

MARÍLIA MAGALHÃES GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO QUARK  
SIMBIÓTICO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência e Tecnologia de Alimentos,  
para obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

MARILIA MAGALHÃES GONÇALVES

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO  
QUARK SIMBIÓTICO**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia  
de Alimentos, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

APROVADA: 25 de março de 2009.

---

Prof. Paulo César Stringheta  
(Co-Orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Valéria Paula Rodrigues Minim  
(Co-Orientadora)

---

Prof. Afonso Mota Ramos

---

Prof. Luis Augusto Nero

---

Prof. Antônio Fernandes de Carvalho  
(Orientador)

Para minha mãe, Dayze.  
Que muito cedo me ensinou, com seu exemplo,  
a valorizar o estudo e o conhecimento.

Com muito amor e gratidão, dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, por tudo que me ofereceu ao longo destes anos.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realização do curso.

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

Ao professor Antônio Fernandes de Carvalho, pelos ensinamentos, pela confiança e orientação deste trabalho.

Aos professores Paulo César Stringheta e Valéria Paula Rodrigues Minim, pela participação e auxílio.

Ao professor Afonso Mota Ramos, pelas sugestões e por disponibilizar seu laboratório e o reômetro.

À professora Célia Alencar de Moraes, por permitir a utilização de seu laboratório e fornecer a cultura de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20.

Aos professores e funcionários do DTA, por todo o apoio, em especial ao Pio, pelo enorme auxílio na fase inicial deste trabalho.

Aos funcionários do Laticínio FUNARBE, especialmente ao José Carlos.

À colega Eliana Leandro pela grande ajuda na produção dos concentrados do *L. delbrueckii* UFV H2b20.

À Érica Neves pelo auxílio nas análises reológicas.

À Márcia Vidigal pela amizade e ajuda na construção dos mapas de preferência.

A todos os amigos do Laboratório de Leite e Derivados: Rosângela, Geruza, Michele, Júlia, Arlan, Gabriel, Ramon, Laryssa, Carolina e Giana pela convivência agradável, pelo ambiente de cooperação e pelos bons momentos de descontração. Em especial agradeço aos meus estagiários Jessica, Naaman e Guilherme pela amizade, empenho e responsabilidade na execução do trabalho.

Aos meus pais, Divino e Dayze, por todo o amor, apoio e incentivo.

À Mariana, por sua amizade, carinho e pela alegria de tê-la como irmã.

À Luciene, por cuidar de mim e da minha família.

Ao Marconi, por ser um grande companheiro, sempre ao meu lado compartilhando alegrias e tristezas e me incentivando em meus propósitos.

A Deus, presença constante em minha vida, por me proteger, fortalecer e guiar.

## **BIOGRAFIA**

MARÍLIA MAGALHÃES GONCALVES, filha de Divino Carlos Gonçalves e Dayze Maria Magalhães Gonçalves, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 26 de novembro de 1982.

Em maio de 2002, iniciou o curso de Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em março de 2007.

Neste mesmo mês, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, em nível de Mestrado, tendo defendido a dissertação em 25 de março de 2009.

## ÍNDICE

<b>Lista de Figuras</b> .....	<b>viii</b>
<b>Lista de Tabelas</b> .....	<b>ix</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiii</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>i</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>iii</b>
2.1 Alimentos Funcionais .....	iii
2.2 Probióticos.....	iv
2.2.1 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> .....	vi
2.2.2 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	vii
2.2.3 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> UFV H2b20 .....	viii
2.3 Prebióticos.....	ix
2.3.1 Inulina.....	x
2.4 Simbióticos .....	xi
2.5 Queijo Quark .....	xii
2.6 Reologia .....	xiv
2.7 Avaliação Sensorial .....	xvi
2.7.1 Aceitação.....	xvi
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>xix</b>
3.1 Culturas microbianas.....	xix
3.1.1 Produção do concentrado de células viáveis de <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 .....	xix
3.1.2 Culturas comerciais de <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> .....	xx
3.1.3 Culturas acidificantes .....	xx
3.2 Produção do queijo quark desnatado simbiótico .....	xxi
3.3 Delineamento experimental e análises estatísticas .....	xxiii

3.4	Determinação da viabilidade das células probióticas ao longo da vida de prateleira do queijo tipo quark simbiótico.....	xxiv
3.5	Análises físico-químicas do leite.....	xxv
3.6	Análises físico-químicas e microbiológicas do queijo .....	xxv
3.7	Análises reológicas.....	xxvi
3.8	Aceitação sensorial do queijo tipo quark simbiótico .....	xxvii

**RESULTADOS E DISCUSSÃO .....xxix**

4.1	Desenvolvimento do produto.....	xxix
4.2	Viabilidade dos probióticos durante o período de estocagem do queijo tipo quark simbiótico .....	xxx
4.3	Análises microbiológicas e físico-químicas .....	xxxiii
4.4	Comportamento reológico de escoamento do queijo tipo quark simbiótico.....	xxviii
4.5	Aceitabilidade sensorial do queijo tipo quark simbiótico.....	xlvii

**CONCLUSÕES .....liii**

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....liv**



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 2 – Reograma para queijo com *L. acidophilus* (LA5) nas temperaturas de 8 °C e 15 °C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência).  
..... xliv
- Figura 3 – Reograma para queijo com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) nas temperaturas de 8 °C e 15°C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência)..... xliv
- Figura 4 – Reograma para queijo com *L. delbrueckii* UFV H2b20 nas temperaturas de 8°C e 15 °C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência)..... xlv
- Figura 5 – Reograma para queijo com *L. acidophilus* (LA5) nas temperaturas de 8 °C e 15°C, ajustado ao modelo de Casson..... xlv
- Figura 6 – Reograma para queijo com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) nas temperaturas de 8°C e 15 ° C, ajustado ao modelo Casson..... xlv
- Figura 7 – Reograma para queijo com *L. delbrueckii* UFV H2b20 nas temperaturas de 8 °C e 15°C, ajustado ao modelo de Casson..... xlv
- Figura 8 – Mapa de Preferência Interno para as amostras de queijo tipo quark avaliadas após 5 (A), 15 (B) e 25 (C) dias de estocagem sob refrigeração  
..... xlix
- Figura 9 – Histogramas com as freqüências das notas atribuídas aos queijos tipo quark simbióticos avaliados após 5 (A), 15 (B) e 25 (C) dias..... li

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Equações constitutivas de alguns modelos reológicos .....	xvi
Tabela 2 – Resumo da análise de variância para contagem de células viáveis de <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 durante o período de estocagem do queijo tipo quark simbiótico .....	xxxii
Tabela 3 – Médias das contagens de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> UFV H2b20 em queijo tipo quark simbiótico ao longo 25 dias de estocagem a 5 °C .....	xxxii
Tabela 4 – Contagens de <i>L. acidophilus</i> (LA5) e <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) em queijo tipo quark simbiótico ao longo 25 dias de estocagem a 5°C.....	xxxii
Tabela 5 – Médias ( $\pm$ desvio padrão) das medidas dos parâmetros físico-químicos do leite utilizado para produção das formulações de queijo tipo quark com os diferentes probióticos <i>L. acidophilus</i> (LA5), <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) e <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 .....	xxxiv
Tabela 6 – Resumo da análise de variância para os parâmetros físico-químicos dos queijos tipo quark simbióticos analisados após 1 dia de fabricação .....	xxxv
Tabela 7 – Médias da composição físico-química das formulações de queijo tipo quark com os diferentes probióticos <i>L. acidophilus</i> (LA5), <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) e <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 .....	xxxv
Tabela 8 – Resumo da análise de variância para a evolução do parâmetro acidez titulável ao longo dos 25 dias de estocagem do queijo tipo quark simbiótico.....	xxxvi
Tabela 9 – Valores médios de acidez titulável do queijo tipo quark simbiótico com os probióticos <i>L. acidophilus</i> (LA5), <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) e <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 ao longo de 25 dias de armazenamento a 5 °C .....	xxxvi
Tabela 10 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com <i>L. acidophilus</i> (LA5) a 8 °C e 15 °C .....	xxxix
Tabela 11 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) a 8 °C e 15 °C .....	xxxix

Tabela 12 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 a 8 °C e 15 °C .....	xi
Tabela 13 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com <i>L. acidophilus</i> (LA5) a 8 °C e 15 °C .....	xi
Tabela 14 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) a 8 °C e 15 °C .....	xli
Tabela 15 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 a 8 °C e 15 °C .....	xli
Tabela 16 – Valores da viscosidade aparente dos queijos tipo quark com os probióticos <i>L. acidophilus</i> (LA5), <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> (BB12) e <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 analisados a 8 °C e 15 °C ao longo de 25 dias de armazenamento a 5 °C .....	xlvii

## RESUMO

GONÇALVES, Marília Magalhães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico**. Orientador: Antônio Fernandes de Carvalho. Co-orientadores: Paulo César Stringheta e Valéria Paula Rodrigues Minim.

Uma tendência do mercado de alimentos é a busca dos consumidores por produtos saudáveis, mais nutritivos, com reduzido teor de gordura e açúcares. Entre eles se destacam os produtos lácteos funcionais, nos quais são frequentemente adicionados probióticos e prebióticos. Probióticos são microrganismos que, quando ingeridos viáveis e em quantidade adequada, são capazes de promover benefícios à saúde do indivíduo. Prebióticos são ingredientes não digeríveis que estimulam o desenvolvimento seletivo de bactérias benéficas no intestino. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um queijo tipo quark desnatado simbiótico, utilizando uma nova tecnologia de fabricação, eliminando uma etapa crítica em seu processamento, facilitando a aplicação de ferramentas de qualidade. Foi utilizado o ingrediente prebiótico inulina (BENEO *Raftiline* GR) e três diferentes probióticos: *Lactobacillus acidophilus* (LA5), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12) e *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20. A viabilidade dos microrganismos foi acompanhada durante a vida de prateleira do produto estocado sob refrigeração, bem como seus efeitos nas características físico-químicas, reológicas e sensoriais do queijo. Foram produzidas três formulações em três repetições que se diferiram pelo probiótico adicionado à massa fermentada. Para cada repetição foi feita a enumeração dos microrganismos e caracterização do comportamento reológico e acidez ao longo do tempo até 25 dias de fabricação. O produto foi avaliado com relação a sua aceitabilidade sensorial após 5, 15 e 25 dias de produção, utilizando a técnica de Mapa de Preferência Interno. Os resultados obtidos indicam boa sobrevivência dos microrganismos no queijo, que se mantiveram em contagens elevadas após 25

dias de estocagem. Não houve variação de acidez do queijo ao longo do tempo. O produto foi caracterizado como um fluido pseudoplástico com tensão de fluência e suas características reológicas não variaram nos queijos com diferentes probióticos. A adição dos estabilizantes, espessantes e fibras contribuíram para elevar os índices de consistência e viscosidade aparente do produto. A nova tecnologia possibilitou a obtenção de um queijo com boa aceitação sensorial e a adição dos diferentes probióticos não promoveu alteração perceptível pelos consumidores. Assim, o produto estudado pode ser considerado um potencial carreador para microrganismos probióticos.

## ABSTRACT

GONÇALVES, Marília Magalhães, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2009. **Development and characterization of symbiotic quark cheese**. Adviser: Antônio Fernandes de Carvalho. Co-advisers: Paulo César Stringheta and Valéria Paula Rodrigues Minim.

A current food market trend is the consumers' search for healthier, lower-fat, lower-sugar and more nutritious products. In this context, functional dairy products often added with probiotics and prebiotics stand out among other products of similar nature. Probiotic bacteria are live microorganisms which when consumed in adequate amounts promote health benefits to the host. Prebiotics are non-digestible ingredients that stimulate the selective growth of beneficial bacteria in the intestine. The objective of this work was to develop a symbiotic skimmed Quark cheese, using a new manufacturing technology, which is feasible for small volume production and makes it possible the usage of quality tools for processing. The prebiotic ingredient inulin (BNEO *Raftiline* GR) and three different probiotics (*Lactobacillus acidophilus* - LA5, *Bifidobacterium animalis* - BB12 and *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20) were used in the study. Microorganism viability was monitored during shelf-life of the refrigerated product and effects of probiotics addition on the physico-chemical, rheological and sensorial cheese characteristics were determined. Three formulations were produced, in three replicates, differing by the probiotic added to the fermented mass. Microorganisms count and measurements of rheological behavior, and acidity over time up to 25 days post-manufacturing was carried out for each replication. Product was evaluated for its sensory acceptability after 5, 15 and 25 days post-manufacturing using the Internal Preference Map method. Results indicated good microorganism survival in the cheese, which remained at high counts after 25 days of storage. There was no change in cheese acidity over time. The product was characterized as a pseudoplastic fluid and its rheological characteristics did not vary in cheeses

with different probiotics. Addition of stabilizers, thickeners and fiber raised consistency and apparent viscosity levels of the product. The new technology allowed the production of a type cheese with good sensory acceptance and probiotics addition did not cause any change perceived by consumers. This product can be considered, therefore, a potential carrier for probiotic microorganisms.

## INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, tem sido observado um aumento da demanda do mercado consumidor por alimentos de alta qualidade que, além de apresentarem sabor e aparência agradáveis, sejam mais saudáveis. A informação disponível tem levado à conscientização dos consumidores da relação que existe entre alimentação e saúde, estimulando a procura por alimentos como os de baixo valor calórico, baixo conteúdo de gorduras e capazes de melhorar funções do organismo ou reduzir o risco de desenvolvimento de doenças.

Diversos estudos na área de laticínios, em especial aqueles relacionados ao valor nutricional dos ingredientes lácteos, têm sido impulsionados por este crescente interesse da população. A indústria de laticínios tem aplicado conhecimentos das propriedades funcionais e de saúde dos componentes do leite e de outros possíveis ingredientes no desenvolvimento de novos produtos. Esse é um mercado em expansão, com boas perspectivas para a fabricação de produtos lácteos adicionados de ingredientes funcionais não lácteos ou de adição de ingredientes lácteos funcionais a outros tipos de alimentos. Destacando-se a utilização de prebióticos e probióticos no desenvolvimento de produtos lácteos com alegação de propriedades funcionais.

Uma microbiota intestinal saudável e equilibrada resulta em um desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, o que irá assegurar melhoria na qualidade de vida do indivíduo. Os microrganismos probióticos, diretamente, e as substâncias prebióticas, indiretamente, exercem um papel importante na manutenção desse equilíbrio. O efeito dos microrganismos probióticos e dos ingredientes prebióticos pode ser potencializado através de sua associação nos alimentos funcionais simbióticos.

O queijo tipo quark é um produto fresco de consistência cremosa, cuja tecnologia de fabricação permite que seja usado como carreador de prebióticos e de microrganismos probióticos. Entretanto, uma etapa crítica na sua produção é o processo de drenagem do soro, que pode levar a contaminação cruzada e comprometer a qualidade e segurança do produto.



Deste modo, os objetivos deste trabalho foram desenvolver, com uso de uma nova tecnologia de fabricação, um queijo fresco tipo quark desnatado simbiótico, adicionado de inulina e de três diferentes probióticos: *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Em complementação, o presente estudo objetivou verificar a viabilidade dos microrganismos ao longo do período de vida de prateleira do produto sob refrigeração e as implicações da adição dos probióticos e do novo processamento sobre as características físico-químicas, a aceitação sensorial e o comportamento reológico do produto.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Alimentos Funcionais

O conceito de “alimentos funcionais” foi inicialmente introduzido no Japão, em meados da década de 1980, como alimentos similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, e que demonstram benefícios fisiológicos e/ou reduzem o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais. O princípio foi rapidamente adotado no mundo, entretanto, as denominações das alegações ou *claims*, assim como os critérios para sua aprovação, variam de acordo com a regulamentação local ou regional (STRINGHETA et al., 2007).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não define alimento funcional e sim alegações de propriedades funcionais e/ou de saúde de alimentos e ingredientes para consumo humano, que podem ser veiculadas nos rótulos de produtos. Alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. A alegação de propriedade de saúde é aquela que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente com doença ou condição relacionada à saúde. O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos, fisiológicos e/ou benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. Além disso, há necessidade de comprovação científica da alegação (BRASIL, 1999).

Os produtos lácteos funcionais são alimentos a base de leite enriquecidos com um componente funcional ou produtos baseados em ingredientes originários do leite (SAXELIN et al., 2003). O leite é um fluido biológico complexo que contem lipídeos, proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas, enzimas e aproximadamente 100.000 diferentes espécies moleculares em vários estados de dispersão (WALSTRA et al., 2001). É um alimento de alto valor nutricional, com digestibilidade facilitada, visando à assimilação rápida de seus constituintes. Oferece inúmeras funções fisiológicas, principalmente de

proteção, proporcionadas por proteínas e peptídeos que incluem enzimas, imunoglobulinas, inibidores de enzimas, fatores de crescimento, hormônios e agentes antimicrobianos (FOX e McSWEENEY, 2003). Desta forma, desenvolver funcionalidade em produtos lácteos significa modificar e/ou enriquecer a natureza saudável do produto original.

As proteínas do leite são fontes ricas de precursores de peptídeos biologicamente ativos. Peptídeos bioativos são formados por hidrólise enzimática de proteínas ou por atividade proteolítica de bactérias ácido lácticas na fermentação microbiana. Muitos desses peptídeos resistem à passagem pelo trato digestório, além de poderem ser formados *in vivo*, por atuação de enzimas digestivas (SAXELIN et al., 2003).

O leite também possui lipídeos potencialmente funcionais como o ácido linoléico conjugado (CLA) (LARQUÉ et al., 2001). Além disso, proteínas do soro como a lactoferrina e o glicomacropéptido (GMP) são apontados como substâncias com características funcionais (HARAGUCHI et al., 2006; AGUIAR et al., 2005).

Os produtos lácteos com alegação de propriedades funcionais mais comuns são aqueles com bactérias probióticas, freqüentemente enriquecidos com carboidratos prebióticos. As estirpes probióticas mais utilizadas em produtos lácteos pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. O leite apresenta uma composição físico-química que o torna uma matriz protetora para os probióticos, já que é rico em proteínas e possui quantidade considerável de lipídeos, favorecendo a sobrevivência das estirpes às condições adversas do trato digestório (SAXELIN, 2003). O mesmo acontece em queijos, nos quais as proteínas conferem capacidade tamponante que, juntamente com a gordura, pode oferecer proteção aos microrganismos durante a passagem pelo trato digestório (STANTON et al., 1998).

## **2.2 Probióticos**

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Microrganismos de diferentes gêneros têm sido apontados como probióticos. As estirpes mais comuns são membros do grupo das bactérias ácido lácticas, como lactobacilos e bifidobactérias. Outros gêneros também vêm sendo utilizados como *Enterococcus*, *Pediococcus* e *Propionibacterium*. O meio mais comum de administração destas culturas são os produtos lácteos fermentados (OUWEHAND et al., 2002).

A influência benéfica dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como atividade antagonística, competição e efeitos imunológicos que levam a maior resistência contra patógenos. O consumo de culturas bacterianas probióticas estimula o desenvolvimento de bactérias benéficas, em detrimento à proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando as defesas naturais do organismo (PUUPPONEN-PIMIÄ, et al., 2002).

Aspectos de segurança, funcionalidade e tecnológicos são importantes na seleção de microrganismos probióticos. Com relação à segurança, as estirpes probióticas destinadas a humanos devem ser de origem humana, uma vez que os efeitos na saúde podem ser dependentes da estirpe. Sendo habitantes naturais do trato digestório, já estariam teoricamente adaptadas às suas condições. Devem ser isoladas de indivíduos saudáveis, não apresentarem histórico de patogenicidade ou associação com doenças intestinais, não carregarem genes de resistência a antibióticos e não serem capazes de desconjugar sais biliares. (SAARELA et al., 2000).

Quanto ao aspecto de funcionalidade, as estirpes probióticas devem ser tolerantes ao ácido presente no suco gástrico, para resistirem à passagem pelo estômago, e aos sais biliares. Devem ter capacidade de aderir à superfície intestinal e persistirem no trato digestório, tendo assim maiores chances de exercerem efeitos benéficos. Ainda, muitas estirpes apresentam atividade antagonística contra patógenos e capacidade de imunoestimulação, além de propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002).

Os aspectos tecnológicos a serem considerados na seleção de um probiótico incluem viabilidade durante o processo e estabilidade no produto durante a estocagem sem promover alterações nas suas características sensoriais (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002). Probióticos potenciais devem

possuir boas propriedades tecnológicas para serem obtidos em escala e condições industriais. (OUWEHAND et al., 2002; SAARELA et al., 2000).

Aparentemente, as culturas probióticas podem ser incorporadas a todo tipo de alimento. Entretanto, existe uma preferência por produtos lácteos, já que historicamente os processos de beneficiamento desses produtos têm sido otimizados para assegurar e aumentar a sobrevivência dos microrganismos envolvidos no processo de fermentação. Desta forma, a tecnologia existente pode ser facilmente adaptada para garantir a viabilidade dos probióticos adicionados (CRUZ et al., 2007; HELLER, 2001). Além disso, os produtos lácteos são consumidos com frequência elevada pela população, o que facilita a ingestão diária dos probióticos adicionados, condição necessária para que se obtenha um efeito satisfatório.

Segundo Lourens-Hattingh e Viljoen (2001), a sobrevivência de probióticos em produtos lácteos fermentados depende de uma série de fatores como estirpe, interação entre espécies presentes, condições de cultura, composição química do meio fermentativo, acidez final, teor de sólidos do leite, disponibilidade de nutrientes, promotores ou inibidores de crescimento, concentração de açúcares (pressão osmótica), oxigênio dissolvido, quantidade do microrganismo inoculada, temperatura de incubação e estocagem e tempo de fermentação.

### **2.2.1 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis***

Microrganismos do gênero *Bifidobacterium* são heterofermentativos e produzem ácidos acético e lático na proporção molar de 3:2 a partir de dois moles de hexoses. Produzem preferencialmente ácido lático L(+), que é mais facilmente metabolizado por humanos do que o ácido lático D(-). Todas as estirpes de origem humana são capazes de utilizar a galactose, lactose e frutose, além da glicose, como fontes de carbono. Não produzem CO<sub>2</sub>, exceto na degradação do gluconato (GOMES E MALCATA, 1999a; 1999b).

Bactérias do gênero *Bifidobacterium* são habitantes naturais do trato digestório humano. Já foi demonstrado que o consumo de bactérias bífidas vivas tem efeito na microbiota intestinal. Estirpes selecionadas sobrevivem ao trânsito estomacal e intestinal e alcançam o cólon em número elevado. Fatores

como dieta, antibióticos e estresse são apontados como capazes de influenciar a população destes microrganismos no intestino (SHAH, 2007).

Segundo Gomes e Malcata (1999b), microrganismos do gênero *Bifidobacterium* contribuem para o aumento do valor nutritivo dos produtos lácteos fermentados aos quais são adicionados. Dentre os benefícios podem ser citados o aumento da digestibilidade de gorduras e proteínas, redução no conteúdo de lactose, absorção acrescida de cálcio e ferro, equilíbrio de conteúdo de várias vitaminas e presença de metabólitos secundários associados a células probióticas viáveis.

Esses microrganismos, entretanto, apresentam limitações tecnológicas para sua adequada utilização como probióticos, como sensibilidade ao oxigênio e requerimentos nutricionais específicos para sua multiplicação (OUWEHAND et al., 2002). Desta forma, é um desafio para a indústria desenvolver produtos nos quais eles permaneçam viáveis até o consumo do alimento.

A cultura de cepa única *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12® - Chr Hansen) foi selecionada pelo fabricante especialmente para a fabricação de produtos lácteos probióticos. É uma cultura concentrada de inoculação direta que apresenta atividade fermentativa no leite e boa estabilidade durante a vida de prateleira dos produtos.

Hoje existem no mercado diversos produtos lácteos desenvolvidos com adição desta estirpe probiótica. Estudos científicos já avaliaram a sobrevivência desse microrganismo em produtos lácteos como petit suisse, iogurte, entre outros (KAILASAPATHY et al., 2008; CARDARELLI et al., 2007). Pesquisas apontam uma ação benéfica do *B. animalis* no tratamento de alergias e na diminuição da incidência de diarreia do viajante (ISOLAURI, 2001; BLACK et al., 1989).

### **2.2.2 *Lactobacillus acidophilus***

O primeiro relato sobre o efeito terapêutico de *Lactobacillus acidophilus* foi publicado em 1921, por Rettger Cheplin. Em 1935, sua equipe de pesquisadores demonstrou que desordens do trato digestório podiam ser tratadas com a administração de leites fermentados contendo números elevados de uma estirpe de *L. acidophilus*, de origem humana. Assim, desde

as primeiras décadas do século XX, já se relacionavam distúrbios intestinais com o desbalanceamento da microbiota e *L. acidophilus* foi o primeiro microrganismo indicado para sua recuperação (FERREIRA, 1999).

Essa espécie é pouco tolerante à salinidade do meio e, sendo microaerofílica, tem desenvolvimento favorecido em meios sólidos pela anaerobiose ou pressão reduzida de oxigênio (GOMES e MALCATA, 1999a). Pertence ao grupo dos microrganismos homofermentativos tendo o ácido láctico como produto final da degradação de açúcares.

Entre os microrganismos do gênero *Lactobacillus* o *L. acidophilus* é o mais recomendado como suprimento dietético, por possuir alta capacidade de adesão ao epitélio intestinal (SALMINEN et al., 1996). Coloniza o intestino e desempenha importante papel na melhoria da digestibilidade de produtos lácteos, aumentando a biodisponibilidade de nutrientes e na estimulação do mecanismo imune do hospedeiro (FULLER, 1989).

Efeitos benéficos atribuídos a esse microrganismo incluem melhora na digestibilidade da lactose, diminuição dos níveis de colesterol no intestino por sua co-precipitação com sais biliares desconjugados e controle preventivo de infecções intestinais (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001; MARSHAL, 1996; KIM e GILLILAND, 1983).

A cultura de aplicação direta *Lactobacillus acidophilus* (LA-5® Chr Hansen) foi aprovada pela Comissão de Assessoramento Técnico - Científico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos para uso como cultura probiótica. Diversos pesquisadores verificaram boa sobrevivência desse microrganismo em produtos lácteos como iogurtes, queijo minas frescal, queijo cheddar e petit suisse (SOUZA e SAAD, 2009; KAILASAPATHY et al., 2008; CARDARELLI et al., 2007; ONG et al., 2006; BURITI et al., 2005b).

### **2.2.3 *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20**

*Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20, foi isolado no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, de fezes de recém-nascidos com três dias de idade e alimentados exclusivamente com leite materno (SANTOS, 1984). Foi demonstrado que esse microrganismo apresenta propriedades desejáveis e necessárias para o desenvolvimento de

produtos probióticos, tais como ação antagonística contra patógenos susceptíveis em alimentos e não inibição quando cultivado com outros lactobacilos o que possibilita seu uso concomitante com outras culturas (BATISTA, 1997).

Além de ácidos orgânicos, *L. delbrueckii* UFV H2b20 produz peróxido de hidrogênio, inibidor que em quantidades suficientes tem ação antagonista a microrganismos patogênicos e toxigênicos, incluindo *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* enteropatogênica e outras bactérias (RIBEIRO, 1995).

Estudos *in vitro*, em condições semelhantes às do trato digestório, demonstraram que *L. delbrueckii* UFV H2b20 é resistente à lisozima, em concentrações superiores à da saliva, sobrevive a soluções de ácido clorídrico, tolera concentrações elevadas de sais biliares, apresenta resistência a vários antibióticos e possui amplo espectro antimicrobiano (AGOSTINHO, 1988).

Esse microrganismo já foi utilizado com resultados satisfatórios em produtos para uso imediato, carreadores de células viáveis e em produtos com prazo de validade mais longos. Um concentrado de células viáveis de *L. delbrueckii* UFV H2b20 em soro de queijo minas frescal esterilizado e estabilizado com 0,10 % (m/v) de citrato de sódio já foi utilizado para fabricação de produtos probióticos, como leite fermentado, sorvete, leite em pó, leite pasteurizado, leite UHT e queijo cottage (ARAÚJO, 2007; LEITE, 2005).

### **2.3 Prebióticos**

Prebióticos são oligossacarídeos que não são hidrolisados ou absorvidos no estômago e no intestino delgado e que são fermentados por um número limitado de bactérias potencialmente benéficas, promovendo melhorias nas funções do hospedeiro, como a alteração da microbiota em favor de uma composição mais saudável (MANNING e GIBSON, 2004; HAULY e MOSCATTO, 2002).

Ao contrário dos probióticos, que introduzem bactérias exógenas no intestino humano, os prebióticos estimulam a multiplicação preferencial de um número limitado de bactérias já existentes na microbiota endógena saudável. Os componentes prebióticos não são digeridos no trato digestório superior,



pois as enzimas digestivas são incapazes de hidrolisar as ligações entre as unidades de monossacarídeos. Eles atuam como fibras solúveis e são digeridos no cólon, estimulando a atividade microbiana e o desenvolvimento especialmente de bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os produtos finais da fermentação desses compostos são principalmente ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico, e butírico), ácido lático, hidrogênio, metano e dióxido de carbono (SAXELIN, 2003)

Os ingredientes alimentares apontados como prebióticos são os oligossacarídeos, sendo a inulina e os frutooligossacarídeos (FOS) os mais estudados (FERREIRA, 2003).

### **2.3.1 Inulina**

A inulina pertence a uma classe de carboidratos conhecidos como frutanos, nos quais a maioria das ligações glicosídicas é do tipo frutossil-frutose e que geralmente têm uma unidade de glicose terminal. É um polímero de frutose unido por ligações  $\beta$ -(2 $\rightarrow$ 1), encontrado como carboidrato de reserva em vegetais como alho, alcachofra de Jerusalém e raízes de chicória (ROCHA et al., 2006). O comprimento de sua cadeia varia de 2 a 60 unidades e pode ser extraída de plantas ou sintetizada a partir da sacarose (SAXELIN, 2003).

Por causa da configuração de suas ligações, a inulina resiste à digestão na porção superior do trato digestório, sendo fermentada significativamente no cólon. Faz parte do complexo de fibras dietéticas, podendo ser utilizada para balancear dietas, mas apresenta propriedades fermentativas diferentes das outras fibras, por causa de sua estrutura. Especificamente, a inulina afeta benéficamente a composição da microbiota intestinal, funções da mucosa, atividades endócrinas e absorção de minerais. Como prebiótico, a inulina age essencialmente pela modificação da microbiota intestinal endógena, o que origina a maior parte de seus efeitos (ROBERFROID, 2007).

A inulina extraída de plantas, após secagem, apresenta-se como um pó branco, amorfo, higroscópico, de odor e sabor neutros, com densidade de 1,35 g/cm<sup>3</sup>. Tem sido adicionada para aumentar o conteúdo de fibras de diversos produtos alimentares. Apresenta vantagens em relação a outras fibras, pois não tem sabores adicionais e pode enriquecer os alimentos sem alterar a

viscosidade. Desta forma, permite a formulação de produtos com alto teor de fibras mantendo a aparência e o sabor das formulações padrões (HAULY e MOSCATTO, 2002).

No Brasil, a Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos, instituída junto à Câmara Técnica de Alimentos da ANVISA, avalia os produtos com alegações de propriedade funcional e/ou de saúde aprovadas no país. De acordo com recomendações desta comissão, a alegação que pode ser utilizada para a inulina é que “contribui para o equilíbrio da flora intestinal, desde que seu consumo seja associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis”. Esta alegação pode ser veiculada desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3 g de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido. Entretanto, o uso do ingrediente não deve ultrapassar 30 g na recomendação diária do produto pronto para consumo (BRASIL, 2008).

Bouhnik et al. (2007) testaram o efeito prebiótico da administração diária de 5 g de inulina e verificaram que a ingestão de 2,5 g, duas vezes ao dia, possibilitou a obtenção de efeitos como estimulação de bactérias bífidas e diminuição da atividade da  $\beta$ -glucuronidase, enzima capaz de aumentar a concentração de substâncias carcinogênicas no intestino.

## **2.4 Simbióticos**

O termo simbióticos refere-se à combinação de bactérias probióticas com substâncias prebióticas. Esta associação beneficia o hospedeiro, melhorando a sobrevivência e a implantação do suplemento dietético de células microbianas vivas no trato digestório, estimulando seletivamente a multiplicação e/ou ativando o metabolismo de bactérias benéficas (GIBSON e ROBERFROID, 1995).

A interação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico antes do consumo do produto. O consumo juntamente com o prebiótico resulta em vantagem competitiva para o probiótico (MATTILA-SANDHOLM et al., 2002).

Esta interação benéfica entre probióticos e prebióticos é verificada especialmente em produtos lácteos simbióticos (DIPLOCK, et al., 1999).

Cardarelli et al. (2007) estudaram a viabilidade *L. acidophilus* e *B. animalis* subsp. *lactis* em queijos petit suisse e observaram maior sobrevivência dos microrganismos em queijos em que se havia adicionado inulina e oligofrutose.

## 2.5 Queijo Quark

O quark é um queijo fresco de coagulação ácida originário da Europa oriental que se tornou muito popular nos países ocidentais, sobretudo os europeus (JELEN e RENZ-SCHAUEN, 1989; SOHAL et al., 1988).

O queijo quark é produzido a partir de leite integral ou desnatado que pode ser tanto pasteurizado como tratado termicamente a temperaturas mais elevadas como 90 °C por 1 a 10 minutos. A fabricação envolve a adição de cultura láctica acidificante para promover um abaixamento do pH e pequena quantidade de coalho para auxiliar a formação da coalhada, seguida de incubação até que se tenha a coagulação e um pH em torno de 4,6. Nesse ponto, o soro é drenado e este processo pode ser feito de diferentes formas, sendo a centrifugação o mais comum em escala industrial. O queijo quark pode ser apenas salgado ou adicionado de frutas, especiarias ou outros condimentos (FOX et al., 1996; JELEN e RENZ-SCHAUEN, 1989; KOSIKOWSKI, 1982).

O coalho no queijo quark é adicionado em quantidade muito pequena quando comparado a outras variedades de queijo. Entretanto, é um dos principais agentes de maturação desse produto estando relacionado ao processo de proteólise e, algumas vezes, ao desenvolvimento de gosto amargo durante o período de estocagem (ZAKREWSKI et al., 1991; SOHAL et al., 1988).

O queijo quark pode ter sua vida de prateleira aumentada se for realizado um tratamento térmico da coalhada e do soro após a acidificação. Este aquecimento inativa espécies de *Pseudomonas* sp., resulta em redução na população das culturas starter e inibe a atividade proteolítica de enzimas destas bactérias e do coalho (ZAKREWSKI et al., 1991).

Proteínas do soro desnaturadas podem ser adicionadas a este tipo de queijo com objetivo de aumentar o rendimento, além de melhorar a retenção de água. Neste caso o leite, antes de ser acidificado, precisa ser aquecido a

temperaturas mais elevadas e por mais tempo do que o normalmente utilizado para pasteurização (JELEN e RENZ-SCHAUEN, 1989). Este aquecimento promove interações entre a  $\beta$ -lactoglobulina desnaturada e as  $\kappa$  - caseínas, com modificações na estrutura e propriedades do queijo (KELLY e O'DONNELL, 1998). É importante que estas proteínas sejam adicionadas ao leite e não à coalhada já formada, para que sejam bem incorporadas ao coágulo sem alterações adversas do produto (FOX, 2001).

A ultrafiltração do leite para produção do queijo quark tem sido utilizada como forma de economizar energia, aumentar o rendimento e melhorar o produto nutricionalmente. Neste caso, se tem uma conversão total do leite coagulado em queijo sem separação e uma incorporação total das proteínas do soro (FOX, 2001). Entretanto, este processo promove um aumento no teor de cálcio, podendo acarretar alterações indesejáveis nas características sensoriais e surgimento de gosto amargo no queijo. Uma alternativa é a ultrafiltração do leite coagulado, uma vez que na fermentação, com o abaixamento do pH, ocorre remoção do cálcio das micelas de caseína para a fase aquosa, diminuindo sua concentração no retentado, melhorando as características sensoriais do produto final (VEIGA E VIOTTO, 2001).

No Brasil não há um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) para queijo tipo quark. O único queijo fresco obtido de coalhada acida com RTIQ é o queijo tipo Petit Suisse que muitas vezes é fabricado com a tecnologia do quark. O queijo tipo Petit Suisse é definido como queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou enzimas que pode ser adicionado de outras substâncias alimentícias. É classificado como um queijo de muita alta umidade, que deve ser consumido fresco (BRASIL, 2001).

A separação do soro constitui uma etapa crítica no processamento do queijo tipo quark, relacionada a risco microbiológico, pois pode ocorrer contaminação cruzada do produto caso não se tenha aplicação de boas práticas de fabricação e higiene adequada do equipamento. Isto dificulta a aplicação de ferramentas de qualidade, especialmente quando se trata de produção em pequena escala.

## 2.6 Reologia

A reologia se relaciona com o escoamento e deformação das substâncias e, em particular com seu comportamento no campo transiente entre sólidos e fluidos. Além disso, tenta definir a relação que existe entre o estresse que age em determinado material e a deformação resultante e/ou escoamento que ocorre como consequência. As propriedades reológicas são determinadas através de medição da força e deformação como função do tempo (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

As propriedades reológicas são examinadas como métodos de controle de qualidade em plantas processadoras de produtos lácteos e como técnica científica para cientistas de alimentos e reologistas em pesquisas relacionadas à estrutura ou textura dos alimentos (PARK, 2007). O conhecimento do comportamento reológico de um alimento é importante, pois ele está relacionado com várias etapas de sua industrialização, como engenharia de processos e controle de qualidade além de estar diretamente associado com a estrutura e percepção sensorial do produto (RAMOS, 1997).

A viscosidade é um parâmetro fundamental que caracteriza o comportamento de escoamento de alimentos líquidos e semi-líquidos e é uma característica intrínseca relacionada com a resistência do fluido ao movimento quando uma tensão de cisalhamento é aplicada a ele (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Os fluidos podem ser classificados como newtonianos ou não-newtonianos, de acordo com seu comportamento de escoamento. Nos fluidos newtonianos, a viscosidade independe da taxa de deformação aplicada, estando relacionada principalmente com a temperatura e a composição. Para os fluidos não-newtonianos, que representam a maioria dos fluidos alimentícios, este parâmetro é função da tensão de cisalhamento, podendo ou não estar relacionado ao tempo. Os fluidos não newtonianos de comportamento independente do tempo se caracterizam por uma relação simples entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação a uma dada temperatura. Em geral, são do tipo pseudoplástico, cuja viscosidade diminui com o aumento da taxa de deformação ou apresentam comportamento

semelhante, mas com tensão residual (SATO E CUNHA, 2007; TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005, RAMOS, 1997).

Os fluidos dependentes do tempo são classificados como tixotrópicos ou reopéticos. Um fluido tixotrópico é aquele no qual a viscosidade aparente diminui com o tempo quando o fluido é submetido a uma tensão de cisalhamento constante. Fluidos reopéticos, ao contrário, caracterizam-se por apresentar aumento na viscosidade aparente do fluido com o tempo, se a tensão de cisalhamento não varia (HAMINIUK, 2005).

Para se avaliar o comportamento de um fluido, são utilizados equipamentos conhecidos como viscosímetros e reômetros, que apresentam diversas configurações, sendo que os sistemas capilares para os viscosímetros e os rotacionais para os reômetros são os mais comuns. Nos sistemas rotacionais (reômetros), as propriedades reológicas são medidas baseando-se na determinação da relação entre o torque e a velocidade de rotação de um corpo que se encontra imerso ou em contato com outro fluido. No reômetro do tipo Searle determina-se o torque necessário para manter a velocidade de rotação constante (HAMINIUK, 2005).

O comportamento dos fluidos pode ser descrito através de modelos reológicos, que relacionam a tensão de cisalhamento com a taxa de deformação. O modelo mais simples é o newtoniano, em que a tensão de cisalhamento e taxa de deformação apresentam uma relação linear (OLIVEIRA et al., 2008).

No entanto, muitos alimentos fluidos não apresentam esse tipo de comportamento e necessitam de modelos mais complexos para sua caracterização (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Modelos comumente utilizados são Ostwald-de-Waele, Herschel-Bulkley e Casson. Na Tabela 1 são apresentadas as equações constitutivas destes modelos onde  $\sigma$  (Pa) é a tensão de cisalhamento,  $\dot{\gamma}$  ( $s^{-1}$ ) é a taxa de deformação,  $\sigma_{0H}$  e  $K_{OC}$  são parâmetros de tensão inicial ao escoamento,  $K$ ,  $K_H$ , e  $K_C$  são índices de consistência e  $n$  e  $n_H$  são índices de comportamento.

Tabela 1 – Equações constitutivas de alguns modelos reológicos

Modelo	Equação
Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_{oH} + K_H (\gamma)^n_H$
Ostwald-de-Waele (Pseudoplástico)	$\sigma = K (\gamma)^n$
Newton	$\sigma = K \gamma$
Casson	$\sigma^{0,5} = K_{OC} + K_C (\gamma)^{0,5}$

Fonte: Modificado de STEFFE (1996)

As características reológicas dos queijos frescos obtidos de coalhada ácida estão diretamente relacionadas com a estrutura do gel de caseína. Vários fatores influenciam as propriedades reológicas desse gel. Um aumento no teor de proteínas favorece a formação de um gel mais sólido e coeso, enquanto concentração mais elevada de gordura torna a estrutura mais fraca. Tratamentos térmicos elevados promovem aumento da tensão de cisalhamento, da viscosidade e firmeza devido à desnaturação das proteínas do soro e sua ligação com as micelas de caseína. Abaixamento do pH e aumento da temperatura de incubação também estão relacionados a géis mais firmes (FOX, 1993).

## 2.7 Avaliação Sensorial

### 2.7.1 Aceitação

Os testes para determinação da aceitação e preferência de alimentos e bebidas são utilizados como fator importante no desenvolvimento de um novo produto ou em modificações de processos de fabricação. Estes testes têm seus resultados avaliados tradicionalmente por análise de variância univariada (ANOVA) e testes de comparação de médias em que se obtém a aceitação média dos produtos (DANTAS et al., 2004).

Estas metodologias apresentam falhas por não considerarem as diferenças individuais e por gerarem conclusões baseadas na média dos consumidores. A população consumidora de um dado produto é, em geral, heterogênea em seus gostos e necessidades (GUINARD et al., 2001). Por esta razão, a variabilidade individual dos dados deve também ser considerada e sua

estrutura analisada. Isto pode ser feito utilizando-se a metodologia de Mapa de Preferência, na qual os parâmetros avaliados são identificados como dimensões que ocupam posições ortogonais em uma representação gráfica. Esta metodologia pode complementar a análise de aceitação de um produto, aliada à análise de variância e teste de médias, explicando melhor as preferências dos consumidores (CARDELLO e FARIA, 2000).

O mapa de preferência representa graficamente diferenças entre amostras com relação a sua aceitação e possibilita identificar as preferências dos consumidores em relação a cada amostra avaliada. Ainda permite relacionar a aceitação ou rejeição dos produtos em função de suas características sensoriais e de qualidade, independente de fatores como preço e marca (MINIM, 2006).

No desenvolvimento de produtos é interessante a identificação de possíveis segmentos de consumidores. A técnica de mapa de preferência é frequentemente empregada com o objetivo de identificar grupos de consumidores que respondem de uma mesma forma ou que diferem de outros grupos em idade, gênero, atitudes, necessidades, hábitos de alimentação ou resposta a atributos sensoriais dos produtos (WESTAD et al., 2004).

Quando a análise é feita a partir de um conjunto de dados de aceitação/preferência gerados por testes afetivos, obtém-se o chamado mapa de preferência interno. No caso de se incluir medidas descritivas apontadas por uma equipe de julgadores treinados, associando-as aos dados afetivos, é obtido um mapa de preferência externo (MINIM, 2006).

O mapa de preferência interno é o mais utilizado e para sua elaboração o primeiro passo é a análise de componentes principais (ACP). Ela tem como objetivo reduzir o número de variáveis, obtendo um conjunto de componentes principais, que são combinações das medidas que contribuem mais para a variação entre as amostras. Os dados de aceitação/preferência são dispostos numa matriz de produtos (linhas) versus consumidores (colunas) que é reduzida a um pequeno número de componentes independentes. É identificada a principal variação entre os dados de preferência e a primeira dimensão de preferência é extraída (primeiro componente principal). As outras dimensões, ortogonais entre si, vão sendo extraídas até que toda a variação seja



explicada. O mapa de preferência interno é representado graficamente de diferentes formas. A mais comum utiliza dois gráficos em que um deles mostra a dispersão das amostras e as diferenças na sua aceitação pelos consumidores e o outro as correlações entre os escores de aceitação de cada consumidor e as dimensões de preferência ou componentes principais (MINIM, 2006).

## MATERIAL E MÉTODOS

O produto foi desenvolvido no Laboratório de Novos Produtos e as análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa de Leite e Derivados, no Laboratório de Frutas e Hortaliças e no Laboratório de Análise Sensorial, situados no Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa. As ativações e concentrações das células do *L. delbrueckii* UFV H2b20 foram feitas no Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia, localizado no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária – BIOAGRO/ UFV.

### 3.1 Culturas microbianas

#### 3.1.1 Produção do concentrado de células viáveis de *L. delbrueckii* UFV H2b20

A partir de uma cultura congelada de *L. delbrueckii* UFV H2b20 a -80 °C foram preparados estoques para utilização nos experimentos. Para isto, o microrganismo foi ativado em leite desnatado reconstituído a 10 % (m/v) (LDR 10 %) por 24 h, a 37 °C. Em seguida foi estriado em ágar de Mann-Rogosa-Sharpe (MRS) (Acumedia/Lansing, Michigan) e a placa incubada a 37 °C por 48 horas em anaerobiose (Anaerobac, Probac do Brasil, São Paulo, SP, Brasil). Colônias isoladas foram transferidas para 10 mL de caldo MRS (Acumedia) que foi incubado a 37 °C por 12 horas. Após este período, 1 mL desta cultura foi transferido para 100 mL de caldo MRS que foi incubado por 12 horas nas mesmas condições.

Alíquotas da cultura foram distribuídas em tubos de centrifuga, cada um contendo 30 mL do caldo de cultivo. Os tubos foram centrifugados a 5.000 g durante 10 min a 4 °C em centrífuga Sorvall Instruments, modelo RC5C. O sedimento formado foi ressuspenso em 5 mL de caldo MRS (Acumedia) e 800 µL da cultura foram distribuídos em tubos de eppendorf contendo 200 µL de glicerol. As células foram congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a -80 °C. A técnica da coloração de Gram (PELCZAR et al., 1980) foi utilizada para verificar a pureza da cultura em todas as etapas.

Para utilização experimental, uma alíquota do estoque da cultura contendo *L. delbrueckii* UFV H2b20 foi previamente ativada em LDR a 10 % e incubada a 37 °C. Após cerca de 24 horas de incubação o leite coagulado foi estriado em ágar MRS (Acumedia) e incubado a 37 °C por 24 horas em anaerobiose (Anaerobac). Posteriormente, colônias típicas foram transferidas para 10 mL de soro de queijo minas frescal estéril estabilizado com 0,1 % (m/v) de citrato de sódio que foi incubado a 37 °C por 24 horas. Foram realizadas três transferências para volumes graduais de soro, até que se alcançasse o volume final necessário para a condução dos experimentos. Este volume foi distribuído em tubos GSA de 250 mL para concentração das células em centrífuga Sorvall Instruments, modelo RC5C, a 5.000 g, durante 10 minutos a 4 °C. O sedimento foi ressuspenso em leite UHT (Ultra High Temperature) desnatado para ser adicionado ao produto.

### **3.1.2 Culturas comerciais de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis***

As culturas comerciais utilizadas neste trabalho foram *Lactobacillus acidophilus* (LA5) (Chr – Hansen/ Valinhos, São Paulo, Brasil) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12) (Chr – Hansen). Os microrganismos foram adquiridos na forma liofilizada e, de acordo com o fabricante, a adição de 25 g para cada 250 litros de leite é suficiente para garantir uma concentração apropriada de células viáveis no produto. De acordo com o volume de leite utilizado nas fabricações foi feito o cálculo da quantidade do probiótico, que foi pesado assepticamente e diluído em 15 mL de leite UHT antes de ser misturado à massa.

### **3.1.3 Culturas acidificantes**

Para coagulação do leite foi utilizado fermento láctico mesofílico composto de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (Delvo Tec LL 50A – Globalfood/ São Paulo, SP, Brasil). Para melhor aproveitamento, foi feita uma divisão e preparação de estoques do fermento dissolvido em leite. A cultura liofilizada com capacidade para fermentar 500 litros de leite foi adicionada assepticamente a 1000 mL de leite UHT desnatado gelado que,

após homogeneização, foi distribuído em tubos estéreis, em quantidade suficiente para ser utilizada em uma batelada. Os tubos foram congelados e mantidos a -20 °C.

### **3.2 Produção do queijo quark desnatado simbiótico**

A Figura 1 apresenta o fluxograma de fabricação do queijo tipo quark simbiótico. Leite cru desnatado foi adicionado de inulina (BENEO *Raftiline* GR/Orafti, Oreye, Bélgica) na proporção de 3,4 % (m/m), do estabilizante e espessante (LAC 8164-8/Globalfood) 7 % (m/m) e da fibra insolúvel Z-trim (Fibergel/EUA) 0,1 % (m/m). Os ingredientes foram incorporados ao leite e misturados em liquidificador por 1 minuto.

Conforme especificações técnicas do fabricante, o LAC 8164-8 é uma mistura de estabilizante e espessante para produtos fermentados e petit suisse. Apresenta-se na forma de um pó de cor creme composto de proteína de soro, amido modificado, caseinato de sódio, gelatina e goma guar. O Z-trim, de acordo com o fabricante, é um ingrediente a base de fibras de cereais e legumes que fornece os mesmos benefícios de uma fibra solúvel. Tem alta capacidade de retenção de água e pode ser utilizado como substituto de gordura, mantendo a palatabilidade, textura e reduzindo calorias.

Os teores de estabilizante e Z-trim foram definidos a partir das recomendações dos fabricantes e de ensaios anteriores baseando-se em critérios sensoriais.

Procedeu-se o tratamento térmico da mistura em tacho aberto com camisa de vapor e agitador mecânico. A pressão do vapor foi mantida a 1,5 Kgf/cm<sup>2</sup> e agitação de 40 rotações por minuto. Quando a temperatura da mistura atingiu 82 °C o vapor foi desligado e após 5 minutos de tratamento foi feito o resfriamento pela liberação do vapor da camisa e circulação de água, mantendo a agitação. Quando se atingiu 35 °C, a cultura starter foi acrescentada.

Baldes plásticos com tampa e capacidade para 3 litros foram sanitizados com água fervente por 15 minutos. Após adição do fermento, a mistura foi distribuída nos baldes que foram hermeticamente fechados e incubados em caixa de isopor lacrada contendo água a 32 °C em quantidade suficiente para

cobrir o conteúdo dos baldes. A fermentação foi conduzida até que o pH da coalhada estivesse entre 4,6 e 4,7.

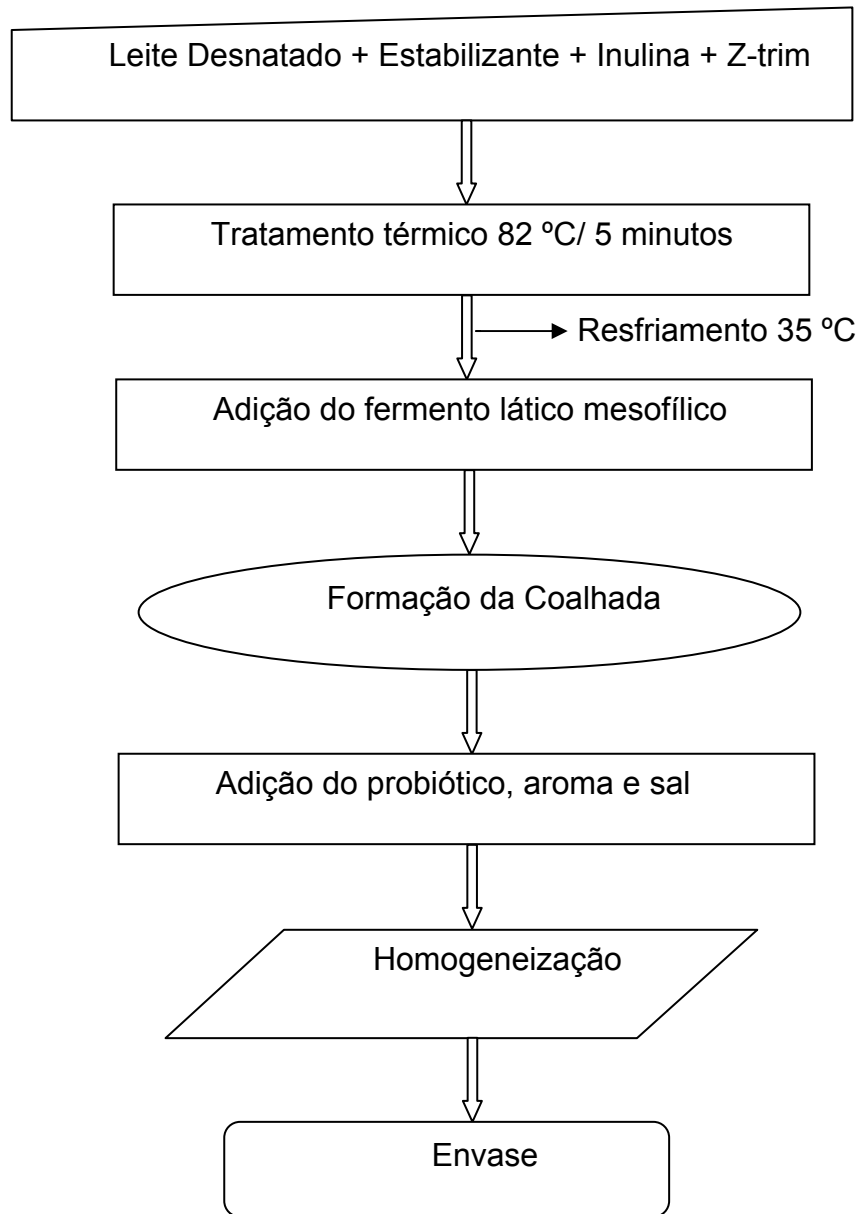


Figura 1 – Fluxograma de produção do queijo tipo quark simbiótico

Após se atingir o pH desejado, a coalhada foi quebrada utilizando uma espátula perfurada de aço inox e foram acrescentados a ela a cultura probiótica, um formulado a base de ervas finas (IFF/Taubaté, SP, Brasil) na proporção de 1 % (m/m) e 0,45 % (m/m) de sal. O mix de ervas finas, de acordo com o fabricante, continha 75 % (m/m) de sal o que totalizaria um teor final de 1,2 % (m/m) deste ingrediente. O teor de sal e do formulado também foi definido em ensaios anteriores.

Posteriormente, a massa foi misturada e envasada em potes plásticos com capacidade para 250 g sanitizados por 15 minutos em solução clorada na concentração de 200 ppm. O produto foi mantido sob refrigeração durante todo o período de vida de prateleira.

### **3.3 Delineamento experimental e análises estatísticas**

O experimento foi conduzido no modelo de parcelas subdivididas. Os três probióticos constituíram as parcelas, dispostas em delineamento inteiramente casualizado com três repetições e os diferentes tempos de análise constituíram as subparcelas.

Foram produzidas três formulações em três repetições. As formulações se diferiram pelo probiótico adicionado, *L. acidophilus* (LA5), *B. animalis* subsp. *lactis* (BB-12) e *L. delbrueckii* UFV H2b20. Em cada repetição com cada cultura foram obtidos cerca de 20 potes do produto que foram mantidos sob refrigeração, a 5 °C, até o momento das análises.

Para os ensaios de avaliação da aceitabilidade sensorial do produto foi produzido também um controle, sem os microrganismos. As etapas de fabricação foram as mesmas, excluindo a adição do probiótico à massa fermentada.

Os resultados obtidos foram submetidos a análises estatísticas utilizando o programa SAS (Statistical Analysis System – SAS Institute Inc., North Carolina, USA 1999) versão 9.1, licenciado para a Universidade Federal de Viçosa.

### 3.4 Determinação da viabilidade das células probióticas ao longo da vida de prateleira do queijo tipo quark simbiótico

Amostras do queijo tipo quark simbiótico contendo *L. acidophilus* (LA5) e *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) foram encaminhadas para a empresa Chr - Hansen, fornecedora das culturas, onde foram realizadas contagens dos microrganismos probióticos no produto após 5, 15 e 25 dias de armazenamento.

O protocolo para enumeração do *L. acidophilus* em combinação com cultura mesofílica utilizado pela Chr - Hansen envolve o plaqueamento *pour plate* em ágar MRS - IM adicionado de clindamicina e de 10 % (v/v) de solução de maltose a 20 % (m/v) e incubação a 43 °C por 72 horas em anaerobiose.

A contagem de *Bifidobacterium* em associação com bactérias lácticas mesofílicas, de acordo com a metodologia da Chr - Hansen, utiliza o meio de cultura MRS - IM acrescentado de 10 % (v/v) de solução de glicose a 20 % (m/v). Para maior seletividade são adicionados ao meio o antibiótico dicloxacilina (Sigma D-9016), cloreto de lítio (Merck nº 5679) e hidrocloreto de cisteína (Merck nº 2839). Para cada 100 mL de meio de cultura são adicionados 5 mL de solução de dicloxacilina a 10 % (m/v), 10 mL de solução de cloreto de lítio 10 % (m/v) e 5 mL de solução de hidrocloreto de cisteína a 10 % (m/v). A técnica utilizada foi *pour plate* com incubação em anaerobiose a 43 °C por 72 horas.

A enumeração do *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 foi feita nos tempos 1, 5, 10, 15, 20 e 25 dias de armazenamento do produto. Para isto, 25 ± 0,2 g do queijo contendo este microrganismo foram pesados e homogeneizados em 225 mL de solução diluente a base de citrato a 2 % (m/v) obtendo-se a diluição 10<sup>-1</sup>. Foram feitas diluições decimais sucessivas até a diluição 10<sup>-6</sup>. As diluições 10<sup>-5</sup> e 10<sup>-6</sup> foram plaqueadas utilizando a técnica de *pour plate* com ágar MRS acrescentado de 30 µg/mL de ácido nalidíxico (Sigma) (AGOSTINHO, 1988). Após solidificação do ágar, as placas foram incubadas em anaerobiose (Anaerobac) a 37 °C por 48 horas. Foi determinado o número de unidades formadoras de colônias por grama de queijo e os resultados expressos em log<sub>10</sub> UFC/g.

### 3.5 Análises físico-químicas do leite

Amostras do leite utilizado em cada produção foram analisadas com relação às suas características físico-químicas. As análises de gordura, acidez titulável, nitrogênio total e densidade basearam-se nos métodos oficiais apresentados na Instrução Normativa nº 68, do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

### 3.6 Análises físico-químicas e microbiológicas do queijo

Após um dia de fabricação do queijo tipo quark simbiótico foram determinados os seus parâmetros físico-químicos. As análises de acidez titulável, gordura, umidade e nitrogênio total foram conduzidas de acordo com os métodos oficiais do MAPA.

A análise de gordura foi feita pelo método butirométrico para queijo utilizando butirômetro de leite. O teor de umidade do produto foi obtido pelo método gravimétrico por secagem em estufa a  $102 \pm 2$  °C até massa constante. O nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, com transformação do nitrogênio da amostra em sulfato de amônio através da digestão com ácido sulfúrico p.a (digestor Digestion Unit 435 e bomba de purificação 412 BÜCHI) e posterior destilação com liberação da amônia (destilador TECNAL TE-036/1), que foi fixada em solução de ácido bórico e titulada com ácido clorídrico 0,1 N. Os resultados foram expressos em protídios, pela multiplicação da porcentagem do nitrogênio total por fator específico (6,38).

O pH do queijo foi mensurado utilizando-se medidor de pH digital (GEHAKA PG1800) introduzindo-se o eletrodo na amostra homogeneizada. Para determinação da acidez, a amostra homogeneizada com água foi titulada com solução de hidróxido de sódio 0,1 N e fenolftaleína como indicador. Foi feito um acompanhamento da acidez titulável do produto ao longo de sua vida de prateleira, com análises após 5, 10, 15, 20 e 25 dias de armazenamento.

O produto foi analisado com relação às contagens de *Staphylococcus aureus*, fungos filamentosos e leveduras, coliformes totais e *Escherichia coli* após um dia de fabricação. As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62 de 26/08/2003, do MAPA.



Foram retiradas, assepticamente, porções do queijo totalizando 25 g que foram homogeneizadas com 225 mL de solução salina peptonada 0,1 % (m/v). Em seguida foram feitas diluições e alíquotas de 0,1 mL foram semeadas em superfície de placas contendo Batata Dextrose Agar (BDA) (Acumedia) para enumeração de fungos filamentosos e leveduras. As placas foram incubadas a temperatura ambiente por 5 dias. Para a contagem de coliformes totais e *Escherichia coli*, utilizou-se o Petrifilm EC (AOAC 991.14 – Contagem de Coliformes e *E. coli* em Alimentos, Película Reidratável Seca) e para *S. aureus* o Petrifilm 3M – Rapid *S. aureus* (RSA) Count Plate (AOAC 981.15) de acordo com as instruções do distribuidor. Foram selecionadas para contagem as placas contendo de 25 a 250 colônias e os resultados expressos em UFC.g<sup>-1</sup>.

Os queijos também foram avaliados com relação à presença de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*. Para os testes de *Salmonella* foi utilizado o kit comercial de detecção rápida *Reveal Salmonella Test System*® (Neogen, Lescher Place Lansing, MI USA, AOAC 96080) que se baseia no uso sequencial de meio de cultivo não seletivo e de meio seletivo selenito de cistina. A detecção da presença de *Salmonella* spp. foi feita com o uso de um dispositivo imunocromatográfico disponível no kit, por meio de reações imunoenzimáticas (antígeno-anticorpo).

Amostras das repetições de cada formulação do produto foram encaminhadas para o laboratório de Microbiologia de Alimentos/ DMB – UFV para análises de detecção de *Listeria monocytogenes*. A metodologia utilizada seguiu as determinações da Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do MAPA.

### **3.7 Análises reológicas**

O comportamento reológico de escoamento do queijo tipo quark simbiótico foi determinado em um reômetro rotativo de cilindros concêntricos tipo Searle (Brookfield/EUA), modelo R/S plus SST 2000. As leituras para determinação das propriedades reológicas foram feitas utilizando-se o sensor CC14 para todas as amostras. Este sensor possui as especificações: volume da amostra de 3 mL, faixa de viscosidade entre 0,672 e 500 Pa.s, cilindro

interno de 7 mm de raio e 21 mm de comprimento e cilindro externo de 7,59 mm de raio.

As medidas foram feitas ao longo da vida de prateleira do produto, após 1, 5, 10, 15, 20 e 25 dias de armazenamento, utilizando duas temperaturas de análise diferentes, 8 °C e 15 °C, simulando possíveis temperaturas de refrigeração e consumo.

Os ensaios foram conduzidos em triplicata submetendo-se a amostra a uma rampa contínua de taxa de deformação variando de 0 a 500 s<sup>-1</sup> durante 2 minutos. Antes de cada ensaio, a tixotropia foi quebrada para que fosse eliminado o efeito do tempo. Para isto, o produto foi submetido a uma taxa de deformação constante por tempo suficiente para que houvesse sobreposição das curvas ascendente e descendente.

Foram analisadas as três repetições das três formulações do queijo tipo quark simbiótico. Em cada medição foram obtidos 25 pontos de taxa de deformação versus tensão de cisalhamento, dos quais foi tomado o valor médio da tensão de cisalhamento para cada taxa de deformação.

Os valores experimentais de tensão de cisalhamento e da taxa de deformação foram ajustados pelos modelos reológicos de Ostwald-de-Waele e Casson (STEFEE, 1996).

O valor da viscosidade aparente a uma taxa de deformação de 10 s<sup>-1</sup> foi calculada utilizando a equação do modelo de melhor ajuste.

Os dados experimentais foram ajustados aos modelos utilizando o pacote estatístico SAS® versão 9.1 licenciado pela Universidade Federal de Viçosa. O ajuste dos modelos foi verificado segundo o nível de significância e o coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>).

### **3.8 Aceitação sensorial do queijo tipo quark simbiótico**

As três formulações do queijo tipo quark simbiótico, que se diferiam pelo probiótico utilizado, foram analisadas juntamente com uma amostra controle, sem probiótico, com relação à sua aceitação sensorial.

Os testes foram feitos em três tempos de armazenamento diferentes, após 5, 15 e 25 dias de estocagem. Em cada tempo, a aceitabilidade sensorial das quatro amostras foi avaliada por cerca de 90 provadores que realizaram os

testes em cabines individuais e receberam as amostras de forma aleatória e monádica. Cada amostra foi avaliada por todos os consumidores.

Os provadores receberam, juntamente com cada amostra, uma ficha em que foi solicitado que indicassem seu julgamento em relação à aceitação do produto utilizando uma Escala Hedônica de nove pontos, sendo o valor 1 atribuído ao termo hedônico “desgostei extremamente” e o valor 9 atribuído ao termo “gostei extremamente.

Os dados de aceitação foram organizados em uma matriz de amostras (linhas) e consumidores (colunas) que foi submetida à Análise de Componentes Principais (ACP). Os resultados foram expressos em gráficos com a dispersão das amostras (formulações) em relação aos dois primeiros componentes principais, (representando as diferenças entre elas em relação à aceitação dos consumidores) e as correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os componentes principais (MINIM, 2006).

Os resultados obtidos em cada tempo foram analisados pela técnica de Mapa de Preferência Interno, com auxílio do programa estatístico SAS, Statistical Analysis System, versão 9.1, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Desenvolvimento do produto

O diferencial da tecnologia aplicada neste produto em relação ao queijo quark tradicional é que a fabricação não envolveu a drenagem da massa fermentada. Desta forma foi eliminado um ponto crítico microbiológico no processamento, facilitando a aplicação de ferramentas de qualidade. A dessoragem pelo método tradicional ou pelo uso de centrífugas pode promover uma contaminação cruzada do produto final.

A dessoragem não ocorreu devido ao aumento do teor de sólidos obtido pela adição da fibra inulina e, especialmente, do espessante Z-trim e da mistura de estabilizantes. Estes ingredientes têm alta capacidade de retenção de água. De acordo com seu fabricante, cada grama do Z-trim é capaz de se ligar a 25 g de água.

O estabilizante continha em sua formulação proteínas do soro, que são utilizadas para aumentar a consistência de queijos frescos e, sua adição ao leite pré-tratado termicamente promove aumento da viscosidade e da capacidade de retenção de água. As proteínas do soro desnaturadas interagem com a  $\kappa$ -caseína, depositando-se na micela, e aumentando sua capacidade hidrofílica. (VEIGA et al., 2000; FOX, 1993). O tratamento térmico elevado (82 °C/5 min.), ao qual foi submetido o leite para as fabricações, contribuiu para maior interação destas proteínas.

Os hidrocolóides gelatina e goma guar, presentes na mistura de estabilizantes, dispensaram a utilização do coalho e possibilitaram a obtenção de uma coalhada firme. Neste tipo de produto o coalho é adicionado em quantidades pequenas e pode estar relacionado ao desenvolvimento de sabores indesejáveis.

A quantidade de inulina acrescentada foi baseada no seu grau de pureza de 95 %, de forma a se obter 3 % (m/v) da substância no produto final, o que estaria de acordo com o preconizado pela comunidade científica e pela legislação brasileira para que se tenha um efeito prebiótico. De acordo com este valor, o produto poderia utilizar a alegação de conteúdo de inulina e de seus efeitos benéficos. O queijo também pode ser classificado como fonte de

fibras. De acordo com a Portaria n° 27, de 13 de janeiro de 1998 do Ministério da Saúde, para um alimento ser considerado fonte de fibras deve conter pelo menos 3 g deste componente por 100 g de sólidos (BRASIL, 1998).

O uso da inulina, além de conferir os benefícios prebióticos, é interessante do ponto de vista tecnológico para o queijo quark. A redução de gordura pela utilização de leite desnatado é um atrativo para o consumidor que busca alimentos mais saudáveis. Ao mesmo tempo, a inulina age como substituto desta gordura mantendo os atributos sensoriais do produto final.

#### **4.2 Viabilidade dos probióticos durante o período de estocagem do queijo tipo quark simbiótico**

Além de um consumo diário, para que se tenha um efeito do microrganismo probiótico e alteração favorável da microbiota intestinal, é necessário que ele seja ingerido em quantidade adequada. Tem sido observado que doses de 100 g de um produto alimentício contendo de  $10^8$  a  $10^9$  unidades formadoras de colônias, ou seja,  $10^6$  a  $10^7$  UFC por grama do alimento são suficientes (KOMATSU et al., 2008). A Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos também recomenda que a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/g ou mL na recomendação diária do produto pronto para o consumo para que ele utilize a alegação de propriedade funcional (BRASIL, 2007).

Entretanto, existem controvérsias com relação ao número de células para se ter efeito benéfico, uma vez que é importante considerar diferenças individuais de metabolismo e composição da microbiota intestinal. Além disso, existe uma relação entre a estirpe e as características probióticas dos microrganismos (OUWEHAND, 2002; HELLER, 2001; SAARELA et al., 2000).

A Tabela 2 mostra o resumo da análise de variância para contagem de células viáveis do *L. delbrueckii* UFV H2b20 durante o período de estocagem do queijo tipo quark simbiótico. Como pode ser observado, não houve diferença ( $p > 0,05$ ) em relação ao tempo de estocagem do queijo. A média final da viabilidade do microrganismo, em  $\log \text{UFC.g}^{-1}$ , foi de 6,30 (Tabela 3). O produto se mostrou um bom veículo para o microrganismo que se manteve em

contagens elevadas e sem diminuição estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) ao longo do tempo.

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para contagem de células viáveis de *L. delbrueckii* UFV H2b20 durante o período de estocagem do queijo tipo quark simbiótico

Fontes de Variação	GL	QM
Tempo	5	0,0217 <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup> não-significativo a 5% de probabilidade; QM = Quadrado médio.

Tabela 3 – Médias das contagens de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 em queijo tipo quark simbiótico ao longo 25 dias de estocagem a 5 °C

Estocagem (dias)	Contagem de <i>L. delbrueckii</i> UFV H2b20 (log UFC.g <sup>-1</sup> )
1	6,25
5	6,19
10	6,38
15	6,25
20	6,35
25	6,39

*L. acidophilus* (LA5) e *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) também apresentaram-se em número elevado ao final do período de estocagem do produto, como pode ser visualizado na Tabela 4, que apresenta as contagens destes microrganismos em um lote do produto. A boa sobrevivência dos probióticos pode estar relacionada ao tipo de queijo. Produtos como o queijo fresco possibilitam maior sobrevivência de bactérias probióticas, quando comparados com queijos maturados. Estes apresentam menor atividade de água e umidade, maior teor de sal, além de serem armazenados por períodos mais longos, o que limita a viabilidade e multiplicação dos microrganismos (BURITI, 2005a).

Tabela 4 – Contagens de *L. acidophilus* (LA5) e *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) em queijo tipo quark simbiótico ao longo 25 dias de estocagem a 5°C

Tempo (dias)	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
5	8,75	7,95
15	6,70	6,88
25	6,86	6,95

Nesta linha de pesquisa, Buriti et al. (2005b) desenvolveram queijos do tipo minas frescal com *L. acidophilus* (LA5) variando o tipo de acidificação, por adição direta de ácido láctico ou de cultura starter mesofílica homofermentadora. Em ambas as formulações o probiótico apresentou boa sobrevivência sem redução significativa ao longo de 21 dias de estocagem a 5 °C. Em trabalho semelhante, Souza e Saad (2009) obtiveram contagens em torno de 6 log UFC.g<sup>-1</sup> de *L. acidophilus* (LA5) em queijo minas frescal, tanto quando o microrganismo foi adicionado sozinho como em co-cultura com *Streptococcus thermophilus*.

Cardarelli et al. (2008) estudaram a influência da adição de inulina, oligofrutose e oligossacarídeos do mel sobre a viabilidade de *L. acidophilus* e *B. animalis* subsp. *lactis* em queijos petit suisse. Este queijo se difere do queijo quark em alguns aspectos como utilização de polpa de frutas e açúcar, padronização da gordura por adição de creme de leite e homogeneização do produto final, o que promove alterações na sua textura. Entretanto, utiliza a mesma tecnologia de produção e é conservado nas mesmas condições. Os autores verificaram queda nas contagens dos microrganismos ao longo dos 28 dias de observações, mas ao final do período as contagens ainda se encontravam acima do recomendado por trabalhos científicos.

A incorporação de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* a produtos lácteos e a garantia de sua viabilidade durante o período de validade é muitas vezes complicada. Bactérias do gênero *Bifidobacterium*, em particular, apresentam baixo desenvolvimento em leite e exigem ambiente anaeróbio, com baixo potencial redox e adição de fatores bifidogênicos para alcançar taxas de crescimento desejáveis (LOURENS-HATTINGH E VILJOEN, 2001).

Nos primeiros dias de vida de prateleira do queijo quark foi verificada uma queda nas contagens de *L. acidophilus* (LA5) e *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12), enquanto o *L. delbrueckii* UFV H2b20 se manteve sem diminuição estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Isto pode estar relacionado com o fato de que o LA5 e o BB12 foram adicionados ao produto na forma de cultura liofilizada, cujo processo de secagem e conservação pode promover uma série de injúrias à célula, enquanto o H2b20 passou por sucessivas ativações em soro de queijo minas frescal para ser incorporado ao queijo. A boa sobrevivência do H2b20 associada ao processo utilizado para incorporá-lo ao produto pode permitir concentrações mais elevadas do microrganismo no produto final, desde que se aumente o número de células no inóculo, por ativação do microrganismo em volume maior de soro.

Araújo (2007) estudou a viabilidade do *L. delbrueckii* UFV H2b20 em um queijo tipo cottage. Para adição ao produto, o microrganismo também foi submetido a ativações em soro de queijo minas frescal e manteve-se viável, em concentrações acima da recomendada, sem diminuição significativa durante todo o período de vida de prateleira do produto sob refrigeração. Neste estudo também foi demonstrado que este microrganismo, após ser submetido a estresse pela acidez do queijo cottage, exibiu maior resistência a condições ácidas e a sais biliares.

Leite (2005) verificou que *L. delbrueckii* UFV H2b20 se mantém viável em número suficiente para atender a legislação por no mínimo 90 dias em sorvete e em leite em pó estocados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pelo menos 45 dias em leite fermentado a  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  e 60 dias em leite em pó estocado à temperatura ambiente.

### **4.3 Análises microbiológicas e físico-químicas**

Os limites permitidos pela legislação para contagens de microrganismos indicadores de contaminação em queijos de muita alta umidade, como o queijo em estudo, são de  $10^3\text{ UFC.g}^{-1}$  de coliformes a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10^2\text{ UFC.g}^{-1}$  de coliformes a  $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10^2\text{ UFC.g}^{-1}$  de estafilococos coagulase positivo,  $5 \times 10^3\text{ UFC.g}^{-1}$  de fungos filamentosos e leveduras e ausência em 25 g de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* (BRASIL, 1996). As contagens de coliformes, *S. aureus*, fungos filamentosos e leveduras, em todas as repetições, estiveram



dentro dos limites estipulados, sempre abaixo de  $2,5 \times 10^2$  UFC.g<sup>-1</sup>. Não foi verificada presença de *E. coli*, *Salmonella* sp. ou *Listeria monocytogenes*. O produto, portanto, atende às exigências da legislação e os resultados comprovam o emprego de boas práticas de fabricação e higiene na manipulação de matérias-primas e utensílios.

Na Tabela 5 são apresentadas as medidas dos parâmetros físico-químicos do leite utilizado nas fabricações das diferentes formulações do queijo tipo quark. A composição do leite foi bastante homogênea para todas as repetições das produções com os diferentes probióticos. Os resultados encontrados estão de acordo com os requisitos de identidade e qualidade estipulados pela Instrução Normativa nº 51 do MAPA para o leite cru refrigerado. O leite, portanto, apresentou-se adequado para utilização na fabricação de produtos lácteos. O teor de gordura verificado, inferior a 0,5 % (m/m), caracteriza-o como desnatado (BRASIL, 2002).

Tabela 5 – Médias ( $\pm$  desvio padrão) das medidas dos parâmetros físico-químicos do leite utilizado para produção das formulações de queijo tipo quark com os diferentes probióticos *L. acidophilus* (LA5), *B. animalis subsp. lactis* (BB12) e *L. delbrueckii* UFV H2b20

Parâmetro	LA5	BB12	H2b20
Proteína (%)	3,08 (+ 0,31)	3,03 (+ 0,37)	3,11 (+ 0,01)
Gordura (%)	0,30 (+ 0,24)	0,10 (+ 0,00)	0,12 (+ 0,03)
Densidade	1,034 (+ 0,00)	1,034 (+ 0,00)	1,033 (+ 0,00)
Acidez	0,18 (+ 0,01)	0,17 (+ 0,01)	0,15 (+ 0,01)

A Tabela 7 mostra a composição físico-química dos queijos tipo quark em estudo após um dia de fabricação. Não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) dos parâmetros físico-químicos entre os queijos produzidos com os três probióticos (Tabela 6). De fato, da forma como foi adicionado ao produto, o microrganismo é apenas carreado pelo queijo. Deste modo não era esperado o seu desenvolvimento ou produção de compostos que pudessem alterar as características do produto.

Ong et al. (2006), não observaram efeito na composição de queijos tipo Cheddar pela adição de diferentes probióticos. Souza e Saad (2009), também

não verificaram alterações nas características físico-químicas de queijo minas frescal pela adição de *L. acidophilus* (LA5).

Tabela 6 – Resumo da análise de variância para os parâmetros físico-químicos dos queijos tipo quark simbióticos analisados após 1 dia de fabricação

Fontes de Variação	GL	QM				
		Proteína	Gordura	Umidade	pH	Acidez
Probiótico	2	0,253 <sup>ns</sup>	0,0749 <sup>ns</sup>	1,876 <sup>ns</sup>	0,0195 <sup>ns</sup>	0.0040 <sup>ns</sup>

<sup>ns</sup> não-significativo a 5% de probabilidade; QM = Quadrado médio.

Tabela 7 – Médias da composição físico-química das formulações de queijo tipo quark com os diferentes probióticos *L. acidophilus* (LA5), *B. animalis subsp. lactis* (BB12) e *L. delbrueckii* UFV H2b20

Parâmetro	LA5	BB12	H2b20
Proteína (%)	6,22	6,01	6,21
Gordura (%)	0,70	0,78	0,60
Umidade (%)	79,92	79,84	81,11
pH	4,50	4,38	4,41
Acidez	0,52	0,54	0,58

Devido à inexistência de legislação específica no Brasil para o queijo tipo quark, os resultados foram comparados com o queijo tipo petit suisse, o único queijo fresco obtido de coalhada ácida com Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade no Brasil, que é muitas vezes fabricado com a tecnologia do queijo tipo quark. De acordo com este regulamento, o petit suisse deve possuir um mínimo de 6 % de proteínas lácteas, o que foi observado no queijo tipo quark produzido (BRASIL, 2001). Este regulamento ainda estabelece que as características físico químicas deste produto devem corresponder às dos queijos de muita alta umidade, contidas no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL,1996).

Desta forma, este queijo se classifica como desnatado de muita alta umidade, pois apresentou teor de gordura no extrato seco inferior a 10 % (m/m) e umidade superior a 55 % (m/m). Apesar de não haver uma concentração de

proteínas pelo processo de dessora, o estabilizante utilizado apresentava proteínas do soro em sua composição, contribuindo para garantir a concentração protéica mínima de 6 % no produto final.

Para todos os queijos, independente do probiótico adicionado, não foi verificada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na acidez titulável ao longo dos 25 dias de estocagem sob refrigeração (Tabela 8). Com relação a este parâmetro, foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) quando se comparou os diferentes probióticos, sendo que o queijo contendo *L. delbrueckii* UFV H2b20 apresentou maior acidez, conforme pode ser visto na Tabela 9 que apresenta os valores médios de acidez titulável ao longo do período de estocagem dos três diferentes queijos em estudo. Entretanto, a acidez não mudou com o tempo para nenhum deles. Provavelmente esta diferença observada se deve ao fato de que as células do H2b20 estavam ativas no momento que foram adicionadas ao queijo e, até que ele fosse resfriado, se desenvolveram e promoveram um aumento na concentração de ácido láctico. Os outros probióticos foram adicionados na forma liofilizada e diluídos em leite UHT gelado, não sendo o tempo antes do resfriamento suficiente para ativação de suas células. Como não houve multiplicação dos microrganismos ao longo do tempo (Tabelas 3 e 4), não era justificável um aumento da acidez do produto.

Tabela 8 – Resumo da análise de variância para a evolução do parâmetro acidez titulável ao longo dos 25 dias de estocagem do queijo tipo quark simbiótico

Fontes de Variação	GL	QM
Probiótico	2	0,0320 <sup>s</sup>
Tempo	5	0,0024 <sup>ns</sup>
Probiótico x Tempo	10	0,0017 <sup>ns</sup>

<sup>s</sup> significativo a 5 % de probabilidade; <sup>ns</sup> não-significativo a 5 % de probabilidade;  
QM = Quadrado médio.

Tabela 9 – Valores médios de acidez titulável do queijo tipo quark simbiótico com os probióticos *L. acidophilus* (LA5), *B. animalis subsp. lactis* (BB12) e *L. delbrueckii* UFV H2b20 ao longo de 25 dias de armazenamento a 5 °C

Parâmetro	LA5	BB12	H2b20
Acidez	0,55	0,55	0,62

Os resultados encontrados sugerem que não ocorreu fermentação acentuada no produto pelos probióticos durante a sua estocagem. De fato não se esperava desenvolvimento do probiótico no produto, de modo que ele só foi adicionado ao final do processamento, antes do envase. Além disso, as condições de estocagem não eram favoráveis a atividade dos microrganismos.

Bactérias do gênero *Bifidobacterium* apresentam crescimento ótimo em valores de pH entre 6 e 7 não sendo verificado crescimento visível em pH 4,5 – 5,0 ou abaixo, nem 8,0-8,5 ou acima. A temperatura ótima para sua multiplicação se situa entre 37 e 41 °C, a máxima entre 43 e 45 °C, não sendo observado crescimento em temperaturas de 25-28 °C ou abaixo. Por este motivo não se observou multiplicação do *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) no produto. *L. acidophilus* podem se multiplicar em temperaturas de até 45 °C, sendo seu desenvolvimento ótimo observado a 35-40 °C. Sua tolerância a ácidos varia de 0,3 a 1,9 % de acidez titulável e o pH ótimo para seu crescimento se situa entre 5,5 e 6,0 (GOMES E MALCATA, 1999b).

O desenvolvimento dos microrganismos no produto poderia não ser interessante do ponto de vista sensorial. As bifidobactérias, por exemplo, produzem ácidos acético e láctico (nas proporções molares 3:2) durante a fermentação, podendo ocasionar alterações organolépticas indesejáveis (GOMES E MALCATA, 1999a). Além disto, a multiplicação do probiótico em determinadas condições poderia levar a degradação da inulina, especialmente pelas bifidobactérias, diminuindo a concentração desta substância no produto final.

As condições de armazenamento desfavoráveis, associadas ao baixo teor de gordura do produto são fatores limitantes à sobrevivência dos microrganismos. Apesar de aparentemente não se multiplicarem, os microrganismos se mantiveram viáveis. A presença de inulina no produto pode ter contribuído para manutenção da viabilidade das bactérias. Trabalhos como o de Cardarelli et al. (2008) demonstram que substâncias prebióticas estão relacionadas com maior sobrevivência de probióticos em produtos lácteos.

Buriti (2005a) desenvolveu um queijo fresco cremoso potencialmente simbiótico, no qual adicionou *L. paracasei* subsp. *paracasei* e inulina. A autora verificou que o teor de frutanos não se alterou significativamente no produto 21

dias após a fabricação, sugerindo que o metabolismo das bactérias starter e probiótica, bem como as condições de pH, não promovem degradação destas substâncias.

Huebner et al. (2008) estudaram o efeito de condições de processamento sobre a estabilidade de alguns prebióticos, incluindo a inulina. Foi observado que condições de pH ácido, comumente verificadas em produtos lácteos fermentados, exercem pouca influência na atividade dos prebióticos e eles se mantêm estáveis em valores de pH baixos como 3. Os autores também demonstraram que a inulina é resistente a reação de Maillard, pois não apresenta capacidade redutora, a menos que seja convertida em oligossacarídeos menores ou monossacarídeos.

#### **4.4 Comportamento reológico de escoamento do queijo tipo quark simbiótico**

Os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação obtidos nos ensaios reológicos foram ajustados pelos modelos de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) e Casson. Todos os parâmetros para os modelos foram significativos ( $p < 0,0001$ ) e estão apresentados nas Tabelas de 10 a 15 para os diferentes probióticos e tempos de análise.

Observando-se os dados obtidos para o modelo de Casson, verifica-se uma tendência de aumento dos valores de tensão inicial ( $K_{OC}$ ) com o tempo e diminuição com o aumento de temperatura para todas as formulações. Estes resultados sugerem aumento da força estrutural interna ao longo dos dias de estocagem do produto, provavelmente por estabilização do coágulo.

O modelo que forneceu melhor ajuste (maiores valores de  $R^2$ ) foi o da Lei da Potência. O valor do índice de comportamento ao escoamento ( $n$ ) é inferior à unidade para todas as formulações e temperaturas testadas, indicando comportamento pseudoplástico do produto, ou seja, uma diminuição da viscosidade com o aumento na taxa de deformação. O queijo pode ser considerado um fluido pseudoplástico com tensão de fluência.

Tabela 10 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com *L. acidophilus* (LA5) a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
8	1	1103,13 ± 108,70	0,66 ± 0,02	0,991
	5	1523,13 ± 133,20	0,61 ± 0,02	0,992
	10	1424,78 ± 139,70	0,61 ± 0,02	0,989
	15	1303,75 ± 237,60	0,61 ± 0,03	0,964
	20	1473,13 ± 153,70	0,61 ± 0,02	0,988
	25	1339,64 ± 144,10	0,61 ± 0,02	0,989
15	1	943,99 ± 100,90	0,65 ± 0,02	0,991
	5	862,45 ± 97,36	0,67 ± 0,02	0,990
	10	1054,74 ± 114,30	0,62 ± 0,02	0,989
	15	987,94 ± 118,00	0,62 ± 0,02	0,987
	20	1189,90 ± 151,30	0,61 ± 0,02	0,985
	25	1488,44 ± 95,70	0,59 ± 0,01	0,995

Tabela 11 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
8	1	1181,13 ± 89,32	0,65 ± 0,01	0,995
	5	892,61 ± 109,80	0,67 ± 0,02	0,989
	10	1312,62 ± 108,50	0,64 ± 0,01	0,994
	15	1300,54 ± 121,80	0,61 ± 0,02	0,992
	20	1426,82 ± 117,90	0,61 ± 0,01	0,993
	25	1640,27 ± 162,50	0,60 ± 0,02	0,990
15	1	674,24 ± 66,31	0,69 ± 0,02	0,993
	5	1086,01 ± 110,00	0,63 ± 0,02	0,991
	10	1141,00 ± 105,20	0,64 ± 0,02	0,993
	15	1030,24 ± 105,20	0,63 ± 0,02	0,990
	20	1201,95 ± 158,40	0,61 ± 0,02	0,984
	25	1585,00 ± 189,80	0,58 ± 0,02	0,985

Tabela 12 – Parâmetros do modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) para o queijo quark com *L. delbrueckii* UFV H2b20 a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
8	1	1157,94 ± 109,60	0,66 ± 0,02	0,993
	5	1313,56 ± 112,80	0,62 ± 0,01	0,993
	10	1298,73 ± 119,00	0,60 ± 0,02	0,992
	15	1723,98 ± 128,60	0,59 ± 0,01	0,994
	20	1342,51 ± 129,90	0,60 ± 0,02	0,991
	25	1999,88 ± 104,30	0,56 ± 0,01	0,997
15	1	773,60 ± 128,00	0,67 ± 0,03	0,979
	5	1438,97 ± 116,30	0,59 ± 0,01	0,993
	10	1351,40 ± 131,80	0,58 ± 0,02	0,990
	15	1657,00 ± 102,10	0,55 ± 0,01	0,995
	20	1849,16 ± 146,00	0,54 ± 0,01	0,992
	25	1466,58 ± 128,40	0,56 ± 0,02	0,991

Tabela 13 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com *L. acidophilus* (LA5) a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K <sub>OC</sub> (Pa)	K <sub>C</sub> (Pa.s <sup>n</sup> )	R <sup>2</sup>
8	1	61,25 ± 4,77	9,07 ± 0,27	0,985
	5	70,99 ± 5,14	8,44 ± 0,29	0,982
	10	69,32 ± 5,05	8,23 ± 0,29	0,978
	15	65,79 ± 6,96	7,90 ± 0,39	0,969
	20	70,16 ± 5,20	8,32 ± 0,29	0,978
	25	66,22 ± 5,52	8,02 ± 0,31	0,977
15	1	56,57 ± 4,50	8,11 ± 0,25	0,985
	5	53,48 ± 4,87	8,21 ± 0,27	0,983
	10	59,17 ± 4,88	7,56 ± 0,27	0,980
	15	57,03 ± 4,97	7,10 ± 0,28	0,976
	20	62,30 ± 5,78	7,77 ± 0,33	0,973
	25	70,15 ± 3,95	7,73 ± 0,22	0,987

Tabela 14 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K <sub>OC</sub> (Pa)	K <sub>C</sub> (Pa.s <sup>n</sup> )	R <sup>2</sup>
8	1	63,14 ± 4,50	8,86 ± 0,25	0,987
	5	54,00 ± 5,52	8,52 ± 0,31	0,980
	10	66,40 ± 4,83	8,87 ± 0,27	0,985
	15	65,44 ± 5,13	7,98 ± 0,29	0,980
	20	68,74 ± 4,83	8,18 ± 0,27	0,983
	25	73,61 ± 5,33	8,48 ± 0,30	0,980
15	1	47,59 ± 3,90	7,94 ± 0,22	0,989
	5	60,30 ± 4,69	7,82 ± 0,26	0,982
	10	61,68 ± 4,84	8,29 ± 0,27	0,983
	15	58,50 ± 4,70	7,57 ± 0,26	0,981
	20	62,61 ± 5,91	7,73 ± 0,33	0,972
	25	71,23 ± 6,09	7,84 ± 0,34	0,970

Tabela 15 – Parâmetros do modelo de Casson para o queijo quark com *L. delbrueckii* UFV H2b20 a 8 °C e 15 °C

T (°C)	Tempo (dias)	K <sub>OC</sub> (Pa)	K <sub>C</sub> (Pa.s <sup>n</sup> )	R <sup>2</sup>
8	1	62,13 ± 5,14	9,12 ± 0,29	0,985
	5	66,11 ± 4,86	8,33 ± 0,27	0,983
	10	65,35 ± 4,95	7,78 ± 0,28	0,980
	15	74,92 ± 5,13	8,32 ± 0,29	0,981
	20	66,31 ± 5,21	7,88 ± 0,29	0,978
	25	80,11 ± 4,52	8,08 ± 0,26	0,984
15	1	50,30 ± 5,94	7,85 ± 0,33	0,973
	5	68,70 ± 4,72	7,82 ± 0,27	0,982
	10	66,03 ± 5,06	7,27 ± 0,29	0,976
	15	72,62 ± 4,09	7,13 ± 0,23	0,983
	20	75,58 ± 4,99	7,12 ± 0,28	0,975
	25	68,20 ± 4,76	6,89 ± 0,27	0,976



Veiga et al. (2000) analisaram queijos petit suisse comerciais e também obtiveram ajuste satisfatório dos parâmetros reológicos pelo modelo de Ostwald-de-Waele. Segundo Korolczuk e Mahaut (1989) o modelo reológico representado pela lei da potência descreve bem o comportamento de queijos frescos ácidos, com baixos teores de sólidos.

De maneira geral, coalhadas ácidas como leites fermentados e queijos frescos macios exibem comportamento pseudoplástico. Nestes produtos, a viscosidade diminui com o tempo a taxas de deformação constantes como consequência de uma quebra progressiva do gel (FOX, 1993).

A acidificação lenta do leite, afetada pela conversão da lactose em ácido láctico pela cultura starter, é fundamental na fabricação de queijos frescos obtidos de coalhada ácida. A acidificação promove as principais mudanças físico-químicas que são a solubilização do fosfato de cálcio micelar e redução da carga negativa da caseína. Estas mudanças conferem rearranjos estruturais e formação da cadeia de gel (FOX, 1993). O coágulo assim obtido é o resultado da formação de uma rede protéica insolúvel, englobando nas suas malhas a totalidade da fase aquosa. As ligações intramoleculares que intervêm na formação da rede são de natureza eletrostática e hidrofóbica (ECK, 1987).

A caseína é o componente crítico no leite que forma a estrutura primária da coalhada em queijos. A coagulação do leite pode afetar a composição, textura ou reologia final do produto. A gelificação da caseína é responsável pela maioria das propriedades reológicas de queijos e outros produtos lácteos (PARK, 2007; TUNICK, 2000). Vários fatores envolvidos no processamento como pré-tratamento do leite, velocidade e temperatura de acidificação, nível de proteínas e pH influenciam a estrutura do coágulo e, conseqüentemente, a estrutura reológica e físico-química de queijos como o quark (FOX, 1993).

O índice de consistência (K) obtido pelo modelo de lei da potência mostrou uma tendência de aumento ao longo do tempo e foi bastante elevado. Isto pode estar relacionado ao estabilizante/espessante utilizado na formulação do produto que contém, além de proteínas do soro, gelatina e goma guar.

Proteínas do soro adicionadas ao leite, quando submetidas ao tratamento térmico, são desnaturadas e seus grupos sulfidrila expostos

interagem com a  $\kappa$  - caseína e se precipitam com as caseínas quando ocorre acidificação, durante a fermentação. Esta interação aumenta a retenção de água e afeta as propriedades reológicas de coalhadas ácidas (FOX, 2001).

A goma guar, bastante utilizada em produtos lácteos, é capaz de formar soluções viscosas com alta capacidade de retenção de umidade, além de estabilizar suspensões evitando a dessora (MARUYAMA et al., 2006).

Além disto, a inulina e o Z-trim podem ter contribuído para maior consistência do produto. Guggisberg et al. (2009) verificaram aumento significativo na consistência de iogurtes pela adição de inulina. Toneli et al. (2007) reportaram que a utilização de inulina em alimentos sem gordura ou com baixo teor deste ingrediente como iogurtes, molhos para salada e chocolate promoveu um aumento na viscosidade e conferiu corpo aos produtos. O produto é, ainda, desnatado e a gordura influencia negativamente nas propriedades reológicas de queijos (FOX, 1993).

As Figuras de 2 a 7 mostram os pontos experimentais obtidos nos ensaios (obs) e as curvas de ajuste estimadas (est) pelo modelo de Ostwald-de-Waele e Casson para cada tempo de observação representando a tensão de cisalhamento versus a taxa de deformação para os queijos com os diferentes probióticos nas duas temperaturas testadas.

Verifica-se que não há proporcionalidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação, característica típica de um comportamento não-newtoniano. A observação das curvas sugere que houve muito pouca variação do comportamento reológico do produto ao longo do período de estocagem. Este resultado é interessante, pois uma variação do comportamento reológico do queijo ao longo do tempo poderia significar perda de umidade indesejável. Os dados indicam que o produto mantém sua textura ao longo do tempo.

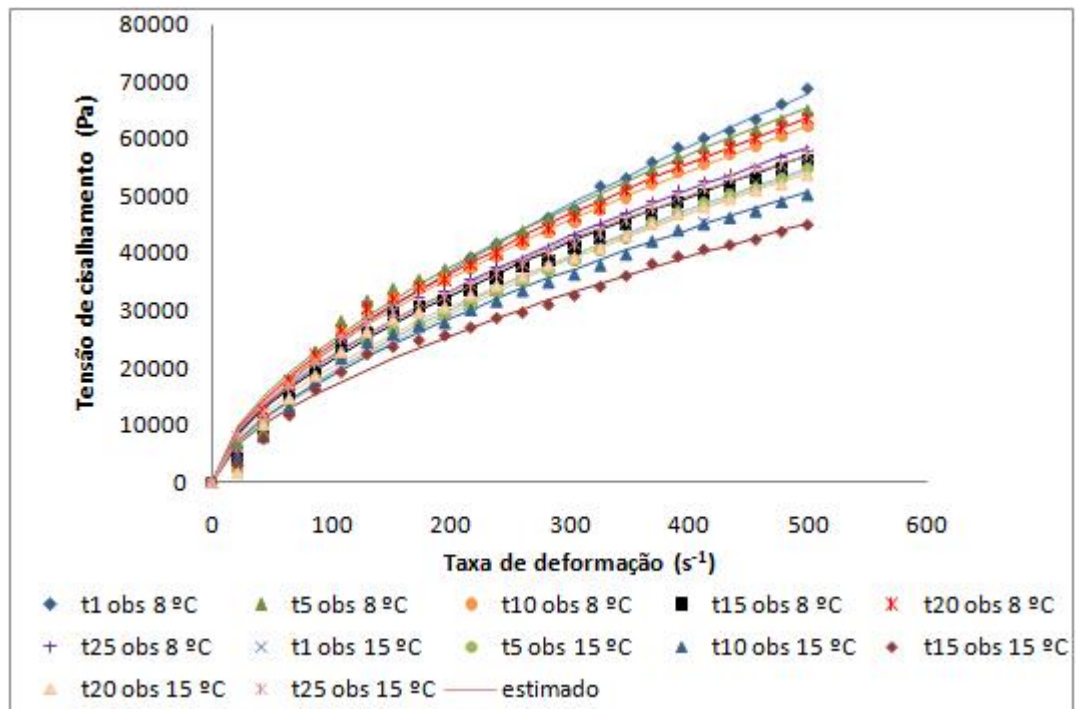


Figura 2 – Reograma para queijo com *L. acidophilus* (LA5) nas temperaturas de 8 °C e 15 °C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência).

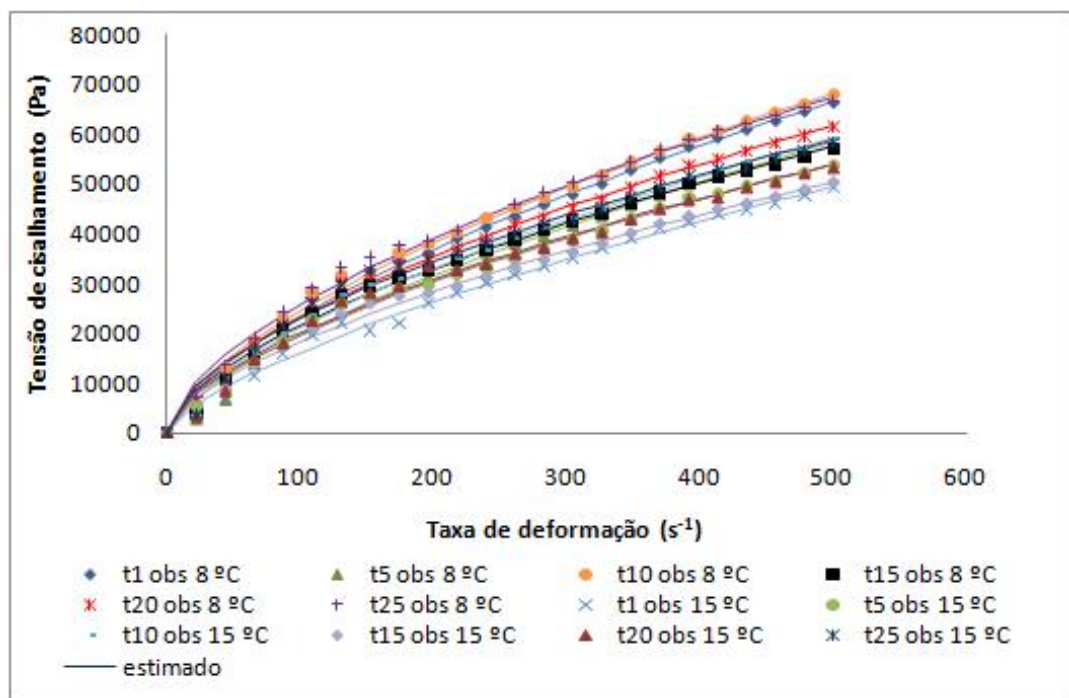


Figura 3 – Reograma para queijo com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) nas temperaturas de 8 °C e 15°C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência).

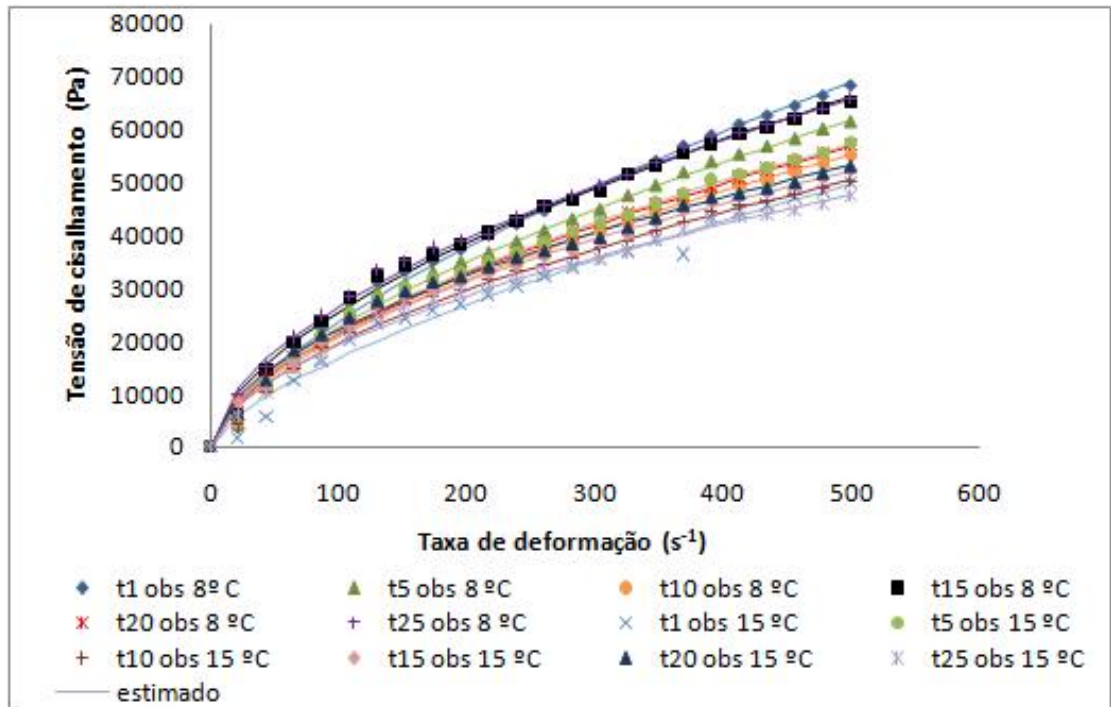


Figura 4 – Reograma para queijo com *L. delbrueckii* UFV H2b20 nas temperaturas de 8°C e 15°C, ajustado ao modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência)

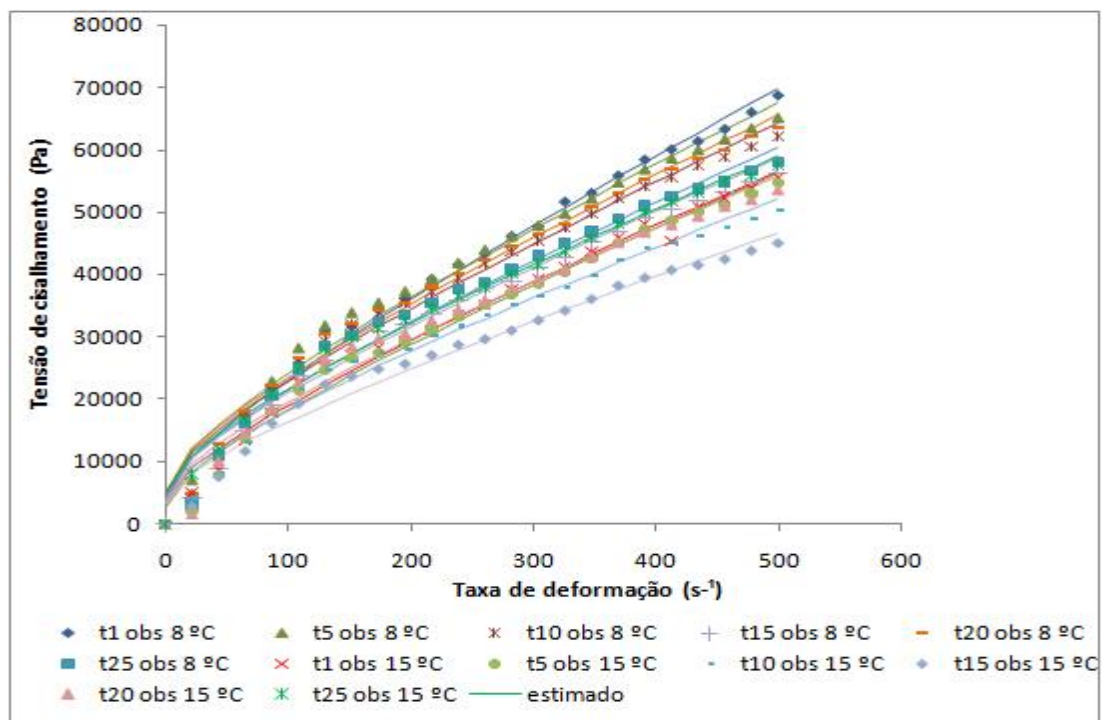


Figura 5 – Reograma para queijo com *L. acidophilus* (LA5) nas temperaturas de 8°C e 15°C, ajustado ao modelo de Casson.

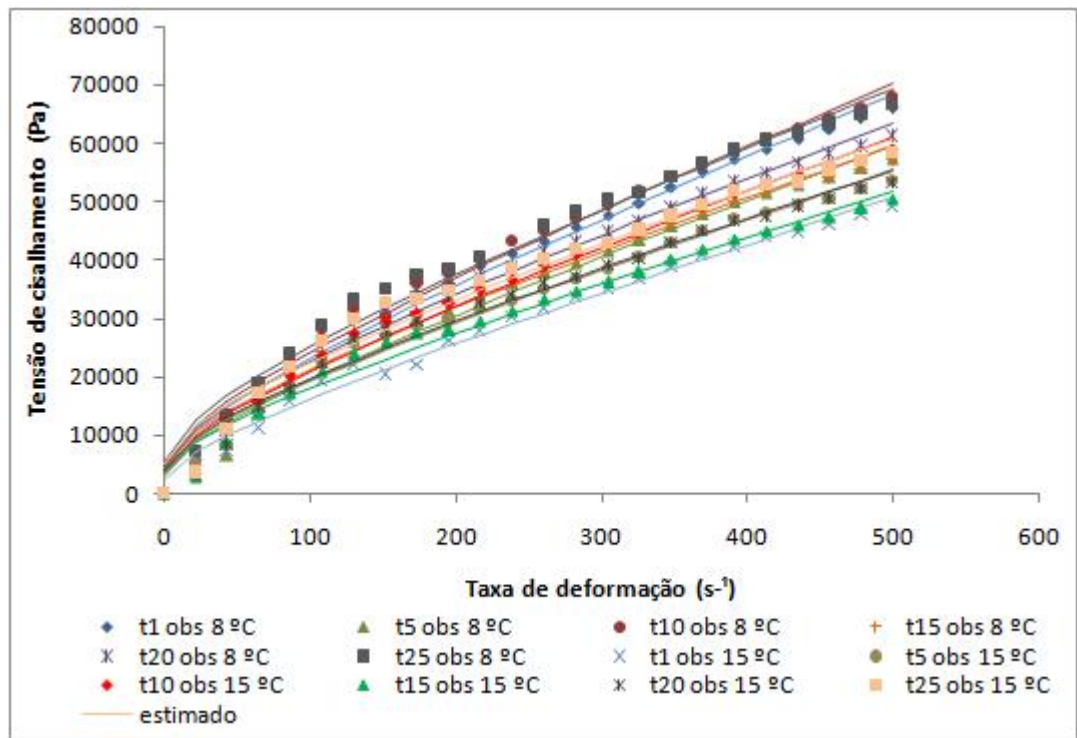


Figura 6 – Reograma para queijo com *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) nas temperaturas de 8°C e 15 °C, ajustado ao modelo Casson.

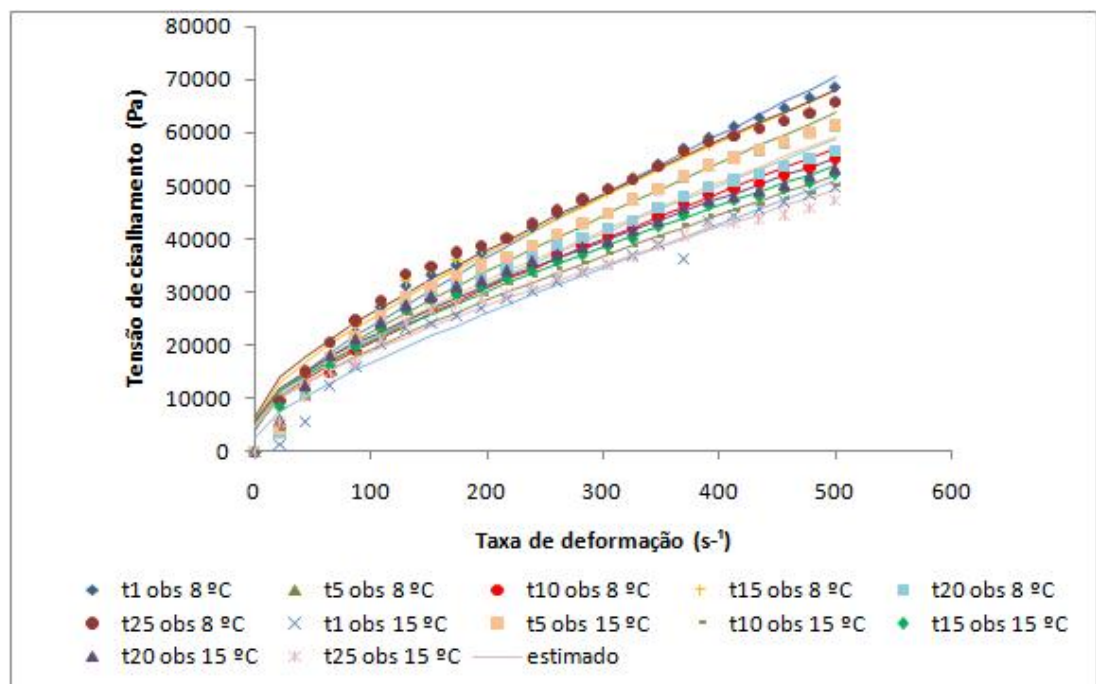


Figura 7 – Reograma para queijo com *L. delbrueckii* UFV H2b20 nas temperaturas de 8 °C e 15°C, ajustado ao modelo de Casson.

Para fluidos não newtonianos a viscosidade deixa de ser constante, uma vez que é função da taxa de deformação. Desta forma, para melhor compreender o comportamento destes fluidos é utilizado o conceito de viscosidade aparente (RAMOS, 1997). Este parâmetro foi calculado para o produto a partir da equação de Ostwald-de-Waele e os resultados são apresentados na Tabela 16 para as duas temperaturas e diferentes tempos testados, utilizando uma taxa de deformação constante de  $10 \text{ s}^{-1}$ . Para alimentos mais viscosos, os estímulos de viscosidade sensorial podem estar relacionados com a tensão de cisalhamento desenvolvida a uma taxa de deformação constante de  $10 \text{ s}^{-1}$  (ENGELEN et al., 2003). De maneira geral, foi verificada uma tendência de aumento da viscosidade aparente ao longo do tempo. Na temperatura de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  observa-se certa diminuição deste parâmetro em relação à temperatura de  $8 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Tabela 16 – Valores da viscosidade aparente dos queijos tipo quark com os probióticos *L. acidophilus* (LA5), *B. animalis subsp. lactis* (BB12) e *L. delbrueckii* UFV H2b20 analisados a  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  ao longo de 25 dias de armazenamento a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$

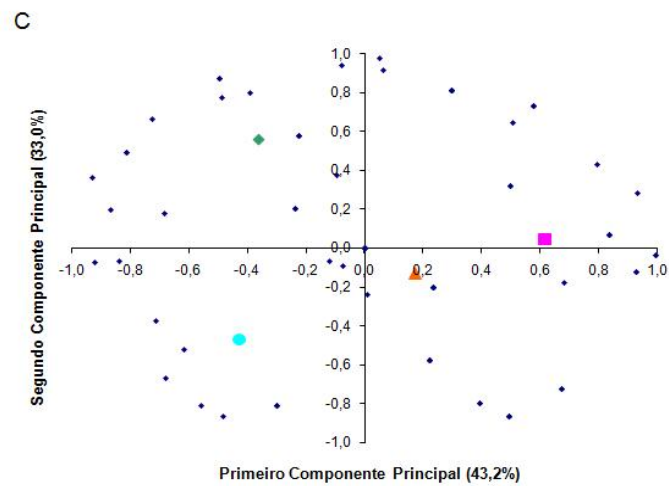
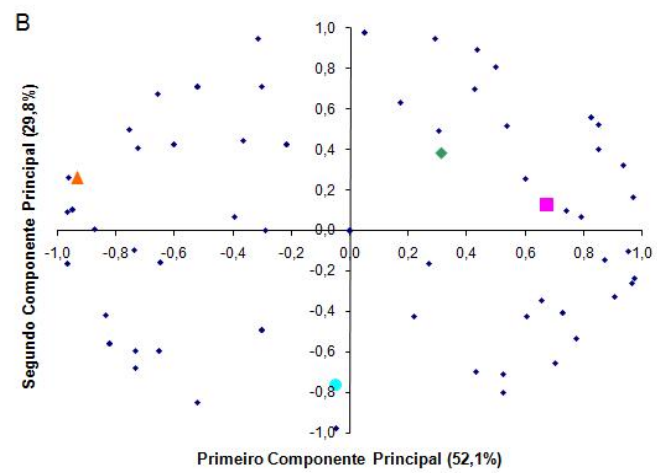
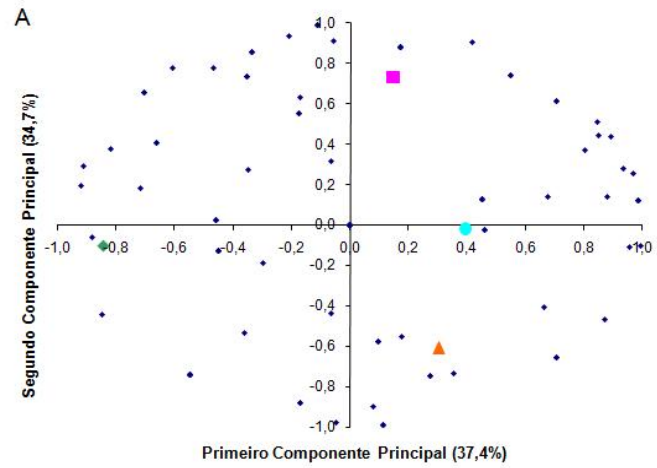
Tempo		1	5	10	15	20	25
T ( $^\circ\text{C}$ )		Viscosidade aparente* (Pa.s)					
LA5	8	508,10	613,57	577,82	528,70	594,72	542,83
	15	426,09	401,65	442,67	407,33	489,39	575,56
BB12	8	526,01	419,81	567,42	530,32	575,39	649,31
	15	331,42	461,01	493,54	435,39	491,42	604,71
H2b20	8	526,42	547,55	522,25	665,58	538,75	730,03
	15	361,87	564,39	517,29	594,52	642,17	533,06

\* Viscosidade aparente calculada segundo a equação  $\eta_a = k \dot{\gamma}^{(n-1)}$  e taxa de deformação de  $10 \text{ s}^{-1}$ .

#### 4.5 Aceitabilidade sensorial do queijo tipo quark simbiótico

Os dados obtidos nos testes de aceitação das amostras de queijo tipo quark simbióticos foram avaliados pela técnica de Mapa de Preferência Interno e os resultados para os diferentes tempos de análise estão apresentados na Figura 8. Para a análise após 5 dias de fabricação, os dois primeiros

componentes principais explicam juntos 72,1 % da variância dos dados, para a análise de 15 dias 81,9 % e para a de 25 dias 76,2 %. Desta forma, explicam a maior parte da variação dos dados, sendo suficientes para discriminar as amostras com relação à aceitação.



◆ Consumidores    ■ LA5    ▲ BB12    ● H2b20    ◆ Controle

Figura 8 – Mapa de Preferência Interno para as amostras de queijo tipo quark avaliadas após 5 (A), 15 (B) e 25 (C) dias de estocagem sob refrigeração



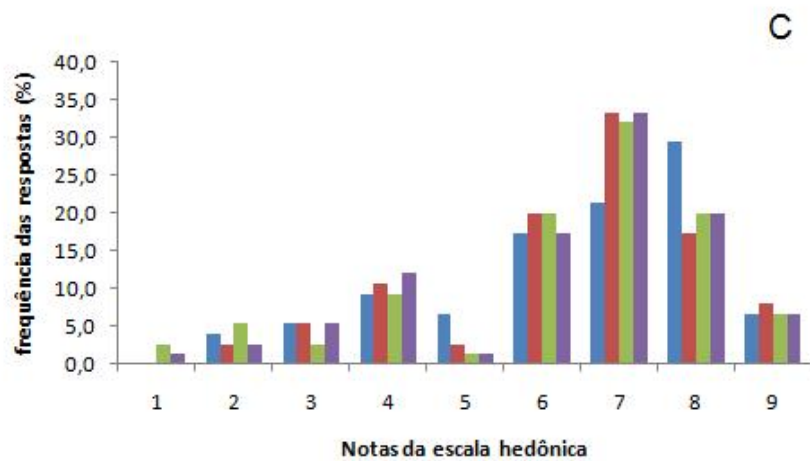
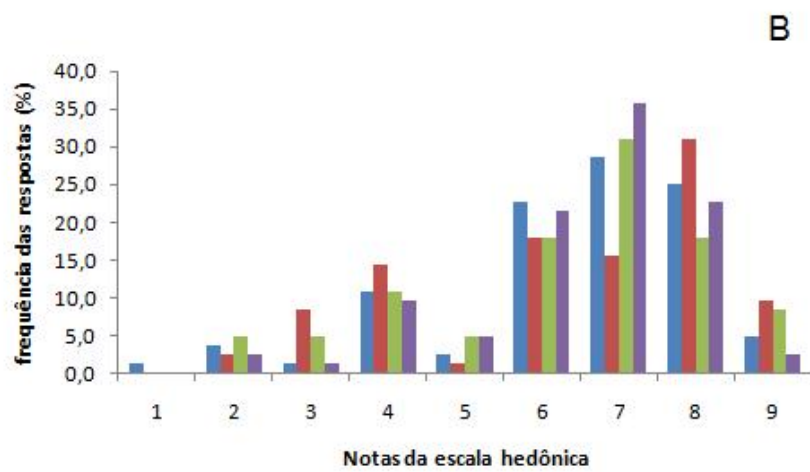
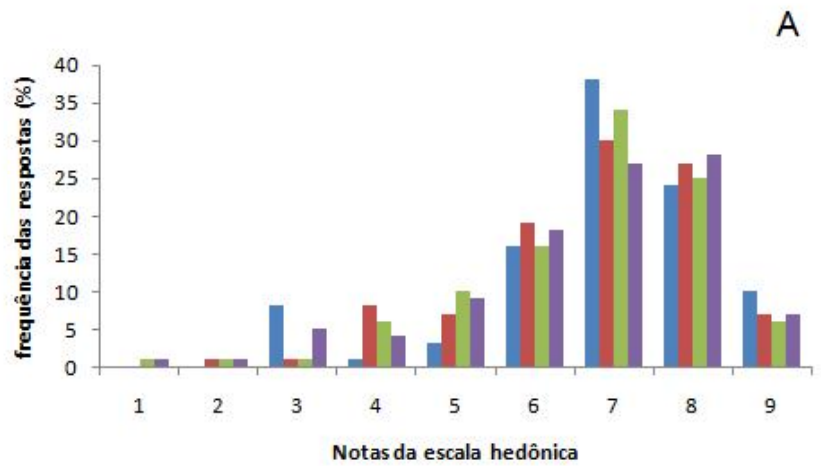
Nos gráficos, os pontos associados aos consumidores representam a correlação entre os dados de aceitação de um consumidor e os dois primeiros componentes principais. A correlação de provadores com pelo menos um dos componentes indica diferença na aceitação das amostras. Consumidores próximos ao centro do gráfico não se correlacionam com nenhum dos componentes principais, não contribuindo para discriminação das amostras por considerarem todas elas com aceitação semelhante.

Nos mapas construídos para os diferentes tempos de estocagem do produto observa-se uma homogeneidade na distribuição dos provadores em relação às amostras. Isto indica que não houve diferença na aceitação dos queijos com os diferentes probióticos testados e o controle ao longo do tempo.

Esta observação está de acordo com os resultados obtidos nas análises físico-químicas e reológicas em que não foram observadas diferenças nas características dos produtos com os diferentes probióticos ao longo do tempo. Além disso, os resultados sugerem que a adição de microrganismos probióticos a este tipo de produto, da forma como foi feita neste estudo, não altera as características sensoriais deste queijo.

Em seu trabalho com queijo cottage simbiótico, Araújo (2007) não verificou diferença significativa na aceitação do produto quando comparado com um controle, sem prebiótico e probiótico. Da mesma forma, o emprego do *L. delbrueckii* UFV H2b20 e da inulina não levou a alterações sensoriais do produto durante o período de estocagem a 5°C.

Na Figura 9 são apresentados histogramas com as freqüências das notas atribuídas às formulações nos tempos de estocagem avaliados. Para todas as formulações e diferentes tempos a maioria das amostras recebeu notas entre 6 e 8, sendo classificadas entre os termos hedônicos gostei ligeiramente e gostei muito, indicando que foram bem aceitas pela maior parte dos consumidores.



■ LA5 ■ BB12 ■ H2b20 ■ Controle

Figura 9 – Histogramas com as frequências das notas atribuídas aos queijos tipo quark simbióticos avaliados após 5 (A), 15 (B) e 25 (C) dias.

A tecnologia empregada, sem dessoragem, não teve influência negativa na aceitação do produto, provavelmente pela adição das fibras e estabilizantes, que garantiram um teor de sólidos suficiente para boa consistência do queijo. A inulina e proteínas do soro contribuem para as características sensoriais de produtos desnatados como o queijo quark em estudo, atuando como substitutos da gordura. Além disso, a adição do mix de ervas finas é um atrativo que vem sendo aplicado com sucesso a produtos lácteos e neste caso pode ter atuado diminuindo a percepção da acidez elevada do queijo quark.

## CONCLUSÕES

- A tecnologia empregada eliminou uma etapa crítica no processamento deste tipo de queijo sem perda de qualidade.
- O produto se mostrou um bom veículo para os microrganismos probióticos utilizados que, após 25 dias de estocagem sob refrigeração se mantiveram em contagens elevadas.
- Os probióticos, da maneira como foram adicionados, não promoveram diferenças nas características físico-químicas, reológicas e sensoriais do queijo. A forma de produção e conservação do produto não possibilitou atividade fermentativa dos microrganismos ao longo do tempo.
- O queijo quark em estudo apresentou-se como pseudoplástico com tensão de fluência e seu comportamento ao escoamento se ajustou melhor ao modelo de Ostwald-de-Waele. Observou-se uma tendência de aumento da viscosidade aparente e índice de consistência do produto ao longo do tempo. Estes parâmetros apresentaram-se bastante elevados como consequência da utilização dos estabilizantes, espessantes e fibras.
- O queijo teve boa aceitação sensorial e os provadores não detectaram diferença entre as amostras com diferentes probióticos e o controle sem estes microrganismos.
- O produto apresenta-se como proposta interessante para o mercado de produtos lácteos de baixo teor de gordura e com ingredientes funcionais e se relaciona com uma demanda crescente dos consumidores por alimentos mais saudáveis e nutritivos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, S. M. M. **Comportamento do *L. acidophilus* UFV H2b20 sob condições do trato digestivo *in vitro* e efeito de métodos de preservação em sua atividade.** 1988. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.

AGUIAR, C.L.; CORÓ, F.A.G.; PEDRÃO, M.R. Componentes ativos de origem animal. **Boletim do CEPPA**, v.23, p. 413-434, 2005.

ARAÚJO, E. A. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo Cottage adicionado de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 e de inulina.** 2007. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2007.

BATISTA, M. T. ***Lactobacillus* em culturas mistas para formulação de probiótico.** 1997. 43 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG, 1997.

BLACK, F. T.; ANDERSEN, P.L.; ÖRSKOV, J.; ÖRSKOV, F.; GAARSLEV, K.; LAULUND, S. Prophylactic efficacy of lactobacilli on travelers diarrhea. **Travel Medicine**, v.7, p.333–335, 1989.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho, 2008. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em: 15 jan. 2009. 2008

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Serviço de Inspeção de Leite e Derivados. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Brasília, 2006.

BRASIL Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Serviço de Inspeção de Leite e Derivados. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado. Diário Oficial da União. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Secretaria de Inspeção de Produto Animal, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo petit-suisse. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal, Brasília, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 03 nov. 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar.

BRASIL. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. O Ministério de Estado da Agricultura e Abastecimento e Reforma Agrária institui o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos. Diário Oficial da União, Brasília, 11 mar. 1996.

BOUHNİK, Y.; RASKINE, L.; CHAMPION, K.; ANDRIEUX, 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.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. 2005. 75 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica - Farmacêutica) – Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2005a.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v.15, p. 279–288, 2005b.

CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v.41, p.1037-1046, 2008.

CARDELLO, H. M. A. B.; FARIA, J. B. Análise da aceitação de aguardentes de cana por testes afetivos e mapa de preferência interno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.1, p. 32 – 36, 2000.

CRUZ, A. G.; FARIA, J. A.; VAN DENDER, A. G. F. Packaging system and probiotic dairy foods. **Food Research International**, v. 40, p. 951-956, 2007.

DANTAS, M.I.S.; MINIM, V.P.R.; PUSCHMANN, R.; CARNEIRO, J.D.S.; BARBOSA, R.L. Mapa de preferência de couve minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 101-103, 2004.

DIPLOCK, A. T.; AGGETT, P. J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E. B.; ROBERFROID, M. B. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. **British Journal of Nutrition**, v. 81: S1-27, 1999.

ECK, A. **O queijo**, Publicações Europa – América, 1987, 336p.

ENGELLEN, L.; DE WIJK, R. A.; PRINZ, J.F.; JANSSEN, A. M.; WEENEN, H.; BOSMAN, F. The effect of oral and product temperature on the perception of flavor and texture attributes of semi-solids. **Appetite**, v. 41, p. 273–281, 2003.

FERREIRA, C. L. L. F. Leite acidófilo: oito décadas de evolução. **Revista Leite e Derivados**, p. 22-26, 1999.

FERREIRA, C. L. L. F. Grupo de bactérias lácticas: Caracterização e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: FERREIRA, C. L. L. F. (Ed.) **Prebióticos e probióticos: Atualização e prospecção**. Viçosa - MG: Suprema Gráfica e Editora, 2003. p. 7-33.

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: 22 fev 2008. [Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation].

FOX, P. F. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. 2 ed. Chapman & Hall, v.2, 577p.,1993.

FOX, P.F.; McSWEENEY, P.L.H. **Advanced Dairy Chemistry**. Parte A. 3ed., v.1. Ed. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2003.

FOX, P. F.; O'CONNOR, T. P.; MCSWEENEY, P. L. H.; GUINNEE, T. P.; O'BRIEN, N. M. Cheese: physical, biochemical and nutritional aspects. **Advances in Food and Nutrition Research**, v.39, p.163-328, 1996.

FOX, P. F. Milk proteins as food ingredients. **International Journal of Dairy Technology**, v.54, p.41-55, 2001

FULLER, F. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied of Nutrition**, v.66, p. 365-378, 1989.

GOMES, A. M.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Boletim de Biotecnologia**, v.64, p.12 – 22, 1999a.

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

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

GUGGISBERG, D.; CUTHBERT-STEVEN, J.; PICCINALI, P.; BUTIKOFER, U.; EBERHARD, P. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. **International Dairy Journal**, v.19, p.107–115, 2009.

GUINARD, J.; UOTANI, B.; SCHILCH, P. Internal and external mapping of preference for commercial lager beers: comparison of hedonic ratings by consumers blind versus with knowledge of brand and price. **Food Quality and Preference**, v. 12, p. 243-255, 2001.

HAMINIUK, C. W. I. **Comportamento reológico e fracionamento péctico das polpas integrais de araçá (*Psidium cattleianum sabine*) e amora-preta (*Rubus spp*)**. 2005. 85f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba– PR, 2005.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; DE PAULA, H. Proteínas do soro de leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 479-488, 2006.

HAULY, M. C. O; MOSCATTO, J. A. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos **Semina: Ciências Exatas e Tecnológica**, v. 23, p. 105-118, 2002.

HELLER, K. J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73S, p.374–379, 2001.

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

HUEBNER, J.; WEHLING, R.L.; PARKHURST, A.; HUTKINS R.W. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, v.18, p.287–293, 2008.

ISOLAURI E. Probiotics in human disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.1142–1146S, 2001.

JELEN, P.; RENZ-SCHAUEN, A. Quarg manufacturing innovations and their effects on quality, nutritive value and consumer acceptance. **Food Technology**, p.74–81, 1989.

KAILASAPATHY, K.; HARMSTORF, I.; PHILLIPS, M. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. **LWT - Food Science and Technology**, v.41, p.1317–1322, 2008.

KELLY, A. L.; O'DONNELL, H. J. Composition, gel properties and microstructure of Quarg as affected by processing parameters and milk quality. **International Dairy Journal**, v.8, p.295-301, 1998.



KIM, H. S., GILLILAND, A. S. *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.959–966, 1983.

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, p. 329-347, 2008.

KOROLCZUK, J.; MAHAUT, M. Viscosimetric Studies on Acid Type Cheese Texture. **Journal of Texture Studies**, v. 20, p. 169-178. 1989.

KOSIKOWSKI, F. **Cheese and Fermented Milk Foods**, 2 ed. F.V. Kosikowski and Associates, New York, 1982.

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. **Early Human Development**, v. 65, p. S31-S41, 2001.

LEITE, M. O. **Processos para o desenvolvimento de produtos lácteos probióticos com *Lactobacillus delbrueckii* UFVH2b20**. 2005. 87 f. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2005.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v.1, p.1–17, 2001.

MANNING, T. S.; GIBSON, G. R. Microbial-gut interactions in health and disease. Prebiotics. **Best Practice Research Clinical Gastroenterology**, v. 18, n. 2, p. 287-298, 2004.

MARSHALL, V. M. Bioyogurt: How healthy? **Dairy Industries International**, v.61, p.28–29, 1996.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo petit suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.386 – 393, 2006.

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

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial Estudos com Consumidores**, Editora UFV, 2006, 225p.

OLIVEIRA, K. H.; SOUZA, J. A. R.; MONTEIRO, A. R. Caracterização reológica de sorvetes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p.592-598, 2008.

ONG, L; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and

*Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v.16, p.446–456, 2006.

OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 82, p. 279-289, 2002.

PARK, Y. W. Rheological characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, p.73-87, 2007.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiology**, v. 1, p. 566, 1980.

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

RAMOS, A. M. **Caracterización reológica y transmisión de calor en derivados de frutas em el interior de tanques agitados**. 1997. 304f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universitat de Lleida, Lleida, 1997.

RIBEIRO, M. A. **Aspectos da Produção de Peróxido de Hidrogênio e Inibição de Bactérias por *Lactobacillus acidophilus* UFV H2B20**. 1995. 60 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1995.

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

ROCHA, J. R.; CATANA, R.; FERREIRA, B.S.; CABRAL, J. M. S.; FERNANDES, P. Design and characterisation of an enzyme system for inulin hydrolysis. **Food Chemistry**, v.95, p.77–82, 2006.

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

SALMINEN, S.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, E. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 70. p. 347-358, 1996.

SANTOS, N. S. **Isolamento de *Lactobacillus acidophilus* de fezes de crianças alimentadas ao seio e de bezerros, visando a sua utilização como adjunto dietético**. 1984. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1984.

SATO, A. C. K; CUNHA, R. L. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jaboticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.890-896, 2007.

SAXELIN, M.; KORPELA, R.; MÄYRÄ-MÄKINEN, A. Introduction: classifying functional dairy products. In: MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. (Ed.) **Functional dairy products**, CRC Press, 2003.

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

SOHAL, T. S.; ROEHL, D.; JELEN, P. Rennet as a cause of bitterness development in quarg. **Journal of Dairy Science**, v.71, p. 3188 – 3196, 1988.

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

STANTON, C.; GARDINER, G.; LYNCH, P. B.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Probiotic Cheese. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 491-496, 1998.

STEFFE, J. F. **Rheological methods in food process engineering**. 2. ed. Michigan: Freeman Press, 1996. 418p.

STRINGHETA, P. C.; VILELA M. A. P.; OLIVEIRA T. T.; NAGEM T. J.; **Alimentos “funcionais”: conceitos, contextualização e regulamentação**. Juiz de Fora: Templo 246 p, 2007.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v.67, p.147–156, 2005.

TONELI, J.T.C.L.; MURR, F.E.X.; MARTINELLI, P.; FABBRO, I.M.D.; PARK, K.J. Optimization of a physical concentration process for inulin. **Journal of Food Engineering**, v.80, p.832–838, 2007.

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

VEIGA, P. G.; CUNHA, R. L.; VIOTTO, W. H.; PETENATE, A. J. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo petit suisse brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, doi: 10.1590/S0101-20612000000300012, 2000.

VEIGA, P. G.; VIOTTO, W. H. Fabricação de queijo petit suisse por ultrafiltração de leite coagulado. Efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, p.267-272, 2001.

WALSTRA, P.; GEURTS, T.J.; NOOMEN, A.; JELLEMA, A.; VAN BOEKEL, M.A.J.S. **Ciencia de la Leche y Tecnología de los Productos Lácteos**. Editorial. ACRIBIA S.A., Espanha. 730p, 2001.

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

ZAKRZEWSKI E.; STEPANIAK, L.; ABRAHAMSEN, R. K.; SØRHAUG, T. Effect of thermisation on the quality of quarg. **International Dairy Journal**, v.1, p.199-208, 1991.