics- a review: part 1. **Alternative Medicine Review**, v. 13, n. 4, p. 315-329, 2008.

KLEESSEN, B.; SYKURA, B.; ZUNFT, H-J.; BLAUT, M. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 5, p. 1397-1402, 1997.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Prebiotic capacity of inulin-type fructans. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2503-2506, 2007.

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

KRAVTSOV, E.G.; YERMOLAYEV, A.V.; ANOKHINA, I.V.; YASHINA, N.V.; CHESNOKOVA, V.L.; DALIN, M.V. Adhesion characteristics of *Lactobacillus* is a criterion of the probiotic choice. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 145, n. 2, p. 232-234, 2008.

KRÜGER, R.; KREMPKA, A.P.; OLIVEIRA, D. de; VALDUGA, E.; CANSIAN, R.L.; TREICHEL, H.; Di LUCCIO, M. Desenvolvimento de uma bebida láctea probiótica utilizando como substratos soro de leite e extrato hidrossolúvel de soja. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n. 1, p. 43-53, 2008.

LIMA, A. de S.; MACIEL, J.F.; QUEIROGA, R. de C. R. do E.; NETO, E. de A.;

ANJOS, U. U. dos; FARIAS, L.R.G. de. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 3, p. 366-372, 2009.

LIVNEY, Y.D. Milk proteins as vehicles for bioactives. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 15, p. 73-83, 2010.

MACHADO, D. F.; SILVA, R.R.; FANCHIOTTI, F.E.; COSTA, N.M.B. Probióticos, prebióticos e simbióticos e seus efeitos na biodisponibilidade do cálcio. **Nutrire**, São Paulo, v.22, p.73-83, 2001.

MADUREIRA, A.R.; BRANDÃO, T.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.E.; MALCAT, F.X. Technological optimization of manufacture of probiotic whey cheese matrices. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 203-211, 2011.

MADUREIRA, A.R.; SOARES, J.C.; AMORIN, M.; TAVARES, T.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.M.; MALCATA, F.X. Bioactivity of probiotic whey cheese: characterization of the content of peptides and organic acids. **Journal Science of Food Agriculture**, v. 93, p.1458-1465, 2013.

MAIA, S.R.; FERREIRA, A.C.; ABREU, L.R de. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n.2, p. 358-365, 2004.

MARQUES RIBEIRO, K. M.; PEREIRA, L.C.; DOUZA, C.H.B. de; SAAD, S.M.I. Comportamento de cepas distintas de *Lactobacillus acidophilus* em queijo *petit-suisse*. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, v. 62, n. 4, p. 347-354, 2012.

MATSUMOTO, S. et al. Probiotic *Lactobacillus*-induced improvement in murine chronic inflammatory bowel disease is associated with the down-regulation of pro-inflammatory cytokines in lamina propria mononuclear cells. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 140, p. 417-426, 2005.

McSWEENEY, P.L.H. **Cheese problems solved**. Boca Raton, USA, 2007.

MEYER, D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881-1890, 2011.

MODLER, H.W; EMMONS, D.B. The use of continuous ricotta processing to reduce ingredient cost in 'further processed' cheese products. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 517-523, 2001.

MORIN, P.; BRITTEN, M.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; POULIOT, Y. Microfiltration of buttermilk and washed cream buttermilk for concentration of milk fat globule membrane components. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 5, p. 2132-2140, 2007.

MORRIS, C.; MORRIS, G.A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management. **Food Chemistry**, v. 133, p. 237-248, 2012.

OLIVEIRA, L.B. de.; JURKIEWICZ, C.H. Influência de inulina e goma acácia na viabilidade de bactérias probióticas em leite fermentado simbiótico. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n. 2, p. 138-144, 2009.

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

PELEGRINE, D.H.G.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro de leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 7, p. 145-151, 2008.

PEREIRA, L. C.; SOUZA, C.H.B. de; BEHRENS, J.H.; SAAD, S.M.I. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. In co-culture improve sensory acceptance of potentially probiotic petit-suisse cheese. **Acta Alimentaria**, v. 39, n. 3, p. 265-276, 2010.

PROTIC, M.; JOJIC, N.; BOJIC, D.; MILUTINOVIC, S.; NECIC, D.; BOJIC, B.; SVORCAN, P.; KRSTIC, M.; POPOVIC, O.. Mechanism of diarrhea in microscopic colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v.11, n.35, p.5535-5539, 2005.

PRUDÊNCIO, E. S. Effect of whey nanofiltration process combined with diafiltration on the rheological and physicochemical properties of ricotta cheese. **Food Research International**, v.56, p. 92-99, 2014.

RIBEIRO, A.C.; MARQUES, S.C.; SODRÉ, A. de F.; ABREU, L.R. de; PICCOLI, R.H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n.1, p. 113-117, 2005.

RICHARDS, N. S. P. S. Soro lácteo: perspectivas industriais e proteção ao meio ambiente. **Revista Food Ingredients**, v.38, n.17, p.20-27, 2002.

ROBERFROID, M.B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, v. 93, suppl. 1, S13-S25, 2005.

ROBERFROID, M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, v.137: 2493S–2502S, 2007b.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: the concept revisited. **The Journal of Nutrition**, v. 137: 830S-837S, 2007a.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, p. 1682-1687, 2000.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAAD, S.M.I.; BURITI, F. C. A.; KOMATSU, T. R. Activity of passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*) pulps on *Lactobacillus acidophilus* in refrigerated mousses. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 315-317, 2007.

SALVATORE E.; PES, M.; FALCHI, G.; PAGNOZZI, D.; FURESI, S.; FIORI, M.; ROGGIO, T.; ADDIS, M.F.; PIRISI, A.. Effect of whey concentration on protein recovery in fresh ovine ricotta cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 4686-4694, 2014.

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

SANDERS, M. E.; LENOIR-WIJNKOOP, I.; SALMINEN, S.; MERENSTEIN, D.J.; GIBSON, G.R.; PETSCHOW, B.W.; NIEUWDORP, M.; TANCREDI, D.J.; CIFELLI, C.J.; JACQUES, P.; POT, B.. Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1039, p. 19-29, 2014.

SANTOS, J. P. V.; GOULART, S. M.; RAMOS, A. M. Influência da adição de inulina nas características físico-químicas e sensoriais do doce de leite cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 35-40, 2012.

SANTOS, V.A.Q.; HOFFMANN, F.L. Evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, p. 38-46, 2010.

SHING, C.M.; PEAK, J.M.; LIM, C.L.; BRISKEY, D.; WALSH, N.P.; FORTES, M.B.; AHUJA, K.D.K.; VITETTA, L.. Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal permeability, inflammation and exercise performance in the heat. **European Journal of Applied Physiology**, v. 114, p. 93-103, 2014.

SILVA, K.; BOLINI, H.M.A. Avaliação sensorial de sorvete formulado com produto de soro ácido de leite bovino. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 116-122, 2006.

SILVA, L.F.M. da; FERREIRA, K.S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal “light” e ricota. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 437-441, 2010.

SILVA, E.A. da; SANTOS, E.A.L. dos; AQUINO, A.B. de; ARAUJO, J.M.; DIAS, S.S.; LIMA, J.S.; MACHADO, J.A.; SANTANA, L.C.L. de A. Processamento de ricota natural e condimentada: avaliação microbiológica e sensorial. **Revista Geintec – Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 2, p. 788-795, 2014.

SMITHERS, G.W. Whey and whey proteins – from ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

SOUZA C. H. B. de; BURITI, F.C.A.; BEHMERS, 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, 2008.

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. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 633-640, 2009.

THAMER, K. G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TRIPATHI, M.K.; GIRI, S.K. Probiotic functional foods: survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Food**, v. 9, p. 225-241, 2014.

VASCONCELOS, C. M.; MARTINS, J. de F. L.; RAFAEL, V da C.; FERREIRA, C.L de L.F. Desenvolvimento e avaliação sensorial de sobremesa láctea potencialmente simbiótica. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 68, n. 391, p. 11-17, 2013.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics – from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714-728, 2008.

VINDEROLA, C.G.; PROSELLO, W.; Ghiberto, D.; REINHEIMER, J.A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.9, p.1905-1911, 2000.

WANG, K-Y.; LI, S-N.; LIU, C-S.; PERNG, D-S.; SU, Y-C.; WU, D-C.; JAN, C-M.; LAI, C-H.; WANG, T-N.; WANG, W-M. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori*. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 737-741, 2004.

YOSHIDA, C.P; ANTUNES, A.J. Aplicação de filmes protéicos à base de soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 420-430, 2009.

ZAVAREZE, E. da R.; MORAES, K.S.; SALAS-MELLADO, M. de Las M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados como soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 100-105, 2010.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver ricotas probiótica, prebiótica e simbiótica, adicionadas de inulina e/ou *Lactobacillus acidophilus*, visando à obtenção de produtos funcionais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a viabilidade da ricota como matriz para a veiculação de microrganismo probiótico (*Lactobacillus acidophilus* La-5) e ingrediente prebiótico (inulina);

Analisar as características físico-químicas das ricotas desenvolvidas (pH, acidez livre total e firmeza), bem como a influência dos ingredientes funcionais sobre essas;

Avaliar as populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante 21 dias a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ e seu possível efeito bioconservante no produto;

4. ARTIGO

DESENVOLVIMENTO DE RICOTA FUNCIONAL: AVALIAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRODUTO

Bárbara Camila Domingues Arrais¹, Marisa Marroni Mexia¹, Evelyn Caroline Koga¹, Evelyn Marssola Castro¹, Thiago Borges Pinto¹, Elsa Helena Walter de Santana¹, Lina Casale Aragón-Alegro¹, Cíntia Hoch Batista de Souza^{1,*}

¹ Universidade Norte do Paraná – UNOPAR – Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados, Rua Marselha, 591, Jardim Piza, 86041-140, Londrina, PR, Brasil.

* Autor para correspondência:

Cíntia Hoch Batista de Souza

E-mail: cinthiahoch@yahoo.com.br

Rua Marselha, 591, Jardim Piza, 86041-140, Londrina, PR, Brasil

Tel.: +55 43 3371-7993

Fax: +55 43 3371-7834

RESUMO

Atualmente, o desenvolvimento de produtos funcionais, como os que contêm probióticos e prebióticos, tem sido de grande importância, uma vez que o consumidor tem se interessado cada vez mais por alimentos mais saudáveis. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma ricota funcional e avaliar a influência da adição do prebiótico inulina sobre suas características físico-químicas, principalmente sobre a firmeza, bem como a viabilidade da cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e seu possível efeito bioconservante no produto, durante o armazenamento por 21 dias a $4\pm 1^\circ\text{C}$. Para isso, quatro formulações de ricota foram produzidas: sem adição de inulina e/ou cultura probiótica (controle – R1), com adição de cultura probiótica (R2), com adição de inulina (R3) e com adição de inulina e cultura probiótica (R4). Para análise das implicações da adição de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e inulina sobre as características das ricotas cremosas avaliou-se as características físico-químicas (pH, acidez total e textura) e microbiológicas (viabilidade de La-5 e presença de bolores e leveduras). As análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais foram realizadas nos dias: 1, 7, 14 e 21 de armazenamento sob refrigeração a $4\pm 1^\circ\text{C}$. A contagem de *Lactobacillus acidophilus* La-5 nas ricotas R2 e R4 mantiveram-se acima de 10^7 UFC/g durante todo o período de armazenamento, permitindo a classificação dessas como probiótica e simbiótica, respectivamente. A adição de inulina em R4 favoreceu positivamente a contagem de La-5. A cepa probiótica em questão não foi capaz de exercer um efeito bioconservante no produto. As ricotas adicionadas de inulina apresentaram um aumento progressivo na textura, apresentando-se mais firmes que as demais.

PALAVRAS CHAVE: Prebiótico. Probiótico. Soro de leite. Textura instrumental.

1. Introdução

A ricota é um tipo de queijo fresco, de origem italiana, obtido pela precipitação das proteínas do soro do leite, por acidificação associada ao calor (FOX et al., 2000; PRUDÊNCIO, 2014; SMITHERS, 2008). A produção dessa é considerada uma das mais convenientes maneiras de utilização do soro proveniente do processo de fabricação de queijos (Mc SWEENEY et al., 2007; SALVATORE et al., 2014; SMITHERS, 2008).

Há algum tempo, tem se observado uma crescente preocupação da população na melhora da qualidade de vida e na busca por alimentos que sejam ao mesmo tempo, saudáveis, nutritivos e atraentes. Isso tem colaborado para o desenvolvimento de uma série de novos produtos enriquecidos com componentes fisiologicamente ativos (ALVES et al., 2008; BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008). Com isso, componentes prebióticos, como a inulina, têm sido investigados para que possam atender às exigências do mercado consumidor atual, que deseja produtos com qualidade sensorial e nutricional associada a benefícios para a saúde (BORTOLOZO; QUADROS, 2007; KARIMI et al., 2015; SANTOS; GOULART; RAMOS, 2012).

A inulina vem sendo utilizado no processamento de alimentos por apresentar propriedades promotoras de saúde e melhorar aspectos sensoriais nos mesmos (FRANCK, 2002; KARIMI et al., 2015; MEYER et al., 2011). A utilização de inulina em produtos lácteos com baixo teor de gordura, como queijos frescos, geralmente resulta em sabor e cremosidade mais equilibrados, aumentando a qualidade do produto (FRANCK, 2002; MEYER et al., 2011).

Paralelamente à adição de prebióticos aos alimentos, a indústria tem tornado a adição de probióticos um dos meios mais explorados para tornar um lácteo funcional (ALVES et al., 2008). Dentre os microrganismos comprovadamente probióticos, a adição da cepa *Lactobacillus acidophilus* La-5 tem sido largamente estudada em produtos lácteos como sorvetes (MAGARIÑOS et al., 2007), queijo *petit-suisse* (PERERIRA et al., 2010; MARQUES RIBEIRO et al., 2012) e queijo minas frescal (SOUZA; SAAD, 2009).

Neste contexto, e com base nas características específicas dos queijos frescos (teor reduzido de sal, ausência de conservantes, teor de umidade e

atividade de água elevados, natureza não curada, além do pH relativamente alto), esses produtos apresentam-se como uma matriz promissora para a adição de probióticos, uma vez que esta pode auxiliar na manutenção da viabilidade desses microrganismos durante o armazenamento dos produtos e até mesmo no trato gastrointestinal (KARIMI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; MADUREIRA et al., 2011; MADUREIRA et al., 2013; VINDEROLA et al., 2000). Além disso, de acordo com Buriti, Cardarelli e Saad (2008), queijos frescos cremosos são considerados alimentos versáteis quando se refere à adição de ingredientes funcionais. Dessa forma, diante das boas perspectivas de utilização dos queijos como veículos de probióticos e da possibilidade de incorporação de prebióticos nesse tipo de alimento, o desenvolvimento de queijo ricota simbiótico apresenta-se como uma boa alternativa para o mercado de alimento funcional. Dessa forma, além das características já atrativas ao consumidor, este queijo poderá possuir também propriedades funcionais, atendendo, assim, os anseios da população por alimentos que promovam a saúde, além da nutrição. Assim, o objetivo do presente trabalho foi elaborar ricotas probiótica, prebiótica e simbiótica e avaliar a influência da adição de inulina sobre a firmeza dos produtos, bem como a viabilidade da cepa probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5 e suas características físico-químicas ao longo de 21 dias de armazenamento refrigerado a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

2. Material e Métodos

2.1 Ingredientes para a produção da ricota

Para as produções das diferentes formulações de ricota, foram utilizados os seguintes ingredientes: soro de queijo em pó (Confepar, Londrina, Brasil), leite UHT integral (Polly, Londrina, Brasil), vinagre de álcool (Castelo, Jundiaí, Brasil), cultura probiótica composta por *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Christian Hansen, Hoersholm, Dinamarca) e inulina (Orafti, Oreye, Bélgica). Foram produzidas 4 formulações de ricota, em duplicata, de acordo com as variáveis apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Variáveis empregadas na fabricação das diferentes formulações de ricota.

Ricotas	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5*	Inulina**
R1***	-	-
R2	+	-
R3	-	+
R4	+	+

+ = Presença - = Ausência

* *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Christian Hansen, Hoersholm, Dinamarca).

**Inulina (Orafti, Oreya, Bélgica).

*** Formulação controle.

2.2 Fabricação da ricota

O soro de leite em pó foi diluído em água, de acordo com as instruções do fabricante (1 parte de soro para 13,5 partes de água). O soro reconstituído foi então aquecido a 65°C e adicionado de 8% de leite UHT integral. Esta mistura foi aquecida a 85°C. Após atingir esta temperatura, a mistura foi adicionada de 1,5% de vinagre de álcool e aquecida até atingir 92°C. Após esta etapa, a mistura permaneceu em repouso por 30 minutos. Após a floculação, realizou-se a sinerese parcial, transferindo-se a massa coagulada para sacos de pano previamente sanitizados suportados por formas perfuradas, próprias para a fabricação de queijos. A massa ficou em repouso a 37°C por uma hora para dessora e resfriamento. Parte do soro obtido da fabricação das ricotas foi acondicionado em frasco estéril com tampa e imediatamente refrigerado a 4±1°C, para subsequente dissolução da inulina. Em seguida, uma drenagem manual foi realizada durante 5 minutos, a fim de retirar o soro residual. Após a dessora total, a massa foi processada de acordo com a Tabela 1. Para as formulações suplementadas com *Lactobacillus acidophilus* La-5, a cultura foi adicionada na proporção de 0,3%. Após a adição de *L. acidophilus* La-5, a massa foi homogeneizada manualmente com auxílio de uma espátula durante 5 minutos. Para as formulações suplementadas com inulina, a fim de atender a quantidade preconizada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), o prebiótico foi adicionado aos produtos na proporção de 10%. Para isto, a inulina foi previamente dissolvida em soro aquecido a 55-60°C, na proporção de uma parte de inulina para uma parte de soro (1:1), e então imediatamente incorporada ao produto por meio de homogeneização manual por 5 minutos.

Os produtos foram armazenados sob refrigeração a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 21 dias em potes de polipropileno (Tries Aditivos Plásticos Ltda, São Paulo, Brasil) previamente sanitizados, próprios para alimentos, com capacidade de 100 gramas, para posterior realização das análises.

2.3 Período de armazenamento e amostragem

As determinações dos parâmetros microbiológicos, físico-químicos e de textura das diferentes formulações foram realizadas no dia seguinte à fabricação (dia 1) e semanalmente durante 21 dias de armazenamento sob refrigeração a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$. A composição centesimal foi determinada nos produtos após 1 dia de fabricação.

2.4 Análises físico-químicas e composição centesimal

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 2.3, foram realizadas as determinações de pH e acidez livre titulável das ricotas desenvolvidas. O pH foi determinado utilizando-se pHmetro, modelo Tec 3MP (Tecnal, Piracicaba, Brasil), empregando-se um eletrodo tipo penetração. A acidez livre titulável das amostras foi determinada por meio de titulação com solução Dornic (Merck, Darmstadt, Alemanha) na presença do indicador fenolftaleína e os resultados foram expressos em porcentagem. A composição centesimal (lipídeos, proteínas, cinzas e umidade) das diferentes formulações de ricota foi determinada de acordo com a metodologia preconizada pela Association of Official Agricultural Chemists (AOAC, 1995). O teor de carboidratos foi calculado por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.5 Análises microbiológicas

2.5.1 Avaliação das populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5

Decorridos os tempos de armazenamento descritos no item 2.3, porções de 25 gramas de ricota (retiradas em condições de assepsia) foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada (Himedia, Mumbai, Índia) 0,1%, utilizando-se um "Bag Mixer" (Interscience, St. Nom, França). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando-se o mesmo diluente. Para a quantificação da cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5,

alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS) (Himedia), fundido e resfriado a 45°C. As placas foram incubadas a 37°C, em aerobiose por 48 horas (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1995). As análises foram realizadas em duplicata.

2.5.2 Avaliação das populações de bolores e leveduras

Foram avaliadas as populações de bolores e leveduras, a fim de determinar a vida de prateleira das ricotas, visto que este é o principal grupo de deteriorante presente neste tipo de produto. Alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras, preparadas de acordo com o descrito no item 2.5.1, foram transferidas para placas Petrifilm™ Yeasts and Moulds Count Plates (Petrifilm™ YM, 3M Microbiology, Saint Paul, EUA) para contagem de bolores e leveduras, que foram incubadas a 25°C por 5 dias. As análises foram realizadas em duplicata.

2.6 Análise da textura - firmeza

Para a avaliação da firmeza, as amostras de ricotas foram mantidas em suas embalagens originais a 4±1°C. A determinação da firmeza foi realizada através de teste de dupla compressão, utilizando-se probe cilindro acrílico de 25 mm de diâmetro, em analisador de textura Texture Analyser CT3 (Brookfield, Middleboro, Estados Unidos da América), controlado por computador. Os dados foram coletados através do software Texture CT V1.4 Build 17 (Brookfield). Para a realização dos testes, foram empregadas as seguintes condições: distância de 10 mm e velocidade de compressão de 1 mm/s (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008). As análises foram realizadas em triplicata.

2.7 Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se o software STATISTICA v.8.0 (Statsoft Inc., Tulsa, USA). A normalidade dos resultados e a homogeneidade de variâncias foram avaliadas através do teste de Shapiro-Wilks e Brown-Forsythe, respectivamente, adotando-se α de 0,05. Quando a homogeneidade de variância não foi observada, os dados foram tratados

através de análise de variância não-paramétrica, com aplicação dos testes de Kruskal Wallis e Mann Whitney U para identificação dos contrastes ($p < 0,05$). Quando a homogeneidade de variâncias foi observada, procedeu-se à análise de variância paramétrica e aplicação do teste de Tukey para a identificação das diferenças significativas entre as médias ($p < 0,05$) (BOWER, 1997; BOWER, 1998a; BOWER, 1998b). Para as comparações entre os diferentes períodos de armazenamento para uma mesma formulação, quando a homogeneidade de variância não foi observada, os dados foram tratados pela análise de variância não-paramétrica, com aplicação do teste de Friedman e o “LSD rank” para identificação dos contrastes ($p < 0,05$) (BOWER, 1998b). Quando houve a homogeneidade de variâncias, procedeu-se à análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas e aplicação do teste de Tukey para detectar as diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as médias (BOWER, 1998a).

3. Resultados e discussão

3.1 Composição centesimal

As amostras de ricota foram caracterizadas em relação a suas composições físico-químicas e os resultados (média \pm desvio padrão) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Composição centesimal* (média \pm desvio-padrão) obtida para as ricotas R1 (controle, sem adição de *L. acidophilus* e inulina), R2 (adição de *L. acidophilus*), R3 (adição de inulina) e R4 (adição de *L. acidophilus* e inulina), após 1 dia de armazenamento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Composição	Ricotas			
	R1	R2	R3	R4
Lipídeos	5,03 \pm 0,15 ^a	4,97 \pm 0,25 ^a	5,07 \pm 0,12 ^a	5,07 \pm 0,12 ^a
Proteína	9,36 \pm 0,45 ^a	9,46 \pm 0,23 ^a	9,36 \pm 0,40 ^a	9,37 \pm 0,37 ^a
Cinzas	0,78 \pm 0,02 ^a	0,80 \pm 0,02 ^a	0,87 \pm 0,02 ^a	0,85 \pm 0,01 ^a
Umidade	73,98 \pm 0,41 ^a	73,69 \pm 0,16 ^a	69,67 \pm 0,38 ^a	69,04 \pm 0,22 ^a
Carboidratos	10,85 \pm 0,67 ^a	11,08 \pm 0,54 ^a	15,03 \pm 0,33 ^b	15,67 \pm 0,46 ^b

^{a,b}: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as diferentes formulações.

* Valores em %

As ricotas R1, R2, R3 e R4 apresentaram uma composição centesimal similar após 1 dia de armazenamento, diferindo significativamente apenas quanto ao teor de carboidratos para R3 e R4. Porém, apesar de tal similaridade entre as formulações desenvolvidas, a ausência de um regulamento técnico

específico para a ricota, com a classificação, definições das características, aditivos e dos padrões físico-químicos, resulta na falta de padronização deste produto, o que prejudica o controle oficial da qualidade das ricotas produzidas, não só neste estudo, mas também para as ricotas comercializadas. No entanto, com base na literatura tem-se que, a ricota por ser um produto obtido do soro do leite, deveria possuir um teor de gordura próximo a zero, porém como a legislação permite adicionar leite para aumentar o rendimento da fabricação dessa, o que eleva seu teor de lipídios, essa deve apresentar um teor de gordura de 4 a 5% (SILVA; FERREIRA, 2010). Dessa forma, as ricotas produzidas neste estudo apresentaram-se muito próximas da faixa de lipídios recomendada para esse tipo de produto. Tais resultados estão de acordo com o observado por Lima e Costa (2013), que obtiveram valores médios entre 4 e 6% para lipídios em ricota fresca. Segundo Esper, Bonets e Kuaye (2007) os produtos lácteos são ricos em cálcio e fósforo com conteúdo de cinzas total variando de 0,7 a 6,0%. Dessa forma, os valores encontrados nesse trabalho estão dentro dessa faixa.

O teor de proteína encontrado foi menor que o relatado por Esper, Bonets e Kuaye (2007) (9,6-9,46%). Provavelmente devido ao fato da ricota produzida neste trabalho ter sempre a mesma proporção de leite adicionado ao soro, o que não ocorreu no trabalho citado. Todas as amostras apresentaram elevados percentuais de umidade (69,04% a 73,98%). Este parâmetro é o único que apresenta um padrão estabelecido pela legislação brasileira vigente. Dessa forma, pode-se classificar os produtos desenvolvidos neste trabalho como um queijo de “muita alta umidade” (BRASIL,1996). Estes resultados corroboram com os encontrados por Esper, Bonets e Kuaye (2007) que obtiveram teores de umidade em amostras de ricota de 58,49 a 77,45% e com Carrijo et al. (2011), que encontraram percentuais de umidade variando entre 59,38 a 74,66%. Com relação ao teor de carboidratos encontrado nas ricotas, observaram-se médias maiores para as ricotas R3 e R4 (prebiótica e simbiótica). Tal variação pode ser explicada pela adição de inulina a essa formulações, uma vez que esse prebiótico é classificado como carboidrato.

3.2 Análises físico-químicas

Na Tabela 3 são apresentadas as médias obtidas para os parâmetros

físico-químicos (pH e acidez livre titulável) para as ricotas R1, R2, R3 e R4.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos (média \pm desvio-padrão) obtidos para as ricotas R1 (controle, sem adição de *L. acidophilus* e inulina), R2 (adição de *L. acidophilus*), R3 (adição de inulina) e R4 (adição de *L. acidophilus* e inulina), após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a $4\pm 1^\circ\text{C}$.

Ricotas	Armazenamento (Dias)	pH	Acidez livre titulável (%)
R1*	1	5,94 \pm 0,02 ^{Aa}	0,036 \pm 0,00 ^{Aa}
	7	5,63 \pm 0,02 ^{Aa}	0,053 \pm 0,01 ^{Ab}
	14	5,82 \pm 0,02 ^{Aa}	0,045 \pm 0,04 ^{Ab}
	21	5,83 \pm 0,06 ^{Aa}	0,040 \pm 0,01 ^{Ab}
R2	1	5,33 \pm 0,03 ^{Ba}	0,077 \pm 0,01 ^{Ba}
	7	5,19 \pm 0,02 ^{Ba}	0,090 \pm 0,01 ^{Bb}
	14	5,20 \pm 0,01 ^{Ba}	0,100 \pm 0,10 ^{Bb}
	21	5,17 \pm 0,04 ^{Bb}	0,100 \pm 0,00 ^{Bb}
R3	1	5,85 \pm 0,06 ^{Aa}	0,046 \pm 0,01 ^{Aa}
	7	5,70 \pm 0,06 ^{Aa}	0,049 \pm 0,01 ^{Aa}
	14	5,30 \pm 0,05 ^{Ba}	0,055 \pm 0,00 ^{Aa}
	21	5,06 \pm 0,07 ^{Bb}	0,053 \pm 0,01 ^{Aa}
R4	1	5,34 \pm 0,08 ^{Ba}	0,077 \pm 0,01 ^{Ba}
	7	4,90 \pm 0,10 ^{Cb}	0,104 \pm 0,04 ^{Bb}
	14	4,37 \pm 0,04 ^{Cc}	0,140 \pm 0,05 ^{Bc}
	21	4,07 \pm 0,04 ^{Cd}	0,180 \pm 0,03 ^{Cd}

* Formulação controle.

A,B,C: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as diferentes formulações avaliadas no mesmo período de armazenamento.

a,b,c,d: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada formulação avaliada.

A ricota apresenta um pH médio de aproximadamente 5,8 (FOX et al., 2000). Esse valor está de acordo com o pH médio encontrado nas ricotas estudadas, principalmente com a controle (R1), que manteve essa média por todo o período de armazenamento. A ricota R3, adicionada de inulina, apresentou valores de pH iniciais próximos ao controle, porém com decréscimo com o tempo de armazenamento, sendo significativa a diferença apenas no dia 21. Tal comportamento pode ser justificado pelo fato de que a redução nos valores de pH, comumente observada em queijos e outros produtos lácteos fermentados, é um processo natural causado pela contínua produção de ácido láctico, aminoácidos e ácidos graxos livres formados pela proteólise e lipólise, e

outros ácidos orgânicos provenientes da fermentação da lactose (CARDARELLI et al., 2008a; Di PIERRO et al., 2011).

No entanto, com relação às ricotas adicionadas de *L. acidophilus* La-5 (R2 e R4), os valores de pH observados foram mais baixos durante todo o armazenamento, quando comparados às demais formulações. Tal fato pode estar associado à presença da bactéria probiótica nessas formulações. Além disso, a ricota R4, adicionada de inulina e La-5, apresentou reduções significativas no pH durante todos os períodos de armazenamento. Esse comportamento pode estar associado à suplementação dessa ricota com inulina, que pode ter influenciado as funções metabólicas do microrganismo probiótico, levando à redução do pH, visto que quando este prebiótico é metabolizado, há a produção de ácidos carboxílicos de cadeia curta, como butirato, acetato e propionato (KOLIDA; GIBSON, 2007). Similarmente, Buriti, Cardarelli e Saad (2007) ao avaliarem queijo fresco cremoso simbiótico observaram reduções significativas em todos os períodos de armazenamento.

As ricotas R1 (controle) e R3 (adicionada de inulina) apresentaram valores de acidez livre titulável similares durante os 21 dias de armazenamento, enquanto R2 (adicionada de *Lactobacillus acidophilus*) e R4 (adicionada de inulina e *Lactobacillus acidophilus*) diferiram apenas no último dia de armazenamento, quando a ricota simbiótica apresentou maior valor de acidez livre titulável. Ao avaliar cada formulação nos diferentes tempos de armazenamento, observa-se um aumento significativo nos valores de acidez livre titulável no 7º dia de armazenamento, para R1 e R2, mantendo-se essas estáveis durante o restante do período de análise. Esses resultados são similares aos observados por Di Pierro et al. (2011) ao avaliarem a vida de prateleira de ricota, relataram um aumento na acidez titulável, durante as duas primeiras semanas, observando estabilidade ao longo do armazenamento. A ricota adicionada de inulina e *Lactobacillus acidophilus* (R4) apresentou um aumento significativo em todos os períodos de armazenamento, sendo este inversamente proporcional ao comportamento apresentado quanto aos valores de pH dessa formulação, condizendo com a afirmação de Esper, Bonets e Kuaye (2007), de que os valores de pH e o teor de acidez livre titulável podem ser correlacionados de forma inversamente proporcional. Fritzen-Freire et al. (2013) também relataram um aumento na acidez e redução no pH para as

amostras de ricota cremosa.

3.3 Viabilidade do microrganismo probiótico

Tabela 4. Populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 (média \pm desvio-padrão) obtidas para as ricotas R2 (adição de *L. acidophilus*) e R4 (adição de *L. acidophilus* e inulina), após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a $4\pm 1^\circ\text{C}$.

Armazenamento (dias)	Populações de <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 (log UFC/g)	
	Ricotas	
	R2	R4
1	9,12 \pm 0,06 ^{Aa}	9,24 \pm 0,10 ^{Aa}
7	8,55 \pm 0,50 ^{Ab}	8,67 \pm 0,15 ^{Ab}
14	8,10 \pm 0,20 ^{Ab}	8,58 \pm 0,13 ^{Ab}
21	7,25 \pm 0,20 ^{Ac}	8,36 \pm 0,07 ^{Bb}

^{A,B}: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as diferentes formulações avaliadas no mesmo período de armazenamento.

^{a,b}: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada formulação avaliada.

A contagem de *L. acidophilus* (Tabela 4), na ricota durante os 21 dias de armazenamento sob refrigeração, apresentaram-se entre 9,12 e 7,25 log UFC/g para R2 e entre 9,24 e 8,36 log UFC/g para R4, nos dias 1 e 21 respectivamente. Dessa maneira, com base na legislação vigente, que preconiza que a quantidade mínima viável de cultura probiótica deve ser de 8 a 9 log UFC na porção diária do produto pronto para consumo dentro do seu prazo de validade (ANVISA, 2008), pode-se classificar as ricotas R2 e R4 como probiótica e simbiótica respectivamente. Valores similares foram obtidos por Araújo et al. (2009) em estudo realizado com queijo tipo Cottage simbiótico (8,20 log UFC/g).

Da mesma forma, Souza e Saad (2009) obtiveram contagens viáveis (acima de 6 log UFC/g) de La-5 durante os 21 dias de armazenamento de queijo minas frescal adicionado desse probiótico. Outros autores também relataram uma satisfatória viabilidade da cultura probiótica em queijos frescos (ARAÚJO et al., 2010; BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008; CARDARELLI et al., 2008a; FRITZEN-FREIRE, 2013; PEREIRA et al., 2010; SOUZA; SAAD, 2009; VINDEROLA et al., 2000). Tais resultados incentivam as pesquisas utilizando-se a ricota como uma matriz para veiculação de probióticos.

Com base nas médias obtidas para todo o período de armazenamento das ricotas é possível perceber que as contagens de populações de probiótico foram mais elevadas nas ricotas suplementadas com inulina. Resultado semelhante foi observado por Romano et al. (2012), que verificaram que a inulina influenciou positivamente nas contagens de *L. acidophilus* em frozen yogurt simbiótico, ficando acima de 6 log UFC/g.

Da mesma forma Cardarelli et al. (2008a) relataram que adição de inulina e oligofrutose exerceram influência na viabilidade de probióticos em queijos petit-suisse, uma vez que os queijos suplementados com os ingredientes prebióticos em combinação foram os mais promissores, pois apresentaram uma maior sobrevivência da cepa de *L. acidophilus*. Segundo esses autores, os prebióticos adicionados ao queijo exerceram um papel protetor sobre estes, colaborando assim na sobrevivência dos probióticos durante o processamento e armazenamento. Similarmente, Paseephol e Sherkat (2009) observaram maior sobrevivência de cepas probióticas em iogurtes suplementados com inulina, que apresentaram ao final contagens 1 log mais elevadas.

Contrariamente, Pimentel, Garcia e Prudêncio (2012) não observaram influência significativa na viabilidade de bactérias probióticas com a adição de inulina. De acordo com esses autores, a multiplicação e a manutenção da viabilidade de culturas probióticas na presença de inulina varia com o grau de polimerização, sendo mais eficientes em cadeias curtas, além do fato de determinadas cepas serem específicas na fermentação desse carboidrato, enquanto outras cepas preferem outros substratos, como a lactose, o que pode ter contribuído para o baixo efeito do prebiótico no desenvolvimento do probiótico.

3.4 Contaminante (bolores e leveduras)

Para todas as ricotas, contagens desses microrganismos foram possíveis a partir do 14º dia de análise. Os resultados variaram de 0,83 a 1,37 log UFC/g no 14º dia e de 2,43 a 2,96 log UFC/g no fim do período de armazenamento (21 dias). Resultados esses, bem inferiores aos relatados por Cereser et al. (2011), ao avaliarem a qualidade microbiológica de ricotas comercializadas em supermercados do estado de São Paulo. Esses autores observaram que a

maioria das amostras apresentavam contagem na faixa entre 5 e 6 log UFC/g e algumas oscilações entre 4 e 5 log UFC/g. Em outro estudo, CARRIJO et al. (2011) observaram contagens variando de $8,3 \times 10^7$ a $3,6 \times 10^{10}$ UFC/g.

A ricota é considerada um dos produtos que apresentam as melhores condições para a multiplicação de microrganismos, sejam patogênicos ou deteriorantes. Isso se deve, principalmente, à alta umidade e à disponibilidade de nutrientes, como sais minerais e lactose, o que compromete a qualidade do produto durante sua vida de prateleira (Di PIERRO et al., 2011; MAIA; FERREIRA; ABREU, 2004). Contagens elevadas de bolores e leveduras, além de reduzir a validade comercial desse produto (devido ao alto poder de deterioração destes microrganismos, resultando em rejeição do produto pelas alterações visuais e sensoriais), podem representar um risco à saúde coletiva devido à produção de metabólitos tóxicos por algumas espécies de bolores (CARMINATI et al., 2002; FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Embora a legislação brasileira atual não traga parâmetros regulamentadores para a presença ou ausência de bolores e leveduras, sabe-se que é praticamente impossível obter contagens iguais a zero em produtos considerados frescos (RIBEIRO et al., 2005). Sendo assim, a análise para verificação da presença desses microrganismos e sua quantificação foi realizada como forma de controle desta microbiota, visando estabelecer o prazo de validade das ricotas desenvolvidas, uma vez que este produto não é adicionado de conservantes.

Com a avaliação da contagem de bolores e leveduras, foi possível também avaliar a possibilidade de uma inibição desse contaminante deteriorante pela presença da cultura probiótica *L. acidophilus* La-5, uma vez que bactérias probióticas podem inibir a multiplicação de outros microrganismos através da atividade de vários compostos, incluindo ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, compostos alcoólicos, diacetil e bacteriocinas. Com isso, cria-se um ambiente hostil para patógenos e organismos de deterioração nos alimentos, principalmente pela redução do pH (FAVARO; PENNA; TODOROV, 2015; MESSAOUDI et al., 2013; SAAD et al., 2001). Com base nos resultados obtidos para a contagem desses microrganismos nos diferentes tratamentos, conclui-se que a cepa de *Lactobacillus acidophilus* La-5 não exerceu um efeito bioconservante nos

produtos, uma vez que a contagem dos mesmos não diferiram estaticamente. Semelhantemente, Buriti, Cardarelli e Saad (2007) não observaram diferenças significativas na concentração de bolores e leveduras entre os queijos suplementados ou não com cultura probiótica de *Lactobacillus paracasei*.

3.5 Textura

Na Tabela 5 são apresentadas as médias obtidas para o parâmetro firmeza para as ricotas R1, R2, R3 e R4.

Tabela 5. Valores de firmeza (média \pm desvio-padrão) obtidos para as ricotas R1 (controle, sem adição de *L. acidophilus* e inulina), R2 (adição de *L. acidophilus*), R3 (adição de inulina) e R4 (adição de *L. acidophilus* e inulina), após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento a $4\pm 1^\circ\text{C}$.

Ricotas	Armazenamento (Dias)	Firmeza (N)
R1*	1	11,02 \pm 1,84 ^{Aa}
	7	12,13 \pm 1,43 ^{Aa}
	14	14,35 \pm 2,36 ^{Ab}
	21	13,19 \pm 0,91 ^{Ab}
R2	1	11,72 \pm 0,85 ^{Aa}
	7	13,16 \pm 0,16 ^{Ab}
	14	14,92 \pm 0,87 ^{Ab}
	21	16,14 \pm 1,55 ^{Bc}
R3	1	7,58 \pm 0,77 ^{Ba}
	7	12,12 \pm 2,05 ^{Ab}
	14	14,93 \pm 2,54 ^{Ac}
	21	15,76 \pm 4,67 ^{Bd}
R4	1	7,61 \pm 0,44 ^{Ba}
	7	12,65 \pm 0,80 ^{Ab}
	14	15,74 \pm 1,13 ^{Bc}
	21	17,37 \pm 0,54 ^{Cd}

* Formulação controle.

^{A,B,C}: letras maiúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as diferentes formulações avaliadas no mesmo período de armazenamento.

^{a,b,c}: letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes períodos de armazenamento para cada formulação avaliada.

Todas as formulações de ricotas apresentaram um aumento na firmeza entre o primeiro e último dia de armazenamento ($p < 0,05$). No entanto, ao

avaliar o comportamento de cada formulação durante o armazenamento, nota-se que as ricotas R3 e R4, adicionadas de inulina, apresentaram-se similares, com um aumento progressivo significativo em todos os dias de análise ($p < 0,05$), diferentemente do aumento observado nas ricotas sem adição de inulina, que não apresentaram um aumento progressivo. Um aumento no parâmetro de firmeza ao decorrer do período de armazenamento também foi observado por Buriti, Cardarelli e Saad (2008) ao investigaram a influência da adição de *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* e inulina na firmeza de queijo fresco cremoso potencialmente simbiótico durante 21 dias de armazenamento a $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Os autores relataram que mesmo a inulina atingindo 24% do total de ingredientes da formulação dos queijos, a firmeza do queijo fresco cremoso simbiótico foi próxima a do controle.

O que contradiz, com o constatado por Juan et al. (2013), que obtiveram queijos produzidos com inulina classificados como menos duros que os queijos com teor de gordura reduzido, sendo mais semelhantes ao queijo feito a partir de leite integral. Da mesma forma, Araújo et al. (2010) não notaram alterações na textura (para o parâmetro dureza), em queijo cottage adicionado de 8% de inulina e microrganismo probiótico, após 15 dias de armazenamento a 5°C .

A ricota controle (R1) apresentou aumento significativo na firmeza no 14º dia de armazenamento, mantendo-se constante até o término do período de análise, enquanto que a probiótica, R2, apresentou um aumento no 7 dia de armazenamento, permanecendo estável, sem variação significativa entre o 7º e 14º dia ($p > 0,05$). Porém, de um modo geral, todas as formulações apresentaram valores superiores de firmeza ao término do armazenamento.

O efeito da inulina, no aumento progressivo da firmeza das ricotas suplementadas com esse ingrediente, pode ser justificado devido à ligação direta da firmeza com o teor de sólidos totais, depois a inulina pode interagir com as proteínas do leite e do soro o que aumenta a firmeza e viscosidade (KARIMI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2011). Segundo Karimi et al. (2015) supõe-se que a inulina liga-se com a β -lactoglobulina, e essa interação aumenta os valores de elasticidade da rede de gel, resultando em uma rede mais resistente, uma vez que as ligações existentes entre os cristais de inulina e as proteínas do soro são mais fortes. Dessa forma, como a geleificação nas ricotas adicionadas de inulina foi mais intensa que nas ricotas sem a adição

desse prebiótico, ocorreu uma contribuição desse no aumento progressivo significativo nas formulações adicionadas de inulina.

Além de alterar a textura de alimentos lácteos, a presença de inulina pode conferir a alegação de prebiótico aos alimentos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), descreve na Lista de Alegações de Propriedade Funcional para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos, que a porção do produto pronto para consumo deve fornecer no mínimo 3 gramas de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 grama se o alimento for líquido, para que possa ser especificado no rótulo que o produto contribui para o equilíbrio da microbiota intestinal (ANVISA, 2008). Dessa forma, de acordo com os parâmetros determinados pela Anvisa, a porção diária desse produto (30g) deve fornecer no mínimo 3 g do prebiótico, para que as ricotas R3 e R4 sejam classificadas como prebiótica e simbiótica, respectivamente. Dessa forma, essas formulações podem receber esta classificação, uma vez que utilizou-se 10% de inulina nas formulações.

4. Conclusão

A adição de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e/ou inulina em ricota resultou em produtos que podem ser classificados como probiótico, prebiótico e simbiótico, uma vez que as populações observadas para La-5 e a concentração de inulina presentes nos produtos estavam de acordo com o preconizado pela legislação brasileira vigente. O desenvolvimento de ricota probiótica, prebiótica e simbiótica mostrou-se tecnologicamente viável, pois essa se mostrou capaz de garantir a estabilidade das células probióticas, uma vez que seu processo de fabricação permitiu a adição da bactéria probiótica apenas no final do processo, fazendo da mesma um carreador dessas bactérias benéficas. Além disso, apesar das formulações adicionadas de inulina terem apresentado um aumento na firmeza, pode-se afirmar que o produto não sofreu alterações importantes em suas características, uma vez que a formulação controle também obteve valores maiores de firmeza ao término do período de armazenamento. Dessa forma, pode-se sugerir a ricota como uma matriz láctea alternativa para a ingestão de *L. acidophilus* La-5 e/ou inulina.

5. Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Comissões de assessoramento tecnocientífico em alimentos funcionais e novos alimentos. **Aprova alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.** Lista das alegações aprovadas de 11 de janeiro de 2005. Atualizada em julho de 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissões/tecno_lista_alega.htm>. Acesso em: 13 nov. 2008.

ALVES, L. de L.; MATTANNA, P.; BECKER, L.V.; RICHARDS, N.S.P.S.; ANDRADE, D.F. de. Avaliação sensorial de *cream cheeses* potencialmente simbióticos utilizando a metodologia de superfície de resposta. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 409-416, 2008.

ANDRADE, S. de; FLORESTA, P.M. de M.; MARTINS, A.D. de O.; MARTINS, M.L.; MARTINS, J.M. Avaliação das características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais de ricotas em pasta condimentadas. **Vértices**, v.16, n. 1, p. 87-99, 2014.

APOLINÁRIO, A.C.; DAMASCENO, B.P.G. de L.; BELTRÃO, N.E. de M.; PESSOA, A.; CONVERTI, A.; SILVA, J.A. da. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 368-378, 2014.

ARAÚJO, E.A.; CARVALHO, A.F. de; LEANDRO, E.S.; FURTADO, M.M.; MORAES, C.A. de. Produção de queijo tipo cottage simbiótico e estudo de sobrevivência das células probióticas quando expostas a diferentes estresses. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 2, p. 11-118, 2009.

ARAÚJO, E.A.; CARVALHO, A.F. de; LEANDRO, E.S.; FURTADO, M.M. Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. **Journal of Functional Foods**, v. 2, p. 85-89, 2010.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**.15 ed. Washington: AOAC, 1995.

BORTOLOZO, E. Q.; QUADROS, M. H. R. Aplicação de inulina e sucralose em iogurte. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 01, n. 01, p. 37-47, 2007.

BOT A.; ERLE, U.; VREEKER, R.; AGTEROF, W.G.M. Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 547-556, 2004.

BOWER, J.A. Statistics for food science IV: two sample tests. **Nutrition and Food Science**, v.27, n.1, p.39-43, 1997.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V: ANOVA and multiple comparisons (partB). **Nutrition and Food Science**, v.28, n.1, p.41-48, 1998a.

BOWER, J.A. Statistics for food science – V part C: non-parametric ANOVA. **Nutrition and Food Science**, v.28, n.2, p.102-108, 1998b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 27/1998. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 16 jan. 1998. Disponível em: [http://crn6.org.br/legislacao_alimentacao_e_nutricao/portaria/Portaria SVS-MS 27-1998 Informacao nutricional complementar.pdf](http://crn6.org.br/legislacao_alimentacao_e_nutricao/portaria/Portaria_SVS-MS_27-1998_Informacao_nutricional_complementar.pdf).

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº. 146, de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 11 de mar. 1996.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus* potentially probiotic and symbiotic fresh cream cheeses. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 1, p. 228-235, 2007.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 75-83, 2008.

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

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. **Food Science and Technology**, n. 41, p. 1037-1046, 2008a.

CARDARELLI, H.R.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CASTRO, I.A. de; SAAD, S.M.I. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 1318-1324, 2008b.

CARMINATI, D.; BELLINI, E.; PERRONE, A.; NEVIANI, E.; MUCCHETTI, G. Traditional Ricotta cheese survey of the microbiological quality and its shelf-life. **Industrie Alimentari**, v. 41, n. 414, p. 549-555, 2002.

CARRIJO, K. de F.; CUNHA, F.L.; NEVES, M. da S.; FERREIRA, P.N. de S.; NUNES, E. do S.C. de L.; FRANCO, R.M.; MIHOMEM, R.; NOBRE, F.S.D. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de ricotas frescas comercializadas no município de Niterói, rio de Janeiro, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 17, n. 2, p. 97-110, 2011.

CERESER N.D.; JUNIOR, O.D.R.; MARCHI, P.G.F. de; SOUZA, V. de; CARDOZO, M.V.; MARTNELI, T.M. Avaliação da qualidade microbiológica da ricota comercializada em supermercados do estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12, n 1, p. 149-155, 2011.

CHANDAN, A. K. **Dairy processing and quality assurance**. United States: Wiley-Blackweel, 2008.

Di PIERRO, P.; SORRENTINO, A.; MARINIELLO, L.; GIOSAFATTO, C.V.L. Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. **Food Science and Technology**, v.44, p. 2324-2327, 2011.

ESPER, L.M.R.; BONETES, P.A.; KUAYE, A.Y. Avaliação das características físico-químicas de ricota comercializadas no município de Campinas-SP e da conformidade das informações nutricionais declaradas nos rótulos. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 3, p. 299-304, 2007.

FAVARO, L.; PENNA, A.L.B.; TODOROV, S.D. Bacteriocinogenic LAB from cheeses – Application in biopreservation?. **Trends in Foosd Science & Technology**, v. 41, p. 37-48, 2015.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. 182 p.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofrutose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n. 2, p. 287-291, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C.B.; PRUDÊNCIO, E.S.; PINTO, S.S.; MUÑOZ, I.B.; MÜLER, C.M.O.; VIEIRA, C.R.W.; AMBONI, R.D.M.C. Effect of the application of *Bifidocaterium*BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, p. 50-55, 2013.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H.. **Fundamentals of Cheese Science**, Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland, 2000. 559p.

GONÇALVES, A.A.; ROHR, M. Desenvolvimento de balas mastigáveis adicionadas de inulina. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 471-478, 2009.

HAULY, M. C. de O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e oligofrutoses: uma revisão sobre as propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, Londrina, v. 23, n. 1, 2002.

HAUSCHILD, F. A. D.; CAPITANI, C.; FRIEDRICH, C.J.; LEHN, D.N.; SOUZA, C.F.V. de. Avaliação de diferentes ácidos na coagulação das proteínas do soro de queijo no processo de fabricação da ricota. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1165-1176, 2014.

HENNELLY, P.J.; DUNNE, P.G.; O'SULLIVAN, M.; O'RIORDAN, E.D. Textural, rheological and microstructural properties of imitation cheese containing inulin. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 388-395, 2006.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Fermented and non-fermented milk products. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culturemedia. **Bulletin of the IDF 306**. Brussels: IDF, 1995. p.23-33.

JUAN, B.; ZAMORA, A.; QUINTANA, F.; GUAMIS, B.; TRUJILLO, A.J. Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 66, p. 1-6, 2013.

KARIMI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, M.; Sensory characteristics of probiotic cheese. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 437-452, 2012.

KARIMI, R.; AZIZI, M.H.; GHASEMLOU, M.; VAZIRI, M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 119, p. 85-100, 2015.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Prebiotic capacity of inulin-type fructans. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2503-2506, 2007

LIMA, M.F.; COSTA, R.R.G.F. Análises físico-químicas e microbiológicas de ricota fresca em laticínio no sudoeste goiano. **Revista de Biotecnologia & Ciência**, v. 2, n. 2, p. 75-88, 2013.

MADUREIRA, A.R.; BRANDÃO, T.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.E.; MALCAT, F.X.. Technological optimization of manufacture of probiotic whey cheese matrices. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 2, p. 203-211, 2011.

MADUREIRA, A.R.; SOARES, J.C.; AMORIN, M.; TAVARES, T.; GOMES, A.M.; PINTADO, M.M.; MALCATA, F.X.. Bioactivity of probiotic whey cheese: characterization of the content of peptides and organic acids. **Journal Science of Food Agriculture**, v. 93, p.1458-1465, 2013.

MAGARIÑOS, H.; SELAIVE, S.; COSTA, M.; FLORES, M.; PIZARRO, O. Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*Bb-12) in ice cream. **International Journal of Dairy Technology**, v. 60, n. 2, p. 128-134, 2007.

MAIA, S. R.; FERREIRA, A. C.; ABREU, L. R. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota. **Ciênc.Agrotec.**, Lavras, v. 28, n. 2, p.358-365, mar.-abr., 2004.

MARQUES RIBEIRO, K. M.; PEREIRA, L.C.; DOUZA, C.H.B. de; SAAD, S.M.I. Comportamento de cepas distintas de *Lactobacillus acidophilus* em queijo *petit-suisse*. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, v. 62, n. 4, p. 347-354, 2012.

McSWEENEY, P.L.H. **Cheese problems solved**. BocaRaton, USA, 2007.

MESSAOUDI, S.; MANAI, M.; KERGOURLAY, G.; PRÉVOST, H.; CONNIL, N.; CHOBERT, J.-M.; DOUSSET, X. *Lactobacillus salivarius*: bacteriocin and probiotic activity. **Food Microbiology**, v. 36, p. 296-304, 2013.

MEYER, D.; BAYARRI, S.; TÁRREGA, A.; COSTELL, E. Inulin as texture modifier in dairy products. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1881-1890, 2011.

MODLER, H.W; EMMONS, D.B. The use of continuous ricotta processing to reduce ingredient cost in 'further processed' cheese products. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 517-523, 2001.

MORRIS, C.; MORRIS, G.A. The effect of inulin and fructo-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management. **Food Chemistry**, v. 133, p. 237-248, 2012.

OLIVEIRA, R.P. de S. et al. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented Milk firmness. **Journal of Food Engineering**, v. 107, p. 36-40, 2011.

PASEEPHOL, T.; SHERKAT, F. Probiotic stability of yogurths containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. **Journal of Functional Foods**, v.1, p. 311-318, 2009.

PEREIRA, L. C.; SOUZA, C.H.B. de; BEHRENS, J.H.; SSAD, S.M.I. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. In co-culture improve sensory acceptance of potentially probiotic petit-suisse cheese. **Acta Alimentaria**, v. 39, n. 3, p. 265-276, 2010.

PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H..Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* sp. *Paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 65, n. 1, p. 104-110, 2012.

PRUDÊNCIO, E. S. Effect of whey nanofiltration process combined with diafiltration on the rheological and physicochemical properties of ricotta cheese. **Food Research International**, v.56, p. 92-99, 2014.

RIBEIRO, A.C.; MARQUES, S.C.; SODRÉ, A. de F.; ABREU, L.R. de; PICCOLI, R.H. Controle microbiológico da vida de prateleira de ricota cremosa, **Ciência e Agrotecnologia**, vol.29, n.1, p. 113-117, 2005.

ROMANO, C.C. et al. Influência da inulina nas características químicas, sensoriais e sobrevivência do *L. acidophilus* em *frozenyogurt* simbiótico com teor reduzido de lactose. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 3, n. 1, p. 36-43, 2012.

SAAD, S. M. I., C. et al. Influence of lactic acid bacteria on survival of *Escherichia coli*O157:H7 in inoculated Minas cheese during storage at 8°C. **Journal of Food Protection**, v.64, p.1151–1155, 2001.

SALVATORE E.; PES, M.; FALCHI, G.; PAGNOZZI, D.; FURESI, S.; FIORI, M.; ROGGIO, T.; ADDIS, M.F.; PIRISI, A.. Effect of whey concentration on protein recovery in fresh ovine ricotta cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p. 4686-4694, 2014.

SANTOS, J. P. V.; GOULART, S. M.; RAMOS, A. M. Influência da adição de inulina nas características físico-químicas e sensoriais do doce de leite cremoso. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 388, p. 35-40, 2012.

SILVA, L.F.M. da; FERREIRA, K.S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal “light” e ricota. **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 437-441, 2010.

SILVA, E.A. da; SANTOS, E.A.L. dos; AQUINO, A.B. de; ARAUJO, J.M.; DIAS, S.S.; LIMA, J.S.; MACHADO, J.A.; SANTANA, L.C.L. de A. Processamento de ricota natural e condimentada: avaliação microbiológica e sensorial. **Revista Geintec – Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 2, p. 788-795, 2014.

SMITHERS, G. W. Whey and whey proteins – from ‘gutter-to-gold’. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 695-704, 2008.

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. **Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 633-640, 2009.

VENTUROSO, R.C; ALMEIDA, K.E de; RODRIGUES, A.M; DAMIN, M.R; OLIVEIRA.M.N de. Determinação da composição físico-química de produtos lácteos: estudo exploratório de comparação dos resultados obtidos por metodologia oficial e por ultra-som. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.43, n. 4, out./dez., 2007.

VINDEROLA, C.G.; PROSELLO, W.; GHIBERTO, D.; REINHEIMER, J.A.. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.9, p.1905-1911, 2000.