

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-  
Farmacêutica  
Área de Tecnologia de Alimentos

**Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse*  
simbiótico com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius)**

Antônio Diogo Silva Vieira

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:  
Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad

São Paulo  
2013

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-  
Farmacêutica  
Área de Tecnologia de Alimentos

**Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse*  
simbiótico com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius)**

Versão corrigida da Dissertação conforme Resolução CoPGr 5890.  
O original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP

Antônio Diogo Silva Vieira

Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE

Orientadora:  
Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad

São Paulo  
2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada à fonte.

**Ficha Catalográfica**

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Vieira, Antônio Diogo Silva  
V657d Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse* simbiótico com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) / Antônio Diogo Silva Vieira. -- São Paulo, 2013.  
127p

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica.

Orientador: Saad, Susana Marta Isay

1. Tecnologia de alimentos 2. Alimentos funcionais : Ciência dos alimentos I. T. II. Saad, Susana Marta Isay, orientador

664 CDD

Antônio Diogo Silva Vieira

Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse* simbiótico com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius)

Comissão Julgadora  
da  
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

---

Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP  
Orientadora/Presidente

---

Dra Kátia Sivieri  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP-Araraquara

---

Dra Neuza Aymoto Hassimoto  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP

Aprovado em: 11 de outubro de 2013.

Dedico este trabalho a Deus e aos meus pais José e Evenir,  
pois sem eles não teria a dádiva da vida, ao meu irmão,  
Dyego, ao meu querido sobrinho, Paulo Eduardo, aos meus  
amigos tão queridos. *In memória* a minha querida avó:  
Maria Quinto Vieira

## AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre, pela vida, pela minha família e amigos, por sempre está comigo, em meu coração, e sempre me carregar em seus braços principalmente nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais José e Evenir, meu irmão Dyego, meu sobrinho Paulo Eduardo, pelo carinho, amor, compreensão, pelo apoio e palavras de sabedoria, principalmente nos momentos em que me encontro perdido sempre posso contar com eles.

Aos meus familiares, tios e tias, em especial, Maria de Lourdes, Pe. Manoelito, pelo carinho e apoio, pois sem eles eu não estaria aqui e não teria chegado aonde cheguei, a meus tios Janete e Manoel (Neto) pela acolhida, durante o início da minha caminhada em São Paulo.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Susana Marta Isay Saad, por ter me aceitado como aluno sem ao menos me conhecer, por ter me dado à oportunidade de crescer e aprender com seus ensinamentos.

À Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos, pela importante colaboração neste trabalho, pela indicação para fazer pós-graduação com a Prof<sup>a</sup> Susana, apoio durante boa parte a minha vida acadêmica, pela companhia, risos e ensinamentos.

Às Dras. Martha Villarreal e Raquel Bedane, pela colaboração durante a realização do meu trabalho.

Aos meus queridos amigos e colegas do grupo de pesquisa, Graziela, Clara, Cristina, Marina Campos, Carol, Fernanda e Marina Rodrigues e Douglas, pela agradável convivência, em especial, a Marina Padilha e Mayra minhas companheiras de todas as horas e do “*in vitro*”, a Natalia e ao Felipe pelas risadas, pelos momentos de descontração.

Ao pessoal do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Katia, D. Lucia, Vinícios, Aline, Isabela e Dr. Svetoslav Todorov.

A Liana e sua família, por terem me acolhido durante a minha estadia em Sobral/CE.

Aos meus amigos de Sobral/CE, em especial, o Paulo Henrique e Maria Clara pela amizade, carinho e companheirismo.

Aos meus amigos de São Paulo e Bragança Paulista, Dr. Rafael Chacon, Maria Fernanda, Dra. Vanessa Biscola, Michael, Thiago, Sergio, Mauro, Bruno, Fernanda e sua família.

Às agências de fomento FAPESP pela concessão da bolsa de treinamento técnico TT3 e pelos auxílios a pesquisa e a CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos docentes, funcionários do Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da FCF-USP, em especial a Dra. Roberta Claro e Fabiana, e os técnicos Alexandre, Nilton e Ivani.

À Sra. Leila Aparecida Bonadio, bibliotecária de Referência e Informação da biblioteca do Conjunto das Químicas, pela revisão e correção das referências bibliográficas do presente trabalho.

Aos funcionários e estagiários da EMBRAPA Caprinos e Ovinos pelo auxílio durante a realização do meu experimento em sua unidade e pelo apoio financeiro durante a realização da pesquisa em sua unidade, em especial aos estagiários e ex-estagiários Samuel, Krisna, Jackeline, Joyce e Louricelia e aos laboratoristas Lidiane, Tabosa, Batista e Márcio, aos pesquisadores Dra. Selene, Dra. Hevila, Dr. Egito e Dr. Eduardo Laguna e ao analista Adriano por tratar estatisticamente meus dados.

A todos os provadores participantes da análise sensorial.

Às empresas Danisco, Clariant, Germinal, Laticionos Xando e Laticionos Salute que colaboraram com parte dos recursos materiais aqui utilizados.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Um guerreiro não desiste do que ele ama, ele encontra o amor no que ele faz.  
Ser guerreiro não exige perfeição. Ou vitória. Ou invulnerabilidade. Ele é a  
vulnerabilidade absoluta. Essa é a coragem verdadeira.”*

Filme: *Peaceful Warrinor* (Poder Além da Vida)



## RESUMO

VIEIRA, A.D.S. **Desenvolvimento de queijo caprino tipo *petit-suisse* simbiótico com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius).** 2013. 127p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

Os objetivos do trabalho foram desenvolver um queijo *petit-suisse* simbiótico a partir de leite de cabra e polpa de açaí, com a cultura probiótica *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e os prebióticos inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS), verificar a viabilidade e sobrevivência do probiótico no produto e frente às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro* e avaliar as características dos queijos ao longo de seu armazenamento a 4°C, bem como comparar o queijo *petit-suisse* simbiótico de cabra com o similar produzido a partir de leite de vaca. O delineamento experimental consistiu-se de três tipos de queijo *petit-suisse* caprino, em triplicata, todos utilizando *S.thermophilus* TA-40 como cultura *starter*. QCC = controle; QCP = probiótico (com cultura probiótica LPC-37); QCS = queijo simbiótico (com LPC-37 + prebióticos). Os queijos foram armazenados a 4°C e analisados semanalmente por até 28 dias. Adicionalmente, para fins de comparação com o QCS, foi, também, produzido um queijo similar com leite de vaca: QVS = queijo simbiótico de leite de vaca (com culturas *starter* e probiótica LPC-37 + prebióticos). A viabilidade dos probióticos e da cultura *starter*, a sobrevivência *in vitro* do probiótico incorporado aos produtos frente às condições gastrintestinais simuladas, bem como as análises de pH, acidez titulável e dureza instrumental dos queijos foram monitorados no produto final e semanalmente até 28 dias de armazenamento. A partir de amostras do dia 1 de armazenamento mantidas congeladas e liofilizadas, respectivamente, foi determinada a sua composição centesimal e de ácidos graxos. A aceitabilidade sensorial dos queijos frente a públicos de duas localidades distintas - de Sobral/CE e de São Paulo/SP foi realizada, respectivamente, aos 7, 14, 21 dias e aos 14 e 21 dias de armazenamento dos queijos. A avaliação sensorial em São Paulo foi conduzida somente em dois pontos, em virtude de dificuldades quanto à logística, envolvendo o transporte dos queijos até São Paulo. Os queijos *petit-suisse* caprinos apresentaram populações de LPC-37 superiores a 7,93 log UFC/g até 28 dias de armazenamento. As populações de *S. thermophilus* tiveram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) de até 1 ciclo log ao longo do armazenamento nos queijos QCP e QCS. A sobrevivência *in vitro* de LPC-37 foi baixa, com uma taxa de sobrevivência decrescente ao longo do armazenamento de QCS (de 47,0 para 32,5%) e de QVS (de 48,8 para 30,0%) e crescente para QCP (de 26,5 para 55,9%) para na fase entérica. Quanto à sobrevivência *in vitro* da LPC-37 na fase gástrica, o queijo de leite de vaca mostrou maior queda da taxa de sobrevivência (de 54,5 para 44,4%) ao longo do armazenamento ( $p < 0,05$ ). A adição de prebióticos influenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) o aumento da dureza do queijo QCS. Não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) entre a aceitabilidade dos queijos caprinos frente aos consumidores das duas localidades avaliadas, com exceção do QCS aos 21 dias, onde se observou uma menor aceitabilidade por parte dos consumidores de São Paulo, os quais também revelaram menores intenções de compra. Entre os queijos simbióticos, o de vaca (QVS) foi mais aceito que o seu equivalente de cabra (QCS) em ambas as localidades, com intenção de compra  $> 80\%$  e  $> 55\%$ , respectivamente, em Sobral e em São Paulo. Os resultados revelaram que os queijos *petit-suisse* caprinos apresentam-se como matrizes alimentares adequadas para a incorporação de *L. paracasei* LPC-37 em combinação com os prebióticos inulina e FOS, com boa aceitabilidade sensorial, principalmente pelos consumidores de Sobral/CE.

**Palavras-chave:** alimento funcional; frutanos; *Lactobacillus paracasei*; probióticos; prebióticos.

## ABSTRACT

VIEIRA, A.D.S. **Development of synbiotic caprine *petit-suisse* cheese with açai (*Euterpe oleracea* Martius) pulp.** 2013. 127p. Dissertation (Master of Science) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2013.

This study aimed to develop a synbiotic *petit-suisse* from goat milk and acai pulp, with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* LPC-37 and the prebiotic ingredients inulin and fructo-oligosaccharides (FOS), to verify the probiotic viability in the product and its survival under *in vitro* simulated gastric and enteric conditions and the characteristics of cheeses during storage at 4 °C, and to compare the goat synbiotic *petit-suisse* cheese with the equivalent product produced from cow's milk. The experimental design consisted of three types of goat *petit-suisse* cheese, in triplicates, all of them produced using *S.thermophilus* TA-40 as the starter culture: CGC = control goat cheese; PGC = probiotic goat cheese (with LPC-37); SGC = synbiotic goat cheese (with LPC-37 + prebiotics). The cheeses were stored at 4 °C and analyzed weekly for up to 28 days. Additionally, for comparison purposes with the SGC, a similar cheese produced from cow's milk: SCC = synbiotic cow cheese (with the starter and the probiotic culture LPC-37 + prebiotics). The viability of the probiotic and of the starter culture, the probiotic survival under *in vitro* simulated gastrointestinal, as well as the pH, titratable acidity, and instrumental hardness of cheeses were monitored in the final product and weekly until 28 days of storage. Cheese samples were kept frozen and freeze-dried one day after production, respectively, for analyses of their chemical composition and their fatty acids profile. The sensory acceptability of cheeses by consumers from two different locations - Sobral/ CE and São Paulo/ SP was conducted, respectively, on days 7, 14, and 21 and on days 14 and 21 of storage. Sensory evaluation in São Paulo was conducted at two points due to difficulties regarding transportation of the cheeses to São Paulo. The *petit-suisse* goat cheeses LPC-37 populations were always above 7.93 log CFU/ g up to 28 days of storage. Populations of *S. thermophilus* presented significant reductions ( $p < 0.05$ ), up to 1 log cycle, during storage of cheeses PGC and SGC. The *in vitro* survival of LPC-37 was low, with a decreasing survival rate during storage of SGC (from 47.0 to 32.5%) and SCC (from 48.8 to 30.0%) and an increasing survival for PGC (from 26.5 to 55.9%) during the enteric phase. As for the *in vitro* survival of LPC-37 in the gastric phase, cheese from cow's milk showed a higher decrease in the survival rate (from 54.5 to 44.4%) during storage ( $p < 0.05$ ). The addition of prebiotics significantly increased ( $p < 0.05$ ) the hardness of SGC. No significant difference was observed ( $p > 0.05$ ) between the acceptability of goat cheeses by the consumers of the two localities evaluated, except for the SGC on day 21, for which a lower acceptability was observed for the consumers of São Paulo, who also revealed lower purchase intentions. Among the synbiotic cheeses, the cow cheese (SCC) was more accepted than the equivalent goat cheese (SGC) in both locations, with the purchase intentions above 80% and above 55%, respectively, in Sobral and in São Paulo. The results showed that the goat *petit-suisse* cheeses revealed to be suitable as food matrices for the incorporation of *L. paracasei* LPC-37 in combination with the prebiotics inulin and FOS, with good sensory acceptability, especially regarding consumers of Sobral/ CE.

Key-words: functional food; fructans; *Lactobacillus paracasei*; probiotics; prebiotics.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Variáveis empregadas na elaboração dos queijos <i>petit-suisse</i> caprinos com polpa de açaí estudados.....	43
<b>Tabela 2.</b> Ingredientes empregados nas formulações dos queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), assim como para o queijo <i>petit-suisse</i> simbiótico de leite de vaca (QVS) e suas respectivas proporções. ....	43
<b>Tabela 3.</b> Características de crescimento de <i>L. paracasei</i> LPC-37, utilizando frutanos (inulina e FOS) e outros carboidratos como fonte de carbono. ....	57
<b>Tabela 4.</b> Composição centesimal (média ± DP) <sup>1</sup> e valor energético total (VET) dos queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS). ..	61
<b>Tabela 5.</b> Composição centesimal (média ± DP) <sup>1</sup> e valor energético total (VET) dos queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS). ....	62
<b>Tabela 6.</b> Distribuição de ácidos graxos presentes em 100 g de amostra integral (média ± DP) obtidos para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS).....	66
<b>Tabela 7.</b> Distribuição de ácidos graxos presentes em 100 g de amostra integral (média ± DP) obtidos para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS). ....	66
<b>Tabela 8.</b> Proporção de ácidos graxos segundo o grau de insaturação em relação ao total de ácidos graxos presentes nos diferentes queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS). ....	68
<b>Tabela 9.</b> Proporção de ácidos graxos segundo o grau de insaturação em relação ao total de ácidos graxos presentes nos diferentes queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS). ....	68
<b>Tabela 10.</b> Valores de pH, acidez e dureza instrumental (média ± DP) obtidos para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C. ....	70
<b>Tabela 11.</b> Valores de pH, acidez e textura instrumental (média ± DP) obtidos para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C.....	71
<b>Tabela 12.</b> Populações (média ± DP) de <i>S. thermophilus</i> (cultura starter) <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 obtidas para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) na massa-base de queijo <i>quark</i> (dia 0), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C. ....	74
<b>Tabela 13.</b> Populações (média ± DP) de <i>S. thermophilus</i> (cultura starter) e de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 obtidas para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca(QVS) na massa-base de queijo <i>quark</i> (dia 0), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C.....	77
<b>Tabela 14.</b> Populações de micro-organismos indicadores de contaminação obtidas para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C. ....	78
<b>Tabela 15.</b> Populações de micro-organismos indicadores de contaminação obtidos para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1 °C. ....	79

<b>Tabela 16.</b> Taxa de sobrevivência (TS%) de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 frente às condições gástricas e entéricas simuladas <i>in vitro</i> , quando incorporado aos queijos <i>petit-suisse</i> caprino probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o armazenamento dos produtos a 4±1 °C, e na cultura fresca (CF) utilizada como controle. ....	85
<b>Tabela 17.</b> Taxa de sobrevivência (TS%) de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 frente às condições gástricas e entéricas simuladas <i>in vitro</i> , quando incorporado aos queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o armazenamento dos produtos a 4±1 °C, e na cultura fresca (CF) utilizada como controle. ....	86
<b>Tabela 18.</b> Aceitabilidade sensorial obtida para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o armazenamento dos produtos a 4±1 °C, com consumidores de Sobral/CE e de São Paulo/SP.....	89
<b>Tabela 19.</b> Aceitabilidade sensorial obtida para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o armazenamento dos produtos a 4±1 °C, com consumidores de Sobral/CE e de São Paulo/SP.....	91
<b>Tabela 20.</b> Frequência das citações dos atributos sensoriais obtida para os queijos <i>petit-suisse</i> caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o seu armazenamento a 4±1 °C, para os diferentes locais onde a análise foi realizada (Sobral/CE e São Paulo/SP). ....	95
<b>Tabela 21.</b> Frequência das citações dos atributos sensoriais obtida para os queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o seu armazenamento a 4±1 °C, para os diferentes locais onde a análise foi realizada (Sobral/CE e São Paulo/SP). ....	97

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Curva de crescimento de *L. paracasei* LPC-37 em caldo MRS modificado (+ glicose)..... 41
- Figura 2.** Processamento da massa-base (queijo *quark*). \* a adição da cultura probiótica para a produção das massas-base utilizadas na produção dos queijos caprino probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) e na massa-base utilizada na produção do queijo simbiótico de leite de vaca (QVS) ..... 45
- Figura 3.** Processamento do queijo *petit-suisse*, à partir da massa-base de queijo *quark*. ..... 46
- Figura 4.** Aspecto visual da placa de micro-diluição, contendo os inóculos da cultura de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e os diferentes carboidratos avaliados no teste de utilização de carboidratos, após 48 horas de incubação. .... 56
- Figura 5.** Curvas de crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, utilizando frutanos e outros carboidratos possivelmente presentes nos queijos *petit-suisse* como fontes de carbono. CN – Controle negativo (caldo MRS modificado sem carboidrato) ..... 58
- Figura 6.** Curva de crescimento de *L. paracasei* LPC-37, utilizando 10% de polpa de açaí como fonte de nutrientes. .... 60
- Figura 7.** Cromatograma da fração de lipídeos extraída do queijo *petit-suisse* caprino QCS (simbiótico) após 1 dia de armazenamento a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ . ..... 65
- Figura 8.** Sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 em queijos *petit-suisse* caprinos probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) durante o armazenamento por 1, 7, 14, 21 e 28 dias (i, ii, iii, iv e v, respectivamente) e cultura fresca (CF) antes ( ) e durante o ensaio *in vitro* com simulação das condições gástrica após 2 horas ( ) e entéricas após 4 horas ( ) e 6 horas ( ) de ensaio. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS. .... 82
- Figura 9.** Sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 em queijos *petit-suisse* simbiótico caprino (QCS) e bovino (QVS) durante o armazenamento por 1, 7, 14, 21 e 28 dias (i, ii, iii, iv e v, respectivamente) e cultura fresca (CF) antes ( ) e durante o ensaio *in vitro* com simulação das condições gástrica após 2 horas ( ) e entéricas após 4 horas ( ) e 6 horas ( ) de ensaio. Vide Tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS. .... 83
- Figura 10.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) obtidos nos testes sensoriais realizados em Sobral/CE. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS. .... 92
- Figura 11.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) obtidos nos testes sensoriais realizados em São Paulo/SP. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS. .... 93
- Figura 12.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) obtidos nos testes sensoriais realizados em Sobral/CE. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS. .... 94
- Figura 13.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) obtidos nos testes sensoriais realizados em São Paulo/SP. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS. .... 94
- Figura 14.** Aparência geral dos queijos *petit-suisse* servidos aos consumidores nas análises sensoriais. .... 96



## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1.</b> Equação da curva de crescimento da cepa de <i>L. paracasei</i> LPC-37 .....	41
<b>Equação 2.</b> Taxa de crescimento máximo .....	41
<b>Equação 3.</b> Taxa de sobrevivência (TS%).....	50





## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	21
1.1.	Alimentos funcionais: definição, desenvolvimento e mercado. ....	21
1.2.	Probióticos, Prebióticos e Simbióticos.....	23
1.3.	Bactérias do grupo <i>Lactobacillus casei</i> e seu uso como probiótico .....	26
1.4.	Frutanos: Inulina e fruto-oligossacarídeos.....	29
1.5.	Queijos como veículo de probióticos. ....	30
1.6.	Leite e produtos lácteos caprinos.....	32
1.7.	Açaí e suas propriedades funcionais.....	35
1.8.	Justificativa para o desenvolvimento do presente estudo.....	37
2.	OBJETIVOS .....	38
2.1.	Objetivo geral.....	38
2.2.	Objetivos específicos .....	38
3.	MATERIAL E MÉTODOS .....	39
3.1.	Avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37. Avaliação do efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37. ....	39
3.1.1.	Avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 .....	39
3.1.2.	Avaliação do efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37... ..	42
3.2.	Fabricação do queijo <i>petit-suisse</i> com polpa de açaí .....	42
3.2.1.	Variáveis empregadas na elaboração dos queijos <i>petit-suisse</i> caprinos e ingredientes utilizados na produção da massa-base (queijo <i>quark</i> ) e dos queijos <i>petit-suisse</i> . ....	42
3.2.2.	Produção das massas-base e queijos <i>petit-suisse</i> .....	44
3.3.	Períodos de amostragem .....	46
3.4.	Determinação dos parâmetros microbiológicos .....	47
3.4.1.	Contagem de <i>Streptococcus thermophilus</i> e <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 .....	47
3.4.2.	Determinação dos parâmetros microbiológicos sanitários.....	48
3.5.	Sobrevivência de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37, como cultura fresca (controle) e incorporada aos queijos, às condições gastrintestinais simuladas <i>in vitro</i> ... ..	49
3.5.1.	Preparação da cultura probiótica fresca utilizada como controle .....	49
3.5.2.	Sobrevivência dos probióticos frente às condições gastrintestinais simuladas <i>in vitro</i> .....	49
3.6.	Determinação da dureza instrumental.....	50

3.7.	Determinação dos parâmetros físico-químicos .....	51
3.8.	Análise da composição centesimal e cálculo do valor energético total (VET) dos queijos <i>petit-suisse</i> . .....	51
3.9.	Determinação da composição de ácidos graxos dos queijos <i>petit-suisse</i> .....	52
3.10.	Análise sensorial.....	53
3.11.	Delineamento experimental e análise estatística .....	55
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
4.1.	Capacidade de utilização de carboidratos por <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37. Efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 .....	55
4.2.	Parâmetros físico-químicos.....	60
4.2.1.	Composição centesimal e apresentação do valor energético total (VET) dos queijos <i>petit-suisse</i> com polpa de açaí.....	60
4.1.2.	Composição em ácidos graxos.....	63
4.1.3.	pH, acidez titulável e dureza instrumental dos queijos.....	68
4.2.	Parâmetros microbiológicos.....	73
4.2.1.	Populações de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 e de <i>Streptococcus thermophilus</i> dos queijos <i>petit-suisse</i> durante o período de armazenamento .....	73
4.2.2.	Monitoramento de micro-organismos indicadores de contaminação e determinação de patógenos .....	77
4.2.3.	Sobrevivência de <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 nos queijos <i>petit-suisse</i> e cultura fresca frente às condições gastrintestinais simuladas <i>in vitro</i> .....	81
4.3.	Análise sensorial e de intenção de compra .....	88
5.	CONCLUSÕES .....	98
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	99

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Ofício de aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP .....	117
<b>Anexo 2.</b> Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada nas análises do presente trabalho.....	119
<b>Anexo 3.</b> Modelo do Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento .....	120
<b>Anexos 4.</b> Informação nutricional dos queijos <i>petit-suisse</i> caprino (QCC, QCP e QCS), seguindo as normas da AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a,b; 2008). .....	122
<b>Anexo 5.</b> Informação nutricional dos queijos <i>petit-suisse</i> simbiótico de vaca (QVS), seguindo as normas da AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a,b; 2008). .....	123
<b>Anexo 6.</b> Controle do pH durante os teste de sobrevivência de <i>Lactobacillus paracasei</i> nos queijos <i>petit-suisse</i> QCP, QCS e QVS submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas <i>in vitro</i> , após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento (Veja a Tabela 1 para descrição dos queijos <i>petit-suisse</i> QCP, QCS e QVS).....	124
<b>Anexo 7.</b> Ingredientes utilizados na formulação do caldo MRS modificado utilizado na avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37. ....	125
<b>Anexo 8.</b> Ficha do aluno gerada pelo Sistema Janus-USP .....	126



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Alimentos funcionais: definição, desenvolvimento e mercado.

O paradigma de saúde e nutrição mudou significativamente durante as duas últimas décadas. Nos últimos anos, o alimento não é visto apenas como um veículo de nutrientes essenciais para assegurar o crescimento e o bom desenvolvimento do organismo, mas como uma via para otimizar o bem estar e a saúde (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009). Durante os últimos 60 anos, alimentos com atributos de saúde tornaram-se cada vez mais importantes, e os estudos indicam que os consumidores dão igual peso para atributos de saúde e sensoriais no momento da escolha dos produtos alimentícios (CODRON et al., 2005).

O cientista russo Elie Metchnikoff, em 1907, foi o primeiro a chamar atenção para a importância da microbiota intestinal na saúde humana. Ele sugeriu que o consumo de alimentos como iogurtes, kefir, e “leite de soja”, que contêm bactérias lácticas (BAL), estaria associado à boa saúde e à longevidade (CORRÊA, 2006). No entanto, as pesquisas com alimentos funcionais só tiveram início na década de 80 no Japão. Em 1991, surgiu no Japão a primeira definição de alimentos funcionais, de acordo com o sistema “Alimento Destinado a Uso Específico de Saúde” (Food for Specific Health Use – FOSHU) (ARAI et al., 2001).

Atualmente, não há uma definição universal a cerca da categoria de alimentos funcionais. Várias definições foram propostas por diversas organizações em diversos países como Estados Unidos, Canadá, Japão e países da União Europeia (AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION, 2009).

Segundo a *European Commission’s Concerted Action on Functional Food Science in Europe* (FuFoSE), coordenado pela *International Life Science Institute* (ILSI) na Europa e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária no Brasil (ANVISA), um alimento só pode ser considerado funcional se, além da função nutricional básica, apresente efeitos benéficos sobre uma ou mais funções do organismo humano (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008; SIRÓ et al, 2008).

Os alimentos funcionais são dotados de benefícios fisiológicos específicos que os diferenciam dos alimentos tradicionais. A funcionalidade desta categoria de alimentos é derivada dos compostos bioativos neles presentes. Entre os compostos mencionados, destacam-se os ácidos graxos  $\omega$ -3, os carotenoides, as fibras alimentares, os fitosteróis, os poliois, os probióticos e a proteína de soja, entre outros. Adicionalmente, a referida funcionalidade é influenciada por vários fatores tecnológicos, como processo de desidratação e tratamento térmico, dose diária de consumo, matrix alimentícia, estabilidade, fermentação, entre outros (ARVANITTOYANNIS & HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008).

Os compostos bioativos presentes nos alimentos funcionais podem, por exemplo, ajudar na prevenção de doenças crônicas ou a melhoria do desempenho e do bem estar do indivíduo, além da sua função nutricional básica (ARVANITTOYANNIS & HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, 2005).

O desenvolvimento de alimentos funcionais e produtos bioativos inovadores podem exigir uma mudança de paradigma no processo de desenvolvimento de produtos alimentícios (KHAN et al., 2013). Atualmente, pesquisas nas indústrias de alimentos têm priorizado o desenvolvimento de alimentos que podem promover a saúde e o bem-estar (RODRIGUES et al., 2011).

Novos produtos alimentícios geralmente são variações de produtos existentes comercializados para mercados já estabelecidos. No entanto, os alimentos funcionais, com efeitos benéficos a saúde cientificamente comprovados diferem da maioria dos outros produtos alimentares (MARK-HERBERT, 2004). Novas tendências de consumo de “Saúde e Bem-Estar” estão recebendo grande foco das principais empresas alimentícias multinacionais, como a Nestlé, Grupo Danone, Unilever, Heinz e *Kraft Foods* (KHAH et al., 2013).

Em sua revisão KHAH et al. (2013) relataram que esse novo segmento de mercado global, chamado de “Saúde e Bem-Estar”, atingiu um valor de US\$ 625 bilhões em 2012. Nesse segmento, foram incorporados alimentos fortificados e/ou funcionais, mas também incluídos alimentos orgânicos, alimentos para pessoas com intolerâncias alimentares, vitaminas e

suplementos dietéticos, produtos para emagrecer e nutrição esportiva. Devido à grande demanda por alimentos com atributos de saúde e bem-estar, houve um crescimento mais rápido deste setor, atingindo uma taxa de crescimento anual de 8,6% entre os anos de 2010 a 2012.

No setor lácteo, os alimentos funcionais já são uma realidade e muitas empresas de alimentos desenvolvem suas linhas de produtos tendo a promoção da saúde como principal objetivo (CICHOSKI et al., 2008).

## 1.2. Probióticos, Prebióticos e Simbióticos

A utilização de micro-organismos para a conservação de alimentos é prática que remete a 7000 a.C. (VASILJEVIC & SHAH, 2008). Os seres humanos vêm consumindo alimentos fermentados por bactérias lácticas durante séculos, sem qualquer conhecimento dos componentes ativos ou de como eles funcionam (KOLIDA & GIBSON, 2011).

FULLER (1989) foi o primeiro a definir probióticos como sendo suplementos alimentares à base de micro-organismos vivos, que proporcionam benefícios à saúde do hospedeiro, promovendo o equilíbrio de sua microbiota intestinal. Atualmente, os probióticos são considerados micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefício à saúde do hospedeiro (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Os micro-organismos probióticos mais estudados e amplamente empregados na indústria pertencem ao grupo das bactérias lácticas, principalmente do gênero *Lactobacillus*, e do gênero *Bifidobacterium* (SAAD; BEDANI; MAMIZUKA, 2011). Algumas cepas de outros gêneros, como *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* e *Escherichia* também podem ser consideradas probióticas (SHAN, 2007; SAAD; BEDANI; MAMIZUKA, 2011).

Diversos benefícios têm sido atribuídos ao consumo regular de produtos contendo bactérias probióticas. Muitos estudos vêm sendo conduzidos para melhor caracterizar os efeitos desses micro-organismos sobre a saúde do hospedeiro. Dentre os benefícios evidenciados cientificamente, estão o efeito protetor contra certos patógenos, a ação imunomoduladora e a melhoria nas funções relacionadas ao trato gastrointestinal e respiratório (PINEIRO &

STANTON, 2007; MATHARA et al., 2008). Podem, ainda, ter efeito significativo na melhoria dos sintomas de diarreia associados à infecção do trato gastrointestinal em crianças (MATHARA et al., 2008), na redução do risco de infecções por rota vírus e enterocolites (ARVANITTOYANNIS & HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLU, 2005), na redução do risco de câncer do cólon (SIVIERI et al., 2008; 2013) e de doenças do sistema cardiovascular (ROSSI et al., 1999; 2003).

A manutenção da viabilidade de bactérias probióticas na matriz alimentícia é pré-requisito para garantir o seu efeito sobre a saúde do hospedeiro (ZACARIAS et al., 2011). No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária preconiza que uma porção diária de bebida ou alimento pronto para o consumo apresente entre  $10^8$  e  $10^9$  unidades formadoras de colônias (UFC) do probiótico utilizado (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008).

Uma vez que a viabilidade e atividade dos micro-organismos probióticos são necessárias na região inferior do aparelho digestório, esses micro-organismos devem suportar as condições adversas encontradas no estômago e duodeno do hospedeiro, isso é, resistir a baixos valores de pH e ao suco gástrico, pancreatina e bile (DING & SHAN, 2007; CRUZ et al., 2011).

De acordo com a FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION (2006), micro-organismos probióticos devem ser capazes, não só de sobreviver à passagem através do trato gastrointestinal, mas também devem ter a capacidade de se multiplicar no intestino. Isso significa que eles devem ser resistentes ao suco gástrico e capazes de se multiplicar na presença de bile e outras condições adversas do intestino, como pH, disponibilidade de nutrientes, competitividade com a microbiota residente e/ou, ainda, serem veiculados em alimentos que os protejam durante a passagem pelo estômago e a exposição à bile.

De fato, se uma cepa probiótica veiculada em um alimento não sobreviver ao processo digestivo em níveis suficientemente elevados, essa pode ter sua funcionalidade comprometida (MADUREIRA et al., 2011). No entanto, em relação à ação imunomoduladora, estudos vêm demonstrando que os probióticos podem regular a resposta imune, a partir de uma complexa interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e diferentes componentes bacterianos, incluindo o DNA cromossômico, componentes da parede celular e



metabólitos solúveis, independentemente da viabilidade desses micro-organismos após a passagem pelo TGI (MADSEN et al., 2001; MENAR et al., 2004; RACHIMILEWITZ et al., 2004; HOARAU et al., 2006).

Para o uso em alimentos, os micro-organismos probióticos devem resistir ao processamento, ao período de maturação e vida de prateleira do produto. Conseqüentemente, a tecnologia empregada deve favorecer a sobrevivência de populações de bactérias para que se mantenham viáveis e em quantidades adequadas (ZACARÍAS et al., 2011).

O teor de gordura, a concentração e o tipo de proteínas e carboidratos, bem como propriedades físico-químicas como pH, atividade de água ( $A_w$ ) e acidez do produto são alguns dos fatores que podem afetar o crescimento e a sobrevivência do probiótico no alimento (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). A composição da matriz alimentícia utilizada na produção de um alimento probiótico também pode influenciar, de forma significativa, na sobrevivência dos probióticos durante a passagem pelo TGI.

O uso de ingredientes alimentares como prebióticos pode melhorar a sobrevivência e a atividade de bactérias probióticas durante o armazenamento de alimentos probióticos, bem como durante a passagem através do TGI (DONKOR et al., 2007). Além disso, pode ser uma estratégia alternativa para melhorar o equilíbrio da microbiota (PRETER et al., 2011).

O conceito de prebióticos é muito mais recente, quando comparado ao de probióticos. Foi inicialmente descrito em 1995, por Gibson e Roberfroid, como alternativa que possibilitasse superar as questões de sobrevivência dos probióticos durante a distribuição, armazenamento e passagem pelo trato gastrointestinal (KOLIDA & GIBSON, 2011). Os prebióticos são definidos como ingredientes fermentados seletivamente pela microbiota benéfica, permitindo mudanças na composição e/ou atividade na microbiota intestinal e conferindo benefícios ao hospedeiro (GIBSON & ROBERFROID, 2008). Deste modo, prebióticos devem ser capazes de modular a microbiota intestinal, estimulando a produção de componentes benéficos da microbiota, suprimindo ou não afetando bactérias menos desejáveis, tais como bacteroides proteolíticos e clostrídios (MANDALARI et al., 2007).

Por serem carboidratos fermentáveis, os ingredientes prebióticos reduzem o pH do lúmen intestinal, aumentando a ionização de minerais como

cálcio e magnésio, promovendo um aumento da mineralização óssea (PÉREZ-CONESA; LÓPEZ; ROS, 2007).

Devido à dificuldade de caracterização da microbiota intestinal em termos de espécies, praticamente todos os dados sobre as propriedades dos prebióticos referem-se aos gêneros. Pode ser desejável, no entanto, desenvolver prebióticos direcionados a determinadas espécies de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (MANNING & GIBSON, 2004).

Um alimento simbiótico deve conter tanto micro-organismos probióticos como ingredientes prebióticos. Atualmente, a definição de simbiótico inclui duas abordagens: complementaridade e sinergia. Nos produtos simbióticos complementares, o probiótico é escolhido com base nos efeitos benéficos sobre o hospedeiro, independentemente do prebiótico escolhido, para aumentar seletivamente a concentração de micro-organismos benéficos já presentes no trato gastrintestinal. Já nos sinérgicos, o prebiótico é escolhido especificamente para estimular a multiplicação e a atividade do probiótico selecionado para a adição no produto, contribuindo, assim, para a sua sobrevivência no trato gastrintestinal (SU; HENRIKSSON; MITCHELL, 2007; KOLIDA & GIBSON, 2011).

### **1.3. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei* e seu uso como probiótico**

*Lactobacillus* são bactérias microaerófilas, Gram-positivas, não esporuladas, comumente encontradas em diversos ambientes, incluindo produtos lácteos, superfície das mucosas de humanos e outros animais, bem como em plantas e solo (BARRANGOU et al., 2012).

Diversos benefícios à saúde são relacionados à ingestão de *Lactobacillus*, tais como auxiliar na digestão de lactose em indivíduos intolerantes a esse carboidrato, na diminuição do colesterol sanguíneo, na absorção de cálcio, na constipação intestinal e na redução da diarreia infantil. Os *Lactobacillus* também podem atuar contra infecções intestinais, evitar a diarreia do viajante e ajudar a aliviar a síndrome do intestino irritável (*Irritable bowel syndrome*-IBS) (MANNING & GIBSON, 2004; DESAI, SHAH, POWELL, 2006, TRAUTVETTER et al., 2012).

Dentre as bactérias lácticas do gênero *Lactobacillus*, o grupo *Lactobacillus casei* é fenotipicamente e geneticamente heterogêneo. Destacam-se nesse grupo os lactobacilos presentes naturalmente na microbiota humana, tais como *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus* (BURITI & SAAD, 2007).

Algumas cepas do grupo *Lactobacillus casei* destacam-se na melhoria de características sensoriais de certos tipos de queijos. Outras produzem agentes antimicrobianos, tais como bacteriocinas, auxiliando na biopreservação de produtos fermentados. Paralelamente, ao serem usadas em cocultura, algumas cepas favorecem a viabilidade de outros probióticos, tais como *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* spp. (VINDEROLA et al., 2000; BURITI et al., 2005; BURITI, CARDARELLI, SAAD, 2007; AGUIRRE-EZKAURIATAZA et al., 2010).

Com relação ao efeito bioconservante, BURITI, CARDARELLI e SAAD (2007) verificaram que *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 em cocultura com *Streptococcus thermophilus* contribuíram para a bioconservação de queijos frescos cremosos probióticos e simbióticos, tendo sido efetivo na inibição de contaminantes, incluindo coliformes totais, *Staphylococcus* spp. e *Staphylococcus* DNase positiva.

Já com relação aos possíveis benefícios à saúde, cepas do grupo *Lactobacillus casei* podem atuar na redução do risco de diarreias, redução do risco de câncer e redução de atividades enzimáticas potencialmente nocivas. Podem, ainda, exercer efeito protetor contra micro-organismos patogênicos e efeitos antimutagênicos, além de influenciar positivamente nos níveis de colesterol e açúcar no sangue e modular o sistema imunológico (BURITI & SAAD, 2007; PAINEAU et al., 2008).

Estudos com *Lactobacillus paracasei* demonstraram efeitos modulatórios do sistema imune em adultos saudáveis, além do aumento das populações de lactobacilos no intestino dos indivíduos que participaram do estudo (JAHREIS et al., 2002). Em estudo com camundongos, TSAI et al. (2008) verificaram os efeitos de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 na imunomodulação. Os autores observaram aumento da resposta imune, além do aumento nas populações de bifidobactéria e lactobacilos e redução de *Clostridium perfringens* nas fezes dos animais.

Outros estudos demonstraram que o uso de alimentos contendo cepas do grupo *L. casei* reduziu os índices de diarreia em crianças, aumentou o percentual de *Lactobacillus* nas fezes de idosos, com redução de *Clostridium* e outros gêneros de bactérias que podem causar distúrbios gastrintestinais, confirmando, assim, mudanças na microbiota intestinal (SARKER et al., 2005; ROCHET et al., 2006).

Bactérias do grupo *L. casei* foram usadas na alimentação de crianças, resultando no aumento de *Lactobacillus* em suas fezes e na redução significativa da atividade enzimática potencialmente nociva da  $\alpha$ -glicuronidase e da  $\alpha$ -glicosidade, enzimas envolvidas na circulação enteropática de substâncias tóxicas e carcinogênicas (GUÉRIN-DANAN et al., 1998).

SULLIVAN, PALMGRE e NORD (2001) observaram um aumento significativo na população de *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19 e de outros lactobacilos nas fezes de idosos soro-positivo para *Helicobacter pylori*. Tal efeito ocorreu nos indivíduos que receberam leite fermentado com *L. paracasei* F19 ( $3,5 \times 10^8$  UFC/mL) e 2% de inulina, 150 mL duas vezes ao dia por 12 semanas, quando comparado ao grupo controle (que também recebeu leite fermentado pelo mesmo período, mas sem a adição de *L. paracasei* F19 e inulina). Mesmo com o aumento da população de *Lactobacillus*, não foi observado efeito sobre a população de *Helicobacter pylori*.

*Lactobacillus paracasei* LPC-37 é uma cepa comercial, a qual foi isolada de produtos lácteos e é reconhecidamente probiótica (DANISCO, 2010). Estudos vêm demonstrando o seu potencial tecnológico em produtos lácteos como queijo suíço (ALJEWICZ et al., 2009), queijo cremoso sabor tomate seco (SANTINI et al., 2012) e iogurte com baixo teor de gordura adicionado de inulina e polidextrose (SRISUVOR et al., 2013), bem como em produtos não lácteos, como suco de frutas enriquecido de vitaminas e antioxidantes (SHAH et al., 2010). Estudos também atribuem benefícios à saúde a essa cepa, como o aumento da resposta imune (PAINEAU et al., 2008) e redução da desordens intestinais causadas pelo uso de antibióticos (ENGELBREKTSON et al., 2009), além da redução dos níveis de colesterol total e LDL-colesterol sanguíneo e aumento da absorção de cálcio no intestino humano (TRAUTVETTER et al., 2012).

#### 1.4. Frutanos: Inulina e fruto-oligossacarídeos

Frutanos são oligossacarídeos e polissacarídeos à base de frutose, presentes em muitas espécies de plantas superiores como carboidrato de reserva, assim como o amido e a sacarose. Ocorrem naturalmente em vegetais comestíveis como cebola e alho poró. No entanto, a principal fonte desses frutanos empregada na indústria de alimentos é a raiz da chicória (SAAD, 2006).

Os frutanos consistem em polímeros lineares de  $\beta$ -D-frutofuranosil, com diferentes graus de polimerização (2 a 60 unidades), geralmente terminadas em uma extremidade redutora ligada a uma unidade de sacarose. A organização da estrutura de todos os frutanos conhecidos tem ligações lineares  $\beta$ -D-frutafuranosídeos (2,1) ou (2,6), com um resíduo de glicose no interior ou na extremidade da cadeia (CÉRANTOLA et al., 2004).

Dentre os frutanos mais estudados estão as inulinas e as oligofrutoses (FOS), considerados ingredientes funcionais, uma vez que exercem influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em efeitos benéficos à saúde, bem como redução do risco de diversas doenças (SAAD, 2006; GONZÁLES-TOMÁS, BAYARRI, COSTELL, 2009).

Os frutano do tipo inulina são solúveis e fermentáveis pela microbiota intestinal. Como não são digeridos pela  $\alpha$ -amilase e por enzimas hidrolíticas, como a sacarase, a maltase e a isomaltase, na parte superior do trato gastrointestinal humano, alcançam o cólon e podem ser fermentados pela microbiota residente (ALLES et al., 1999; CARDARELLI, 2006; SAAD, 2006, ROCHA et al., 2006, BEMILLER & HUBER, 2010).

Alguns dos efeitos das inulinas sobre a saúde incluem a modulação da fermentação microbiana, redução da absorção de gordura e colesterol, assim, como a redução do pH intestinal que, conseqüentemente, pode exercer um efeito direto na redução dos distúrbios intestinais, constipação, hiperglicemia, hiperlipidêmica e câncer intestinal (ROBERFROID, 2007).

Os efeitos da inulina e da oligofrutose sobre a microbiota humana têm sido amplamente estudados *in vitro* e *in vivo* e a maioria dos estudos demonstra o estímulo da fermentação seletiva pela microbiota intestinal, principalmente as bifidobactérias e os lactobacilos (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002).

RAMIREZ-FARIAS et al, (2009) observaram que, ao suplementarem a dieta com uma mistura de inulina e FOS (10 g/dia), ocorreu um aumento no número de bifidobactérias, principalmente da espécie *Bifidobacterium adolescentis*, além de *Faecalibacterium prausnitzii*, sendo essa última relacionada com atividade anti-inflamatória em pacientes com doença de Crohn (SOKOL et al, 2008). Já TANNOCK et al, (2004), ao estudarem a suplementação da dieta com biscoitos contendo em sua formulação FOS verificaram o aumento nas populações de bifidobactéria e *Collinsella aerofaciens*.

Em relação à sua funcionalidade tecnológica, RODRIGUES et al. (2011) estudaram os efeitos da adição de inulina e FOS sobre as características de coalhadas dessoradas e a viabilidade dos probióticos. Observaram que a adição desses ingredientes prebióticos melhorou as características da coalhada e não provocou mudanças significativas na viabilidade dos probióticos, que se mantiveram em populações superiores a  $10^8$  UFC/g, sendo, assim, uma nova opção tecnológica para produtos lácteos funcionais.

Os efeitos prebióticos da inulina dependem de numerosos fatores e, em particular, da composição da microbiota intestinal de cada indivíduo. O consumo mínimo de 5 g/dia ou 3 g/porção de alimento, para aumentar a proporção de bifidobactérias na microbiota intestinal, é considerado suficiente, embora a maioria dos estudos realizados *in vivo* tenha utilizado valores diários maiores (GONZÁLEZ-TOMÁS, BAYARRI, COSTELL, 2009; RODRIGUES et al., 2011).

### **1.5. Queijos como veículo de probióticos.**

A legislação brasileira define queijo como “o produto fresco ou maturado obtido por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, 1996).

A fase essencial na produção de todas as variedades de queijos envolve a coagulação das caseínas do leite. Nessa fase as micelas de caseínas formam um gel, que engloba a gordura presente. A coagulação pode ser realizada pela proteólise limitada promovida por certas proteinases (coagulação enzimática), pela acidificação até pH 4,6 (ponto isoelétrico da caseína), que pode ocorrer pela ação de culturas *starter*, microbiota endógenas do leite ou adição de ácidos orgânicos até o ponto isoelétrico da caseína (coagulação ácida). Adicionalmente, pode ocorrer através de uma coagulação mista, a qual envolve os dois métodos de coagulação, enzimática e ácida, com a combinação ou não de altas temperaturas – aproximadamente 90°C (FOX et al., 2000; SANTOS et al., 2010a).

O queijo *Quark* ou *Quarg* é um queijo originário do leste e centro da Europa, o qual é obtido pela coagulação ácida de leite bovino integral ou desnatado por adição de cultura *starter* mesófila e coalho. É um produto lácteo de cor amarelada, homogêneo, de corpo elástico e com propriedades sensoriais suaves, sendo ligeiramente ácido. Tradicionalmente, quando o pH atinge 4,6, forma-se uma coalhada ácida que é, então, separada do soro, por drenagem em saco de tecido de algodão ou por centrifugação. A massa assim obtida pode ser utilizada como ingrediente para o desenvolvimento de outros queijos, como o queijo *petit-suisse* (SCHULZ-COLLINS & SENGE, 2004; CARDARELLI et al., 2008b).

O queijo *petit-suisse*, desenvolvido por Charles Chervais, em 1850, é produzido com leite desnatado e adicionado de creme, juntamente com açúcar e frutas. É um queijo de consistência cremosa e sua massa-base (queijo *quark*) é obtida pelo processo de coagulação mista. No Brasil, o produto é consumido como sobremesa e dirigido principalmente ao público infantil. Apresenta boa aceitação e público consumidor crescente, embora tais índices ainda sejam pequenos, quando comparados aos de outros países (VEIGA & VIOTTO, 2001; MARUYAMA et al., 2006; CARDARELLI et al., 2008b).

MARUYAMA et al. (2006) e CARDARELLI et al. (2007, 2008b) estudaram o queijo *petit-suisse* com adição de probióticos *L. acidophilus* e *B. animalis* subsp. *lactis* com diferentes concentrações de gomas e ingredientes prebióticos. PEREIRA et al., (2010) e RIBEIRO et al. (2012) estudaram o efeito dos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* adicionados em co-

cultura e individualmente sobre as características sensoriais de queijo *petit-suisse*. Os autores observaram que esse tipo de queijo cremoso contém uma matriz alimentícia que pode ser utilizada como veículo para essas bactérias probióticas, apresentando boa aceitabilidade sensorial, textura e sabor agradáveis, bem como características físico-químicas estáveis até o fim do seu período de armazenamento.

Queijos frescos e alguns queijos maturados possuem diversas características que podem auxiliar na veiculação de micro-organismos probióticos. Dentre essas características, pode-se destacar o pH mais elevado em comparação aos leites fermentados, matriz sólida mais consistente com concentração relativamente alta de gordura e sua alta atividade de água. Essas características podem auxiliar na manutenção da viabilidade dos probióticos durante o período de armazenamento e durante a passagem pelo trato gastrintestinal humano (CICHOSKI et al., 2008; VINDEROLA et al., 2009; CRUZ et al., 2011).

## **1.6. Leite e produtos lácteos caprinos**

O leite de cabra e seus derivados, como iogurtes e queijos, são muito valorizados devido ao seu alto valor nutricional. Tem sido indicado para crianças e idosos que apresentam reações alérgicas ao leite de vaca ou outras doenças gastrintestinais, uma vez que apresenta alta proporção de glóbulos de gordura pequenos (<5 µm), proporcionando uma maior digestibilidade, além de maior porcentagem de ácidos graxos de cadeia curta e média (ALFÉREZ et al., 2001; BARRIONUEVO et al., 2002; DIMENSTEIN et al., 2010; NOUIRA et al., 2011).

Os ácidos graxos de cadeia curta e média encontrados no leite de cabra podem auxiliar no tratamento de uma variedade de desordens clínicas e na recuperação de crianças prematuras ou subnutridas. Esse efeito pode ser atribuído à sua maior digestibilidade e absorção seletiva e, ainda, à sua possível utilização no fornecimento direto de energia, especialmente para crianças, podendo ser depositada como gordura no tecido adiposo. Tem havido um interesse particular no ácido butírico (C<sub>4:0</sub>), devido ao seu efeito benéfico sobre a saúde, especialmente na regulação do crescimento celular (SANZ SAMPELAYO et al., 2007).



Outros ácidos graxos de grande importância são os isômeros do ácido linoléico, denominados ácido linoléico conjugado (CLA). Estão presentes na carne, no leite e nos derivados lácteos caprinos e bovinos. Esses ácidos graxos estão relacionados com benefícios à saúde e redução do risco de doenças. O isômero *cis-9, trans-11* encontra-se em maior concentração no leite de ruminantes. Estudos com esse isômetro vêm demonstrando benefícios à saúde, como propriedades anticarcinogênica e antiteratogênicos em animais experimentais (SANTOS et al., 2012).

O leite caprino apresenta, ainda, a vantagem do teor reduzido de  $\alpha$ -S<sub>1</sub>-caseína, favorecendo a formação de coágulos finos, com consequente melhoria na absorção, tolerância e digestão dos produtos lácteos caprinos. Contribui, assim, com o incremento da ingestão láctea e, conseqüentemente, dos nutrientes contidos no leite e derivados (DIAS, 2009; DIMENSTEIN et al., 2010; BENEVIDES, 2011).

Rico em cálcio, potássio, magnésio, fósforo, cloro, manganês, vitamina A, vitaminas do complexo B (em especial a niacina), vitamina D, ácido nicotínico, colina, inositol, dentre outros nutrientes, o leite de cabra destaca-se ao ser comparado ao leite bovino, por apresentar esses componentes em maior quantidade (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2008; ALBUQUERQUE, 2009).

Essas características do leite de cabra são importantes e motivam pesquisas para avaliação da composição nutricional desse produto. No Brasil, as pesquisas ainda são insuficientes, tornando-se necessário, portanto, o desenvolvimento projetos que possibilitem elucidar sua composição e sua ação sobre a saúde (QUEIROGA & COSTA, 2004).

O leite de cabra vem conquistando mercado, principalmente no Nordeste, tanto na forma de leite pasteurizado e congelado como de derivados. Entretanto, apesar do crescimento da produção, o mercado atual é ainda pequeno, apesar do potencial de mercado ser grande (BENEVIDES & EGITO, 2007).

Efeitos benéficos à saúde são associados ao consumo de produtos lácteos e leite de cabra, além, do seu valor nutricional. Produtos lácteos também podem ser utilizados como veículos para outros ingredientes funcionais, tais como fitoesteróis, ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa (como ácidos

graxos ômega-3) e vários tipos de bactérias probióticas (SILANIKOVE et al., 2010).

Vários estudos têm demonstrado que queijos de cabra são matrizes promissoras para veiculação de micro-organismos probióticos.

Em estudos desenvolvidos em Portugal com queijo de cabra semi-duro, GOMES e MALCATA (1998) observaram que o uso de *Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus acidophilus* não alterou a textura e resultou em um queijo com características sensoriais agradáveis. As bactérias probióticas adicionadas se mantiveram viáveis em populações superiores a  $3 \times 10^7$  UFC/g para *B. lactis* e  $7 \times 10^6$  UFC/g para o *L. acidophilus*, no produto final.

Trabalhos realizados pelo grupo de pesquisa da Embrapa Caprinos e Ovinos avaliaram a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e a influência da estratégia para aumento do CLA em queijos tipo coalho natural caprino e obtiveram populações superiores a 7,5 log UFC/g, durante um período de 60 dias de armazenamento sob refrigeração. Os autores concluíram que esse tipo de queijo constitui um ótimo veículo para *L. acidophilus* e que o aumento de CLA nos queijos não influenciou na viabilidade do probiótico estudado (SANTOS et al., 2012).

VIEIRA et al. (2009, 2011), estudaram a viabilidade e a sobrevivência de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 veiculadas em queijos Minas frescal de cabra frente a condições gastrintestinal simuladas *in vitro* e a influência desse probiótico sobre a aceitação sensorial do queijo caprino. Os autores observaram que a viabilidade de *B. animalis* Bb-12 após 28 dias de armazenamento foi de 7,16 log UFC/g. Após 7 dias de armazenamento dos queijos observou-se um decréscimo da população do probiótico de até 4 ciclos log, com uma sobrevivência de 3,47 log UFC/g, ao final de 6 horas de simulação *in vitro* do trato gastrintestinal (TGI). Em relação à aceitabilidade sensorial, o produto obteve médias iguais ou superiores a 7, em uma escala estruturada de 9 pontos. Adicionalmente, foi obtida uma frequência de intenção de compra para “provavelmente compraria” e “certamente compraria” superiores a 60%, concluindo que esse tipo de queijo foi bem aceito sensorialmente.

Em trabalhos com queijos obtidos por coagulação láctica, SANTOS et al. (2009b, 2010a,b) elaboraram queijo caprino cremoso potencialmente probiótico, utilizando cepas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium*

*animalis* Bb-12, isoladas e em co-cultura. Os autores verificaram que esses probióticos sobreviveram ao processamento, mantendo-se viáveis no produto final em concentrações superiores a 7,77 log UFC/g. Os queijos apresentaram valores de acidez superiores a 0,71 mg de ácido láctico/g, valores estes compatíveis com outros queijos frescos, como *petit-suisse* (CARDARELLI et al., 2008b) e queijo cremoso (BURITI, CARDARELLI, SAAD 2007; BURITI et al, 2007) produzidos com leite bovino.

### **1.7. Açaí e suas propriedades funcionais**

O açaí, fruto do açazeiro (*Euterpe oleracea* Martius), destaca-se por ser o fruto de uma das palmeiras mais produtivas do Estuário Amazônico. A polpa desse fruto tem sido objeto de vários estudos, em função de seu valor nutritivo, sensorial e funcional (NASCIMENTO et al., 2008).

Seu consumo na região Norte do Brasil se faz, em geral, combinado com outros alimentos regionais ou, ainda, na forma de sorvetes, cremes, mingaus, geléias e licores. Por volta da década de 1990, a polpa de açaí começou a ser consumida em outras regiões do país, como uma bebida energética e nutricionalmente completa, misturada a outras frutas, como a banana, adicionada de guaraná em pó e granola. As características do açaí chamaram a atenção internacionalmente, o que fez com que o produto começasse a ser exportado para outros países da América e também da Europa (COHEN et al. 2006; NASCIMENTO et al., 2008).

Em 2009, a W&G Global Trade, estimou que a venda de açaí pelo Brasil chegou a 45 milhões de dólares por ano. Estima-se que o Brasil exporta aproximadamente 1000 toneladas por mês de açaí para os Estados Unidos, Japão, Itália e Holanda, na forma de misturas com outras frutas, como a acerola (*Malpighia emarginata*) e guaraná (*Paullinia cupana*), que combinam, além das propriedades nutricionais do açaí, os altos níveis de vitamina C da acerola e a cafeína do guaraná (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011).

Esse aumento no interesse pelo açaí pode ser atribuído às suas propriedades nutricionais e seu valor calórico, pois trata-se de um alimento rico em ácidos graxos essenciais, proteínas, fibras, minerais, como manganês, cobre, boro, cálcio e cromo e vitaminas A e E. Além disso, o açaí é considerado

um alimento com propriedades funcionais, em virtude de seu grande conteúdo de antocianinas (CARVALHO, 2007; NASCIMENTO et al., 2008; TOTON, BRABET, HUBINGER, 2009; HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011). Adicionalmente, resultados de estudos com animais constataram o efeito do açaí na redução dos níveis de colesterol sanguíneo em ratos (SOUZA et al., 2010) e na modulação da resposta imune, auxiliando no tratamento de doenças como a asma e doenças infecciosas em camundongos (HOLDERNESS et al., 2011).

A presença das antocianinas tem aumentado o destaque dado ao açaí, não apenas por suas propriedades funcionais, mas também pelo fato desta fruta ser considerada uma importante fonte de pigmentos naturais, podendo contribuir para a redução do uso de pigmentos sintéticos em alimentos (TOTON; BRABET; HUBINGER, 2009).

As antocianinas são flavonoides, ou seja, compostos que possuem o núcleo flavano como estrutura básica e caracterizam-se por serem hidrossolúveis. São responsáveis pela coloração vermelha, azul, violeta e rosa de frutas como o açaí, hortaliças e flores. Possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, quimioprotetora e vasoprotetora e podem auxiliar na redução de colesterol (LINER, 2005 apud ALMEIDA et al., 2008). O açaí possui uma alta concentração destes flavonoides, podendo chegar a 400 mg/100 g de polpa (ALMEIDA et al., 2008; CRUZ, 2008).

Várias pesquisas têm demonstrado o potencial funcional e desenvolvimento de novos alimentos funcionais probióticos a base de açaí. VASCONCELOS (2010) desenvolveu mix de açaí probiótico e simbiótico com adição de *L. acidophilus* LA-5 e *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e inulina e observou que, durante o período de armazenamento, os probióticos apresentaram sobrevivência satisfatória e a adição de inulina nos mix de açaí prebióticos e simbióticos contribuiu para uma maior aceitabilidade sensorial do produto. Desta forma, o produto apresentou-se como uma boa matriz para veiculação dos micro-organismos probióticos testados, além de terem suas características sensoriais melhoradas devido a adição dos ingredientes prebióticos.

Em pesquisas com produtos lácteos funcionais combinados com açaí, ALMEIDA et al. (2008) compararam iogurtes contendo polpa de açaí em relação ao controle e observaram um aumento nas populações de *Lactobacillus*

*acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* entre um e dois ciclos logarítmicos, respectivamente, durante a vida de prateleira do iogurte probiótico. Observaram, também, uma maior estabilidade do pH e da acidez, atribuído às propriedades tamponantes dos minerais e ao efeito antioxidante das antocianinas presentes na polpa de açaí. Os autores concluíram que iogurte contendo polpa de açaí pode ser utilizado como um ótimo veículo de bactérias probióticas.

Dando sequência aos trabalhos com iogurte probiótico com polpa de açaí, ALMEIDA et al. (2009) avaliaram a aceitação sensorial dos iogurtes probióticos com diferentes concentrações de polpa de açaí, obtendo uma boa aceitação sensorial, principalmente para os iogurtes com maiores concentrações de polpa, sendo de grande importância para essa aceitabilidade os atributos aroma e cor.

### **1.8. Justificativa para o desenvolvimento do presente estudo.**

Os derivados de leite de cabra, em especial os queijos, além conservarem as características nutricionais da matéria prima, podem ser utilizados como base para a incorporação de outros ingredientes com potencial funcional, como os micro-organismos probióticos e as fibras prebióticas. Desta forma, pode-se obter produtos simbióticos, que agreguem os efeitos benéficos dos probióticos ao estímulo seletivo das bactérias benéficas do cólon. Estudos realizados com queijos frescos adicionados de polpa de frutas, como o queijo *petit-suisse*, mostraram que esses produtos são ótimos veículos para probióticos, em combinação com prebióticos e alcançam elevada aceitação entre consumidores potenciais (MARUYAMA et al., 2006; CARDARELLI et al, 2007, 2008b; PEREIRA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012).

O uso da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius), fruto de alto valor energético e funcional, devido ao teor de antocianinas e ácidos graxos essenciais, pode aumentar a funcionalidade de produtos probióticos, além de exercer um efeito protetor e de manutenção sobre os micro-organismos probióticos presentes.

Modelos de simulação do trato gastrointestinal *in vitro* são ferramentas importantes no desenvolvimento de novos produtos probióticos, pois simulam as

condições adversas que os probióticos encontrarão durante o processo digestivo *in vivo* e permitem verificar se a matriz alimentícia exerce algum efeito protetor sobre o probiótico veiculado. A viabilidade das bactérias probióticas na matriz alimentícia é um pré-requisito para garantir o seu efeito sobre a saúde dos hospedeiros. Além disso, os micro-organismos devem resistir ao baixo pH, suco gástrico, pancreatina e à bile, com a finalidade de chegarem viáveis em seus sítios de ação na porção inferior do trato gastrintestinal.

Diante disso, o desenvolvimento de um queijo *petit-suisse* à base de leite de cabra e adicionado de polpa de açaí, probióticos e prebióticos, pode resultar em um novo produto lácteo funcional, com grande potencial de aceitação pelo público de diversas idades e classes sociais. Nesse sentido, pode impulsionar o desenvolvimento da cadeia produtiva da caprinocultura leiteira, pela agregação de valor ao leite de cabra, e a atividade de extração de açaí, contribuindo para o desenvolvimento das regiões de sua produção.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

- Desenvolver um queijo *petit-suisse* simbiótico a partir de leite de cabra e polpa de açaí, com adição da cultura probiótica *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e dos ingredientes prebióticos inulina e fruto-oligossacarídeos (FOS).

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a viabilidade do probiótico *L. paracasei* LPC-37 e da cultura *starter Streptococcus thermophilus* nos queijos *petit-suisse*, ao longo do armazenamento refrigerado ( $4 \pm 1$  °C) por até 28 dias;
- Avaliar a resistência do probiótico incorporado na matriz dos queijos *petit-suisse* e como cultura fresca (controle) frente às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro* e avaliar os efeitos da matriz alimentícia e da adição de inulina e FOS sobre essa resistência;

- Avaliar o comportamento da firmeza instrumental e dos demais parâmetros físico-químicos e microbiológicos, ao longo do período de armazenamento dos queijos;
- Avaliar a capacidade de fermentação dos ingredientes prebióticos, frente a outros carboidratos, e da utilização da polpa de açaí pela cepa probiótica *L. paracasei* LPC-37;
- Verificar a aceitabilidade sensorial dos produtos por consumidores de duas localidades brasileiras distintas (Sobral/CE e São Paulo/SP);
- Comparar os queijos *petit-suisse* de açaí simbióticos produzidos a partir de leite de cabra com o similar produzido a partir de leite de vaca quanto aos parâmetros anteriormente citados.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por *Lactobacillus paracasei* LPC-37. Avaliação do efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37.

##### 3.1.1. Avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por *Lactobacillus paracasei* LPC-37

A avaliação da capacidade de utilização dos ingredientes prebióticos inulina e FOS (frutanos), em comparação a outras fontes de carboidratos, por parte da cepa probiótica de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (Danisco), utilizada na produção dos queijos em estudo, foi conduzida com a aplicação de modelo *in vitro* adaptado de RYU et al. (2007) e WATSON et al. (2012).

O perfil de carboidratos utilizado nesse estudo foi escolhido de acordo com os possíveis carboidratos presentes nas formulações dos queijos *petit-suisse*.

Previamente à realização dos ensaios, a cepa de *L. paracasei* LPC-37 foi ativada, através de semeadura de 20 mg da cultura probiótica liofilizada em 10 mL de caldo DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS, Oxoid), com incubação a 37°C por 24 horas, em aerobiose.

A utilização dos ingredientes prebióticos inulina HP (Orafti, grau de pureza 100%), inulina GR (Orafti, grau de pureza 92%, com 8% de sacarose,

glicose e frutose) e FOS P95 (Orafti, grau de pureza 95%, com 5% de sacarose, glicose e frutose), por parte da cultura probiótica, foi avaliada utilizando-se um caldo MRS modificado (Anexo 6), com a substituição da glicose pela fonte de carboidrato cuja utilização foi testada.

Alíquotas de 4,5 mL do caldo MRS modificado foram transferidos para tubos de ensaio e adicionados de 0,5 mL de solução estéril de inulina GR, de inulina HP, FOS P95 (50 mg/mL, em autoclave), de modo a se obter uma concentração de 0,5% dos carboidratos avaliados. Caldos preparados igualmente com soluções estéreis de D-glicose monohidratada (P.A. Cinética) (controle positivo), lactose (para microbiologia, Oxoid), D-sacarose (para microbiologia, Sigma- Aldrich), D-frutose (P.A. Sigma- Aldrich) (50 mg/mL, esterilizados por filtração), assim como um caldo ausente de carboidratos, para efeito de comparação (controle negativo -CN), foram utilizados.

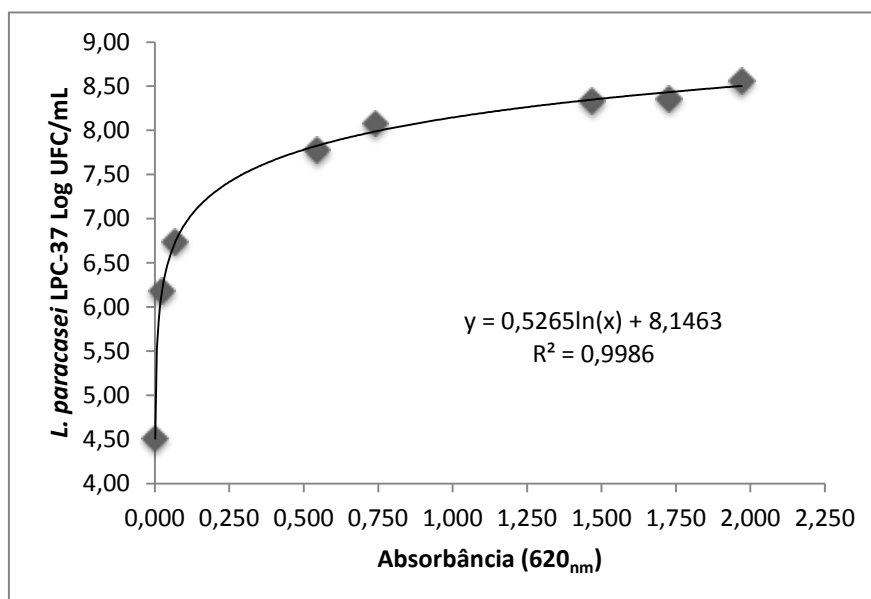
Alíquotas de 0,1 mL do pré-cultivo de *L. paracasei* previamente diluído em água peptonada (5,0 a 6,0 log UFC/mL) foram adicionadas aos caldos MRS modificados adicionados ou não de carboidratos. Após o preparo das amostras, alíquotas de 0,2 mL foram transferidas para placas de microdiluição de 96 poços, as quais foram incubadas a 37°C em espectrofotômetro leitor de microplacas (Multiskan FC modelo 357, Thermo Scientific), onde foram realizadas leituras a 620 nm, a cada hora, por 48 horas.

Os valores de absorbância em 620 nm ao final da fase de multiplicação exponencial foram convertidos em concentração microbiana (log UFC/mL), utilizando-se a equação fornecida pela curva de crescimento de *L. paracasei* LPC-37.

Para obtenção da curva padrão de crescimento bacteriano, inóculos adicionados de glicose (carboidrato controle) foram incubados por 24 horas a 37°C em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose AnaeroGen™, Oxoid). Antes e após a incubação, foram realizadas leituras da absorbância a 620 nm em espectrofotômetro (Ultrospec® 2000, Pharmacia Biotech) e semeados em ágar MRS acidificado (pH 5,4), com a finalidade de se obter a curva de crescimento e a equação representativa de suas concentrações (log UFC/mL), em função da absorbância em 620 nm. A semeadura foi realizada conforme descrito por HERIGSTAD, HAMILTON e HEERSINK (2001), com incubação a 37 °C por 48 horas, em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose AnaeroGen™, Oxoid).



A curva de crescimento obtida é apresentada na Figura 1.



**Figura 1.** Curva de crescimento de *L. paracasei* LPC-37 em caldo MRS modificado (+ glicose)

A equação da curva de crescimento fornecida pelo gráfico para a cepa de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 é apresentada na Equação 1.

$$C = 0,5265 \times \ln(\text{ABS}_{620\text{nm}}) + 8,1463$$

**Equação 1.** Equação da curva de crescimento da cepa de *L. paracasei* LPC-37

Onde: C = concentração em log UFC/mL

As taxas de crescimento máximo ( $\mu$ ) de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 foram calculadas para cada carboidrato, onde o crescimento ótimo (D.O.<sub>620nm</sub> final >0,600) foi obtido, de acordo com a Equação 2 (RADA et al, 2008).

$$\mu = \frac{(\ln X2 - \ln X1)}{(t2 - t1)}$$

**Equação 2.** Taxa de crescimento máximo

Onde: X1 = ABS<sub>620nm</sub> inicial da fase exponencial de crescimento bacteriano;  
 X2 = ABS<sub>620nm</sub> final da fase exponencial de crescimento bacteriano;  
 t1 = tempo (h) inicial da fase exponencial de crescimento bacteriano;  
 t2 = tempo (h) final da fase exponencial de crescimento bacteriano.

### **3.1.2. Avaliação do efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37.**

Na realização do teste, optou-se pela técnica de cultivo em ágar seletivo, uma vez que a técnica espectrofotométrica, inicialmente testada e normalmente utilizada (RYU et al.,2007; WATSON et al., 2012), resultou em uma interferência nas leituras do espectrofotômetro, em virtude da presença de compostos fenólicos e da cor da polpa de açaí.

As amostras foram preparadas conforme descrito anteriormente, no item 3.1.1 com a adição de 0,5 mL de polpa de açaí (Icefruit-Maisa, Icefruit Comércio de Alimentos, Tatuí, Brasil) previamente pasteurizada 95 °C/5 min ao caldo MRS modificado (RYU et al.,2007), assim obtendo uma concentração de 10% (v/v).

A fim de proporcionar as melhores condições de crescimento para o *L. paracasei*, as amostras contendo polpa de açaí foram incubadas a 37±1 °C, em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose AnaeroGen, Oxoid). As amostras antes da incubação (t=0) e após 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 e 48 horas foram coletadas, para a realização das diluições decimais. Em seguida, foi realizada semeadura de 10 µL, em superfície, em ágar MRS acidificado a pH 5,4, conforme descrito por HERIGSTAD, HAMILTON e HEERSINK (2001), com incubação a 37°C por 48 horas, em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose AnaeroGen™, Oxoid).

## **3.2. Fabricação do queijo *petit-suisse* com polpa de açaí**

### **3.2.1. Variáveis empregadas na elaboração dos queijos *petit-suisse* caprinos e ingredientes utilizados na produção da massa-base (queijo *quark*) e dos queijos *petit-suisse*.**

Três formulações de queijo *petit-suisse* produzido com leite de cabra e com polpa de açaí foram testadas, em triplicata, de acordo com as variáveis apresentadas na Tabela 1.

Para fins de comparação com o queijo *petit-suisse* simbiótico caprino (QCS), foi produzido um quarto queijo com leite de vaca QVS (queijo de leite de vaca simbiótico).

A proporção dos ingredientes empregadas nas quatro formulações dos queijos *petit-suisse* é apresentada na Tabela 2.

**Tabela 1.** Variáveis empregadas na elaboração dos queijos *petit-suisse* caprinos com polpa de açaí estudados.

Queijos caprinos tipo <i>petit-suisse</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i> <sup>2</sup>	Inulina e FOS <sup>3</sup>
QCC <sup>1</sup>	-	-
QCP	+	-
QCS	+	+

1 Controle: elaborado apenas com a cultura; *starter* de *Streptococcus thermophilus* TA040 (Danisco®);

2 Cultura potencialmente probiótica de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (Danisco, Dangé, França);

3 Orafti®GR (Orafti, Oreye, Bélgica) e FOS – Orafti Beneo P95 (Orafti, Oreye, Bélgica).

+ = Adição.

- = Sem adição

**Tabela 2.** Ingredientes empregados nas formulações dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), assim como para o queijo *petit-suisse* simbiótico de leite de vaca (QVS) e suas respectivas proporções.

Ingredientes (g 100g <sup>-1</sup> )	Queijos			
	QCC	QCP	QCS	QVS
1. Massa-base de queijo <i>Quark</i> *	64,28	64,28	57,75	57,75
2. Polpa de açaí <sup>1</sup>	11,06	11,06	10,05	10,05
3. Açúcar cristal <sup>2</sup>	5,05	5,05	4,57	4,57
4. Xarope de guaraná <sup>3</sup>	5,05	5,05	4,57	4,57
5. Creme de leite de cabra (25% de gordura) <sup>4</sup>	14,06	14,06	12,56	12,56
6. Goma Grindsted® Xanthan 80 <sup>5</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1
7. Goma Grindsted® Guar 250 <sup>5</sup>	0,2	0,2	0,2	0,2
8. Goma Grindsted® Carrageenan CY 500 <sup>5</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1
9. Pó para gelados comestíveis sabor açaí <sup>6</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1
10. Inulina <sup>7</sup>	-	-	7,5	7,5
11. FOS <sup>8</sup>	-	-	2,5	2,5

\* Massa-base com a adição da cultura de *L. paracasei* LPC-37 exceto para os queijos QCC

1 Mais Açaí (Mais Açaí, Belém, Pará, Brasil), 2 União (Coopersucar-União, Limeira, Brasil), 3 Naturale (Judith Rocha de Medeiros & Cia, Belém, Pará, Brasil), 4 Creme de leite UHT (Nestlé, cidade, Brasil) para o queijo QVS; 5 Danisco (Danisco, Cotia, Brasil), 6 Selecta® Tropical Açaí (Duas Rodas, Estância, Sergipe, Brasil), 7 Inulina (Orafti®GR, Beneo, Oreye, Bélgica), 8 FOS (Orafti®P95, Beneo); - = sem adição

Para a produção da massa-base caprina, foi empregado o leite de cabra proveniente de um rebanho misto de cabras das raças Sanem e Anglo Nubiana do Centro Tecnológico da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará, Brasil. O leite foi desnatado em centrífuga (modelo 36 GR 225 L/h, Juiz de Fora, Brasil) e submetido à pasteurização lenta (63°C/30 min) na Unidade de Processamento de Leite e Produtos Lácteos do Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Caprinos e Ovinos.

Para a produção da massa-base de leite de vaca, foi utilizado leite desnatado tipo A comercial (Laticínios Xandô, São Paulo, Brasil).

Para a obtenção de ambas as massas-base (de leite de cabra e de vaca) foram empregados cloreto de cálcio (0,25 g/L, P.A. Synth, Diadema, Brasil) e coagulante em pó Ha-la (5 mg/L, Christian Hansen, Valinhos, Brasil).

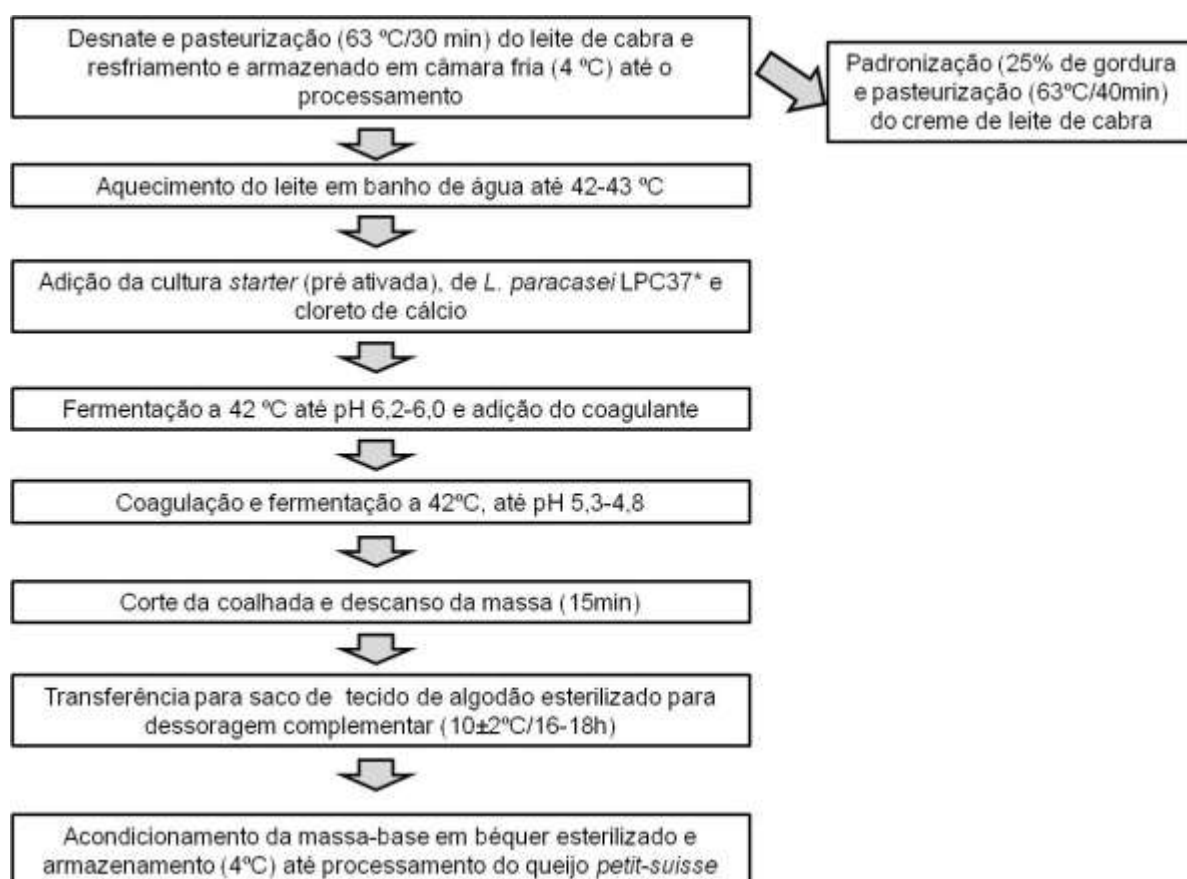
O creme de leite de cabra utilizado na produção dos queijos *petit-suisse* caprinos foi obtido a partir do desnate do leite utilizado nas produções da massa-base. O creme foi processado como descrito por PAULA et al., 2011. O teor de gordura do creme foi corrigido para  $25 \pm 1\%$ , mesmo teor encontrado no creme de leite de vaca comercial.

### **3.2.2. Produção das massas-base e queijos *petit-suisse***

Para a formulação e elaboração da massa-base (queijo *quark*) e, a partir dela, dos queijos *petit-suisse*, os parâmetros de processamento descritos por MARUYAMA et al. (2006) e CARDARELLI et al. (2008b) foram adaptados ao leite de cabra. Foi utilizada a cultura *starter Streptococcus thermophilus* TA040 (Danisco, Dangé, França) para todos os queijos e a cultura probiótica *Lactobacillus paracasei* LPC-37 (Danisco, Dangé, França) para os queijos probióticos e simbióticos. As culturas empregadas eram do tipo DVS (*direct vat set*), liofilizadas, sendo a cultura probiótica adicionada diretamente ao leite e a cultura *starter* pré-ativada (42 °C por 2 horas) em 1% do leite utilizado na produção.

A massa-base foi produzida a partir de um volume médio de 25 litros de leite, aquecido a 42-43 °C e adicionado de cloreto de cálcio, cultura *starter* pré-ativada (100 mg/10 L de leite) e cultura probiótica (2 g/10 L de leite, de modo a obter 8 log UFC/g no produto final), seguido de homogeneização após a adição

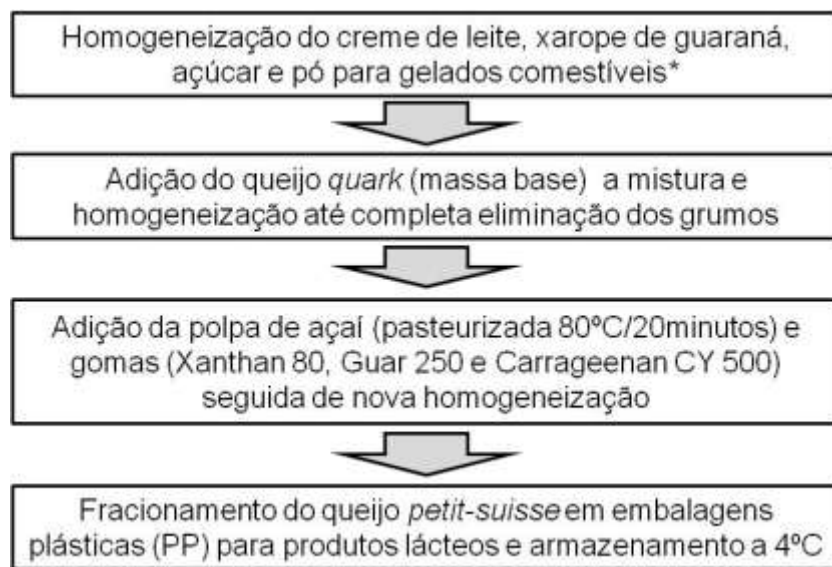
de cada ingrediente. O coagulante foi previamente diluído em 50 mL de água destilada estéril e adicionado ao leite quando este atingiu valores de pH entre 6,0-6,2 seguido de homogeneização. Após a coagulação (pH entre 5,3-4,8), a massa foi cortada com auxílio de liras horizontais e verticais, a fim de se obter cubos de aproximadamente 1,5 cm<sup>3</sup> e mantida em repouso por 15 minutos, para a liberação do soro. Em seguida a coalhada foi transferida para sacos de tecido de algodão esterilizados (121 °C/ 15 min) e foi realizada a dessoragem complementar em geladeira (10 °C ± 2 °C/ 18 horas). Em seguida, a massa-base foi armazenada a 4 °C, por até duas horas, tempo para se dar o início ao processamento dos queijos *petit-suisse* (Figura 2).



**Figura 2.** Processamento da massa-base (queijo *quark*). \* a adição da cultura probiótica para a produção das massas-base utilizadas na produção dos queijos caprino probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) e na massa-base utilizada na produção do queijo simbiótico de leite de vaca (QVS)

A partir de 2,5 kg de massa-base obtidos, os demais ingredientes foram calculados para o processamento do queijo *petit-suisse*, de acordo com as formulações apresentadas na Tabela 2. Foi realizada a mistura do creme de leite, xarope de guaraná e açúcar e pó para gelados comestíveis sabor açaí até

completa homogeneização, sendo em seguida adicionada a massa-base até completa eliminação dos grumos. Para os queijos QCS e QVS também foram adicionados os ingredientes prebióticos inulina GR<sup>®</sup> e FOS P95<sup>®</sup> (Orafti), antes da adição da massa-base. Após a mistura da massa-base aos demais ingredientes, foram adicionados a polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius, Mais Açaí, Belém, Pará, Brasil, previamente pasteurizada 80°C/20 min) e as gomas (Xanthan 80, Guar 250 e Carrageenan CY 500, Danisco, Cotia, Brasil), as quais foram previamente dissolvidas na polpa pasteurizada ainda quente e procedeu-se uma nova homogeneização. Em seguida, o produto foi embalado em potes de polipropileno, próprio para produtos alimentícios (Tries Aditivos Plásticos Ltda., São Paulo, Brasil), com capacidade de 70 g. Os potes foram selados com tampa aluminizada (alumínio + polietileno) em seladora manual (Delgo, Cotia, Brasil). As amostras foram armazenadas a 4±1 °C em refrigerador doméstico (modelo CRB39, Consul, Brasil) por até 28 dias, para a realização das análises (Figura 3). Foram realizadas três repetições de cada formulação de queijo *petit-suisse*.



\* adição de Inulina GR<sup>®</sup> e FOS P95<sup>®</sup> na produção dos queijos QCS e QVS.

**Figura 3.** Processamento do queijo *petit-suisse*, à partir da massa-base de queijo *quark*.

### 3.3. Períodos de amostragem

Foram realizadas amostragens no dia 0 (após o processamento da massa base de queijo *quark*), para as determinações das populações de

*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus paracasei* na massa base de queijo *quark* para cada uma das três repetições de processamento.

Foram realizadas amostragens no dia seguinte à fabricação (dia 1) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) dos queijos *petit-suisse*, para as determinações das populações de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei* e dos contaminantes coliformes e *E. coli*, *Staphylococcus* DNase-positivos e bolores e leveduras e para a determinação da dureza instrumental, dos parâmetros físico-químicos de pH e acidez titulável e da sobrevivência do probiótico frente a condições gastrintestinais simuladas *in vitro*. A investigação da presença de *Salmonella* spp. foi realizada em um único período de amostragem (dia 1), a partir de amostras mantidas congeladas a  $-20^\circ\text{C}$ .

A análise sensorial foi realizada em duas etapas, sendo a primeira etapa realizada em Sobral/CE após 7, 14 e 21 dias de fabricação dos queijos e a segunda etapa realizada em São Paulo/SP após 14 e 21 dias de fabricação, conforme descrito no item 3.10.

A composição centesimal foi determinada em um único período de amostragem (dia 1), a partir da combinação de amostras de duas repetições mantidas congeladas a  $-20^\circ\text{C}$ . A determinação da composição de ácidos graxos foi realizada a partir de amostras de duas repetições (2 lotes) das produções de cada um dos queijos *petit-suisse* colhidas após 1 dia de armazenamento, mantidas congeladas a  $-20^\circ\text{C}$  e posteriormente liofilizadas. A liofilização das amostras foi conduzida em liofilizador de bancada Liotop Modelo L101 (Liobras, São Paulo, Brasil).

### **3.4. Determinação dos parâmetros microbiológicos**

#### **3.4.1. Contagem de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus paracasei* LPC-37**

Para a quantificação das populações de *S. thermophilus* e de *L. paracasei* LPC-37 (LPC-37), porções de 10 g de queijo em triplicata foram homogeneizadas com 90 mL de água peptonada 0,1%, por 150 segundos, utilizando-se um Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando-se o mesmo diluente.

Para a enumeração das populações de *Lactobacillus paracasei*, alíquotas de 1 mL das diluições foram transferidas para placas de Petri estéreis, seguidas de semeadura em profundidade em ágar DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS, Oxoid, Basigstoke, Reino Unido), acidificado a pH 5,4 com ácido acético glacial 3 M. As placas foram incubadas em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid) a 37 °C por 48 horas (BURITI et al., 2005).

A enumeração das populações de *S. thermophilus* foi realizada por semeadura em profundidade em ágar M17 (Oxoid) adicionado de solução de lactose a 10% (m/v) (Oxoid), seguida de incubação em aerobiose a 37 °C, por 48 horas (RICHTER & VEDAMUTHU, 2001).

### **3.4.2. Determinação dos parâmetros microbiológicos sanitários**

Para a determinação de coliformes totais e *E. coli*, *Staphylococcus* DNA-se positivo, bolores e leveduras, alíquotas de 1mL de cada diluição das amostras foram transferidas, respectivamente, para placas de Petrifilm™EC, Petrifilm™ Staph Express e Petrifilm™ YM (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA), com incubação a 35-37°C por 24 horas para os 2 primeiros e a 25°C por 5 dias para o último, de acordo com os métodos AOAC 991.14, AOAC 997.02 e AOAC 2003.08 (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 2003; SILBERNAGEL, JECHOREK, CARVER, 2003).

Para a investigação de *Salmonella* spp., porções de 25 g dos queijos foram retiradas e homogeneizada com 225 mL de água peptonada tamponada 2% (Himedia, Mumbai, Índia) e incubadas a 35-37 °C por 24 horas para a etapa de pré-enriquecimento. Alíquotas de 1 mL e 0,1 mL do caldo de pré-enriquecimento foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Tetrionato - TT e caldo Rappaport-Vassilidis Modificado – RV (Himedia), respectivamente, e incubados a 42 °C (RV) e a 35 °C (TT), por 24 horas, para a etapa de enriquecimento. Alçadas de cada cultura do enriquecimento foram semeadas em placas contendo ágar sulfito de bismuto – BSA, ágar entérico de Hectoen – HE e ágar xilose–lisina-desoxicolato – XLD (Himedia) e incubadas a 35-37 °C por 24 horas. Quando necessário, colônias típicas de *Salmonella* spp. em cada tipo de ágar seletivo foram submetidas a testes bioquímicos e sorológicos de identificação (SILVA et al., 2007).



### **3.5. Sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, como cultura fresca (controle) e incorporada aos queijos, às condições gastrintestinais simuladas *in vitro*.**

#### **3.5.1. Preparação da cultura probiótica fresca utilizada como controle**

A cultura liofilizada de *L. paracasei* LPC-37 (Danisco) foi cultivada em caldo MRS (Oxoid) a 37 °C por 18 h. Decorrido o período de incubação, o inóculo foi centrifugado (centrífuga refrigerada modelo 2-16 PK, Osterode am Harz, Alemanha) a 8.600 x g por 10 minutos a 4 °C e o *pellet* celular resultante foi ressuspenso em solução salina de NaCl 0,85% (m/v) estéril. Essa suspensão de células foi utilizada como controle no ensaio de sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 frente às condições gastrintestinais simuladas *in vitro*. O preparo da cultura fresca foi realizado em triplicata.

#### **3.5.2. Sobrevivência dos probióticos frente às condições gastrintestinais simuladas *in vitro***

A avaliação da sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 como cultura fresca e na matriz alimentícia dos queijos *petit-suisse* de cabra e de vaca submetido a condições gastrintestinais simuladas *in vitro*, foi realizada de acordo com modelo descrito por BURITI, CASTRO e SAAD (2010b), com modificações.

Porções de 10 g do queijo *petit-suisse* foram homogeneizados com 90 mL de solução salina NaCl 0,85% (m/v) (diluição  $10^{-1}$ ), utilizando-se Bag Mixer, conforme descrito no item 3.4.1. Alíquotas de 10 mL das diluições dos queijos *petit-suisse* foram transferidas para frascos estéreis e o pH das soluções foi ajustado entre 2,07-2,72 com solução de HCl 1M (Merck). O mesmo processo foi realizado com a suspensão de células da cultura fresca de *L. paracasei*. Soluções de pepsina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e lipase (Amano Lipase G, Sigma-Aldrich) foram adicionadas, em concentrações suficientes para que as amostras contivessem 3 g/L e 0,9 mg/L, respectivamente. Os frascos foram incubados a 37 °C, em banho de água (Banho Metabólico Dubnoff MA-095, Marconi, Piracicaba, Brasil) com agitação constante de aproximadamente 150 rpm durante 2 horas, correspondente à simulação da fase gástrica (TI). Após 2 horas de incubação, o pH foi ajustado para pH 4,21-5,03, com a adição de

solução alcalina estéril (150 mL de NaOH 1N + 11,16 g PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>Na/L). Foi adicionada de solução de bile (bile bovina) e pancreatina (Sigma-Aldrich), em concentrações suficientes para que as amostras contivessem 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram, novamente, incubadas a 37 °C por 2 horas, o que correspondeu à fase entérica 1 (TII). Ao final da fase entérica 1 (TII), o pH foi ajustado para valores entre 6,12-6,97, com solução alcalina, bile e pancreatina, de forma a se manter as concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram incubadas a 37 °C por mais 2 horas, em agitação constante, que correspondeu à fase entérica 2 (TIII), totalizando, assim, 6 horas de ensaio. A cada fase do teste (0, 2, 4 e 6 horas), amostras foram coletadas e procedeu-se a enumeração das populações de *L. paracasei*, conforme descrito no item 3.4.1.

As taxas de sobrevivência (TS%) da cepa de *L. paracasei* LPC-37 após simulação gástrica (2h-TI) e entérica (6h-TIII) foram calculadas de acordo com a Equação 1, descrita por WANG et al, (2009):

$$\text{Taxa de Sobrevivência (\%)} = \frac{\log UFC N1}{\log UFC N0} \times 100\%$$

**Equação 3.** Taxa de sobrevivência (TS%).

Onde: N1 = valor total das populações de *L. paracasei* após simulação gástrica (2h-TI) e/ou entérica (6h-TIII);  
N0 = valor total das populações de *L. paracasei* no meio de cultura ou nos produtos, antes das simulações gastrintestinais (0h-T0).

### **3.6. Determinação da dureza instrumental**

O atributo dureza (*hardness*) corresponde fisicamente à força máxima necessária para atingir uma determinada deformação e/ou sensorialmente como a força necessária para comprimir uma substância entre a língua e o palato (SZCZESNIAK, 2002). A dureza instrumental dos queijos foi determinada em analisador de textura TA-XT2 (Stable Micro System, Haslemere, Inglaterra). As amostras, contidas nas embalagens (10 amostras de cada queijo em cada período, de acordo com o item 3.3., com peso constante de 50 ± 1 g), foram submetidas a uma única compressão, utilizando-se um “probe” cilíndrico de 36

mm de diâmetro (P36). Os dados foram coletados através do programa “Texture Expert for Windows” (Stable Micro Systems). Foi analisado o atributo dureza. Foram empregados os seguintes parâmetros: amostras de queijo *petit-suisse* com altura e diâmetro de 2 cm e de 6,5 cm, respectivamente, e distância e velocidade de compressão de 10 mm e de 1 mm/s, respectivamente.

### **3.7. Determinação dos parâmetros físico-químicos**

Decorrido os tempos de armazenamento sob refrigeração descritos no item 3.3., a determinação do pH dos queijos *petit-suisse* foi realizada em pHmetro Orion, modelo Three Stars (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA), equipado com eletrodo de penetração modelo 2A04 (Analyser, São Paulo, Brasil) e a determinação da acidez titulável foi realizada de acordo com a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006).

### **3.8. Análise da composição centesimal e cálculo do valor energético total (VET) dos queijos *petit-suisse*.**

A partir de amostras mantidas congeladas, conforme descrito no item 3.3., foram realizadas as seguintes análises:

- Umidade a 70°C, em estufa a vácuo, a partir de amostra com 5g (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005, 2005).
- Gordura pelo método de butirométrico de Gerber, por ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico com auxílio de álcool amílico, utilizando-se de butirômetro para queijos com rolha (BRASIL, 2006);
- Proteína, através análise do conteúdo de nitrogênio pelo método de micro-Kjeldahl, utilizando o fator de conversão 6,38 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005);
- Cinzas, determinação gravimetricamente pela incineração de 2g de amostra a 550°C até eliminação completa de carvão (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2005);
- Carboidratos totais (incluindo fibras) calculado pela diferença para se obter 100% da composição total.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Os teores de macronutrientes foram convertidos em quilocalorias por meio dos fatores de Atwater e da energia oriunda da inulina e oligofrutose [(4 x g proteína) + (4 x g carboidratos) + (9 x g lipídios totais) + (1,5 x g frutanos totais)] para determinar o valor energético total (VET) médio de cada queijo (ROBERFROID, 1999; 2005; AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003b).

Os valores energéticos e de nutrientes obtidos foram expressos segundo a legislação brasileira vigente (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003b). As porções para fins de rotulagem nutricional dos queijos foram apresentadas segundo as normas da AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a, b).

### **3.9. Determinação da composição de ácidos graxos dos queijos *petit-suisse***

A partir das amostras liofilizadas, conforme descrito no item 3.3, foi realizado o processo de obtenção da fração lipídica dos queijos *petit-suisse*, segundo a metodologia de BLIGH e DYER (1959). Após a obtenção da fração lipídica, os ácidos graxos foram transformados em ésteres metílicos, segundo a metodologia de HARTMAN e LAGO (1973). A análise foi realizada em cromatógrafo a gás Varian GC, modelo 430 GC, equipado com injetor automático, detector de ionização de chama e o programa “Varian’s Galaxie Chromatography Software” (Varian, Midelburgo, Holanda). Foi utilizada coluna capilar de sílica fundida SP-2560 (Supelco, USA), com 100 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno e contendo 0,2 um de polietilenoglicol dentro da coluna. As condições foram: injeção split, razão de 50:1; temperatura da coluna: 140 °C por 5 min, programada até 240 °C numa razão de 4 °C/min; gás de arraste: hélio, em pressão isobárica de 37 psi; velocidade linear de 20 cm/s; gás *make-up*: hélio a 29 mL/min; temperatura do injetor: 250 °C; temperatura do detector: 250 °C. A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os respectivos padrões de ácidos graxos. Foram coletadas amostras de dois lotes distintos de produção de cada queijo. As amostras foram analisadas em triplicata e os valores apresentados corresponderam às médias ± (DP) destes valores.

### 3.10. Análise sensorial

O protocolo seguido na análise sensorial dos queijos foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (Ofício CEP/FCF/109/2011; CAAE: 0027.0.018.018-11- anexo 1).

Para efeito de comparação, foi conduzida análise sensorial em duas etapas, em duas localidades distintas do Brasil, como objetivo de verificar a aceitabilidade das formulações desenvolvidas frente a consumidor de localidades diferentes. Assim, a avaliação sensorial dos diferentes queijos *petit-suisse* estudados (QCC a QVS) foi realizada em duas etapas, a saber: a primeira etapa foi realizada na EMBRAPA Caprinos e Ovinos, em Sobral, Ceará, em 3 períodos distintos de armazenamento dos produtos, ou seja, após 7, 14 e 21 dias; a segunda fase foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo, em 2 períodos distintos de armazenamento dos produtos, ou seja, aos 14 e 21 dias.

A escolha desses períodos de amostragem teve em vista o tempo necessário para o equilíbrio dos componentes bioquímicos do queijo que interferem no seu sabor, o período de uma possível comercialização de produtos similares disponíveis no comércio e a segurança dos produtores. As amostras de São Paulo foram analisadas somente em dois períodos, devido a problemas de logística, que resultou em maior tempo entre a produção dos queijos caprinos em Sobral/CE e a chegada das amostras em São Paulo, para a realização dos testes sensoriais. As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas contendo gelo reciclável a fim de manter o produto sob refrigeração durante o transporte de Sobral-CE para São Paulo-SP (não maior que 10 °C ao final do transporte), que se procedeu via SEDEX, com duração de 3 dias entre o envio e a chegada às dependências da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP. A temperatura de chegada dos queijos foi de 8 °C, e antes de proceder as análises foi verificada a integridade de todas as embalagens e algumas amostras foram abertas, a fim de verificar alguma alteração de cheiro ou sabor, devido a possíveis variações de temperatura durante o transporte.

A análise sensorial foi conduzida segundo o delineamento de blocos casualizados, com 40 voluntários (consumidores de produtos lácteos) em cada

etapa da análise. Foi empregado o teste de aceitabilidade, utilizando-se escala hedônica estruturada de 9 pontos, com variação de gostei muitíssimo (ou 9 pontos) a desgostei muitíssimo (ou 1 ponto) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1999). Foi realizado, também, um estudo de intenção de compra do produto, utilizando-se o mesmo formulário, contendo 5 alternativas: “certamente eu compraria”, “provavelmente eu compraria”, “talvez eu compraria”, “provavelmente eu não compraria” e “certamente eu não compraria” (anexo 2).

Participaram das duas etapas das avaliações sensoriais um total de 256 consumidores de produtos lácteos (12 em Sobral e 134 em São Paulo), de ambos os sexos, distribuídos em 46,88% do sexo masculino e 53,12% do sexo feminino, com idades que variaram entre 18 e 62 anos. Os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento – TCLE (anexo 3). Para a etapa realizada em Sobral/CE, esses voluntários saudáveis foram recrutados entre estagiários e funcionários da Embrapa Caprinos e Ovinos ou outros voluntários saudáveis que quiseram participar do estudo. Para a etapa realizada em São Paulo/SP, voluntários saudáveis foram recrutados entre alunos de graduação e de pós-graduação, docentes e funcionários da Universidade de São Paulo ou outros voluntários saudáveis que quiseram participar do estudo. Os critérios de exclusão adotados incluíram, em ambas as etapas: possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância a alimentos ou doenças crônica (como diabetes, hipotireoidismo, hipertireoidismo, hipertensão ou outras); estar fazendo tratamento médico; estar gripado, resfriado ou indisposto; ter entrado em contato, há menos de 1 hora, com materiais, alimentos ou cosméticos de aroma intenso.

Amostras de aproximadamente 20 g das diferentes formulações de queijo (QCC, QCP, QCS e QVS), codificadas com 3 algarismos, aleatoriamente, foram oferecidas aos provadores monadicamente.

Foram adotados cuidados especiais para evitar que indivíduos subordinados ou diretamente ligado ao pesquisador se sentissem com a obrigação de participar do estudo.

### 3.11. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi do tipo sub-parcelas (*split-plot*) (MORAIS & NOGUEIRA, 1995), com três repetições. Foi estudado o efeito da adição do probiótico (dois níveis de variação), do uso da inulina e FOS (dois níveis de variação) e do tempo de armazenamento (cinco níveis de variação), bem como a interação entre esses fatores e as características estudadas.

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, a fim de verificar os pressupostos de normalidade e homocedastividade, respectivamente. Com exceção dos dados de análise sensorial, que foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis no primeiro momento, o teste utilizado foi o F, através da análise de variância e, para a comparação de médias, o teste de Tukey, inclusive para os casos em que se constatou diferença estatística pelo teste não-paramétrico, considerando-se sempre a significância de 5%. Como recurso para as análises foi empregado o pacote estatístico SAS *Statistical* (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS – SAS Institute Inc., SAS OnlineDoc 9.2, 2009, Carolina do Norte, EUA). Os resultados foram apresentados na forma de médias  $\pm$  DP (desvio padrão).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Capacidade de utilização de carboidratos por *Lactobacillus paracasei* LPC-37. Efeito da polpa de açaí, na concentração presente nos queijos em estudo (10%), sobre o crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37

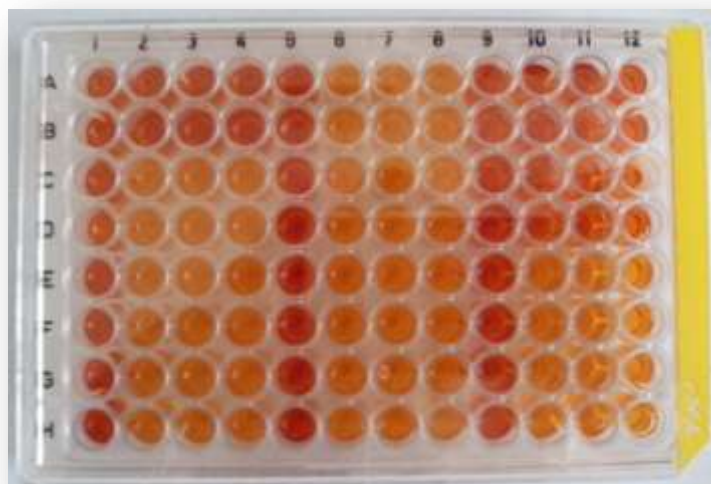
A avaliação do crescimento *in vitro* de *L. paracasei* LPC-37, utilizando os ingredientes prebiótico (inulina e FOS), foi realizado, com a finalidade de avaliar se o micro-organismo probiótico adicionado durante a produção dos queijos *petit-suisse* do presente estudo teria a capacidade de metabolizar os ingredientes prebióticos, utilizando essas fibras como fonte de carbono para a obtenção de energia e posterior multiplicação. Ressalta-se que outros carboidratos como glicose, frutose, sacarose e lactose podem está presentes

nos queijos *petit-suisse* em todas as formulações estudadas (Tabela 2). Sendo assim, também foram avaliados.

De acordo com YUYAMA et al, (2011) o suco de açaí apresenta grandes concentrações de fibras alimentares (2,37 a 7,8% m/m). Em vista disso, além dos frutanos e dos carboidratos que possivelmente se encontram nos queijos *petit-suisse*, foi realizada a avaliação da capacidade de crescimento de *L. paracasei* LPC-37, utilizando 10% de polpa de açaí como fonte de nutrientes.

O caldo MRS modificado utilizado no estudo, descrito no anexo 7, tem como indicador qualitativo de pH o reagente vermelho de fenol, o qual apresenta a coloração amarela em meio ácido.

Observou-se que, após as 48 horas de incubação, todos os carboidratos avaliados foram fermentados pela cepa de *L. paracasei* LPC-37. Essa constatação tem como base o fato de que os inóculos suplementados com esses compostos apresentavam sempre a coloração amarela (Figura 4), devido à produção de quantidades significativas de ácidos orgânicos, provenientes da fermentação desses carboidratos. Por outro lado, o controle negativo (CN- caldo MRS modificado sem adição de carboidratos) não revelou mudanças na coloração do indicador, demonstrando qualitativamente que não houve redução no pH do meio pela produção de ácidos orgânicos proveniente de fermentação dos compostos do caldo.



**Figura 4.** Aspecto visual da placa de micro-diluição, contendo os inóculos da cultura de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e os diferentes carboidratos avaliados no teste de utilização de carboidratos, após 48 horas de incubação.



Corroborando com o observado no presente estudo, MAKRAS, ACKER e DE VUYST (2005), ao utilizarem meio de cultivo sólido com indicador de pH para avaliar a utilização de frutanos por cepas de *Lactobacillus*, observaram que as cepas que fermentaram os prebióticos testados produziram zonas amarelas contra um fundo roxo, devido à produção de ácidos orgânicos. Entretanto, as cepas que não fermentaram os prebióticos testados não geraram mudanças de coloração no ágar.

A partir das curvas de crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, utilizando os diferentes carboidratos como fontes de carbono (Figuras 5) foi observado o início e o fim das fases de crescimento exponencial para cada carboidrato avaliado (Tabela 3). Foram observadas variações na duração da fase exponencial de crescimento entre os carboidratos avaliados, onde os períodos mínimo e máximo de duração dessa fase foram de 9 e 16 horas, respectivamente. A fase exponencial mais curta foi observada para os inóculos suplementados com glicose e a mais longa para os inóculos suplementados com sacarose.

**Tabela 3.** Características de crescimento de *L. paracasei* LPC-37, utilizando frutanos (inulina e FOS) e outros carboidratos como fonte de carbono.

Carboidratos	Características de crescimento				
	Utilização dos carboidratos <sup>1</sup>	Início da fase exponencial de crescimento (horas) <sup>2</sup>	Final da fase exponencial de crescimento (horas) <sup>2</sup>	log UFC/mL após a fase exponencial de crescimento <sup>3</sup>	Taxa de crescimento máximo ( $\mu$ ) <sup>4</sup>
CN*	-	nd	nd	nd	nd
Glicose	+	17	26	7,94 $\pm$ 0,03	0,158 $\pm$ 0,012
Frutose	+	15	25	7,99 $\pm$ 0,05	0,265 $\pm$ 0,096
Lactose	+	13	27	7,93 $\pm$ 0,93	0,113 $\pm$ 0,015
Sacarose	+	15	31	7,94 $\pm$ 0,04	0,119 $\pm$ 0,040
FOS	+	16	26	7,89 $\pm$ 0,07	0,244 $\pm$ 0,064
Inulina GR	+	15	27	7,96 $\pm$ 0,05	0,120 $\pm$ 0,016
Inulina HP	+	15	27	7,96 $\pm$ 0,08	0,125 $\pm$ 0,016

1 – Sinal negativo (-) indica que, ao final de 48 horas de incubação, DO<sub>620nm</sub> final <0,2; sinal positivo (+) indica que DO<sub>620nm</sub> final >0,6.

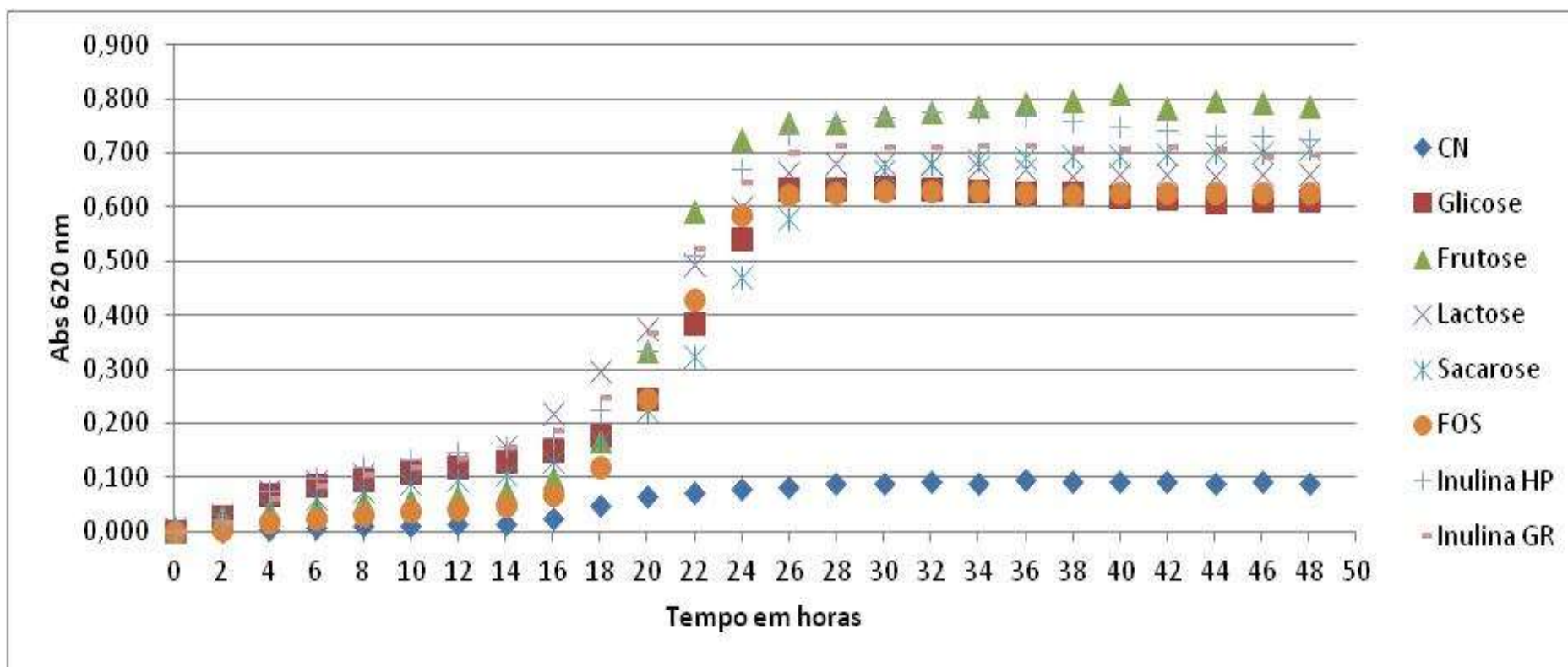
2 – Início e final em horas da fase exponencial de crescimento bacteriano, baseadas nas curvas de crescimento na presença de cada carboidrato (figura 5).

3 – Estimativa das populações de *L. paracasei* ao final da fase exponencial de crescimento, com base na equação obtida a partir da curva padrão de crescimento.

4 – Taxa de crescimento máximo ( $\mu$ ) em h<sup>-1</sup>.

\* Controle negativo (caldo MRS modificado sem suplementação de carboidratos).

nd – não determinado devido a crescimento inferior DO<sub>620nm</sub> final <0,2.



**Figura 5.** Curvas de crescimento de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, utilizando frutanos e outros carboidratos possivelmente presentes nos queijos *petit-suisse* como fontes de carbono. CN – Controle negativo (caldo MRS modificado sem carboidrato)

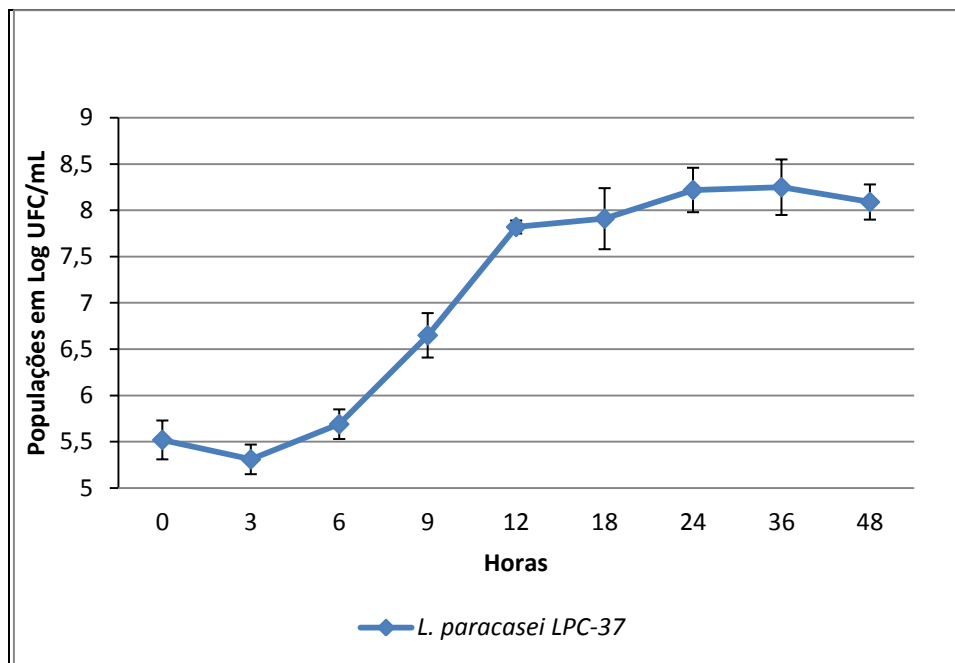
As taxas de crescimento ( $\mu$ ) são fundamentais para a avaliação de prebióticos adequados para uma cepa específica. Elas fornecem informações importantes sobre como um prebiótico em particular, cuja presença pode influenciar na capacidade de competição de certos micro-organismos com outras bactérias no cólon (WATSON et al., 2012). As taxas de crescimento ( $\mu$ ) de *L. paracasei* LPC-37 variaram de acordo com o carboidrato avaliado (Tabela 3). Entre os frutanos avaliados, foram observados que os inóculos suplementados com FOS tenderam a maiores taxas de crescimento do que as inulinas e os demais carboidratos estudados, com exceção da frutose. Os inóculos suplementados com as inulinas tiveram taxas de crescimento de  $0,120 \text{ h}^{-1}$  e  $0,125 \text{ h}^{-1}$  para a inulina GR e HP, respectivamente.

Foi observado um crescimento ótimo ( $\text{DO}_{620\text{nm}} > 0,6$ ) do *L. paracasei* LPC-37 em todos os carboidratos avaliados, obtendo-se populações estimadas próximos a  $8 \log \text{ UFC/mL}$  (Tabela 3). Ressalta-se que essas populações partiram de uma concentração de  $\sim 4,5 \log \text{ UFC/mL}$  e que, ao final da fase exponencial, estimou-se um crescimento nas populações de *L. paracasei* superior a 3 ciclos logarítmicos.

Estudos tem descrito que cepas de *Lactobacillus paracasei* têm uma alta capacidade de degradar e utilizar em seu metabolismo frutanos do tipo inulina (MERRY et al, 1995; MÜLLER & STELLER, 1995; OHLSON et al, 2002; MAKRAS, ACKER, DE VUYST, 2005; HUEBNER, WEHLING; HUTKINS, 2007). No entanto, essa capacidade de fermentação não é constante para uma determinada espécie, sendo cepa-específica e prebiótico-específica. A esse respeito, WATSON et al, (2012) avaliaram a utilização de prebióticos como inulina, FOS e GOS, assim como a combinação destes por diversas cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os autores observaram que a cepa de *Lactobacillus paracasei* CRL431 não tinha capacidade de utilização da inulina Raftiline HP. Entretanto, na presença de FOS Raftiline P95<sup>®</sup>, essa cepa teve crescimento considerado pelos autores como “ótimo”.

Foi observado que *L. paracasei* utilizou a polpa de açaí como fonte de nutrientes para o seu crescimento (Figura 6). De fato, conforme é possível verificar na Figura 5, o CN (controle negativo sem adição de carboidratos) não estimulou o crescimento das populações do micro-organismo em questão. Pode-se observar que as populações de *L. paracasei* ao final de 24 horas de

incubação atingiram valores superiores a 8 log UFC/mL, com um aumento >2,5 log UFC/mL durante as primeiras 24 horas de incubação, com populações sempre superiores a 8 log UFC/mL após 48 horas de incubação.



**Figura 6.** Curva de crescimento de *L. paracasei* LPC-37, utilizando 10% de polpa de açaí como fonte de nutrientes.

## 4.2. Parâmetros físico-químicos

### 4.2.1. Composição centesimal e apresentação do valor energético total (VET) dos queijos *petit-suisse* com polpa de açaí.

A composição centesimal e o valor energético total (VET) obtidos para os diferentes queijos *petit-suisse* caprinos estudados é apresentada na Tabela 3.

As variações na composição centesimal observada entre os queijos *petit-suisse* caprinos estão diretamente relacionadas com a formulação, principalmente para o teor de umidade e de carboidratos totais. Este efeito também foi observado por CARDARELLI et al, (2008b), ao avaliar queijos *petit-suisse* com diferentes fontes de frutanos. A umidade variou de acordo com a formulação para os queijos *petit-suisse* caprinos (Tabela 2). Assim, conforme pode ser constatado na Tabela 4, o queijo caprino simbiótico (QCS) apresentou valores de umidade inferiores e de carboidratos totais superiores aos demais (QCC e QCP), em virtude da adição dos prebióticos inulina e FOS.

Os queijos simbióticos caprino (QCS) e de vaca (QVS) apresentaram valores de umidade próximos de 62,88% e 63,22%, respectivamente (Tabela 5), demonstrando que o tipo de leite não inferiu na quantidade de umidade dos queijos, bem como nos demais valores de macronutrientes analisados.

**Tabela 4.** Composição centesimal (média  $\pm$  DP)<sup>1</sup> e valor energético total (VET) dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS).

	Queijos <i>petit-suisse</i> caprinos*		
	QCC	QCP	QCS
<b>Umidade (g)</b>	68,52 $\pm$ 0,25	70,96 $\pm$ 0,32	62,88 $\pm$ 0,44
<b>Cinzas (g)</b>	0,744 $\pm$ 0,023	0,724 $\pm$ 0,022	0,713 $\pm$ 0,019
<b>Proteínas (g)</b>	9,96 $\pm$ 0,74	9,53 $\pm$ 0,35	9,34 $\pm$ 0,15
<b>Lipídeos (g)</b>	4,17 $\pm$ 0,29	3,50 $\pm$ 0,00	3,50 $\pm$ 0,00
<b>Carboidratos totais (g)</b>	16,61 $\pm$ 0,42	15,28 $\pm$ 0,24	23,56 $\pm$ 0,49**
<b>Valor Energético Total - VET (kcal/100 g)***</b>	143,81 $\pm$ 0,43	130,74 $\pm$ 0,14	139,46 $\pm$ 0,15

(1) Valores médios em g/100 g

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

\*\* 9,36 g corresponde aos frutanos: inulina e FOS [estimativas baseadas na informação do fornecedor (Orafti) para os frutanos (Beneo GR e Beneo P-95) utilizados no presente estudo].

\*\*\* [(4 x g proteínas) + (4 x g carboidratos) + (9 x g lipídeos totais) + (1,5 + g frutanos totais)].

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do queijo "*petit-suisse*" (BRASIL, 2000), queijos *petit-suisse* devem apresentar uma proporção mínima de 6% proteínas de origem láctea. Os queijos *petit-suisse* do presente estudo, tanto caprinos (QCC, QCP e QCS) como os queijos simbióticos (QCS e QVS), atenderam as exigências dos padrões de identidade e qualidade para o teor de proteínas, pois os mesmos apresentaram valores superiores a 8,5% de proteína. Como se pode observar na Tabela 2, a única fonte proteica presente nas formulações dos queijos *petit-suisse* do presente estudo são de origem láctea, tendo em vista que os demais ingredientes empregados não contêm quantidades relevantes de proteínas.

O queijo QCC (controle) apresentou um teor de lipídeos superior a 4%, sendo que os demais queijos caprinos (QCP e QCS) não ultrapassaram 3,5%. Esse percentual lipídico se deve, principalmente, aos lipídeos presentes na polpa de açaí. O percentual lipídico da polpa de açaí, assim como os demais componentes sólidos do fruto, pode variar devido a inúmeros fatores,

destacando-se o seu período de maturação e a sazonalidade na sua produção (SANABRIA & SANGRONIS, 2007; CRUZ, 2008).

**Tabela 5.** Composição centesimal (média  $\pm$  DP)<sup>1</sup> e valor energético total (VET) dos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS).

	Queijos <i>petit-suisse</i> simbióticos*	
	QCS	QVS
<b>Umidade (g)</b>	62,88 $\pm$ 0,44	63,22 $\pm$ 0,20
<b>Cinzas (g)</b>	0,713 $\pm$ 0,019	0,693 $\pm$ 0,032
<b>Proteínas (g)</b>	9,34 $\pm$ 0,15	8,96 $\pm$ 0,46
<b>Lipídios (g)</b>	3,50 $\pm$ 0,00	3,50 $\pm$ 0,00
<b>Carboidratos totais (g)**</b>	23,56 $\pm$ 0,49	23,63 $\pm$ 0,46
<b>Valor Energético Total - VET (Kcal/100 g)***</b>	139,46 $\pm$ 0,15	138,46 $\pm$ 0,22

(1) Valores médios em g/100 g

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

\*\* 9,36 g corresponde aos frutanos inulina e FOS [estimativas baseadas na informação do fornecedor (Orafti) para os frutanos (Beneo GR e Beneo P-95) utilizados no presente estudo].

\*\*\*[(4 x g proteínas) + (4 x g carboidratos) + (9 x g lipídeos totais) + (1,5 + g frutanos totais)].

CARDARELLI (2006) observou que diferentes lotes de massa-base (queijo *quark*) utilizados na produção dos queijos *petit-suisse* simbióticos também influenciaram na variação da quantidade de lipídeos do produto final.

De acordo com a Resolução - RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003a), porção é a quantidade média do alimento que deveria ser consumida por pessoas saudáveis, maiores de 36 meses de idade em cada ocasião de consumo, com a finalidade de promover uma alimentação saudável. Para derivados lácteos como queijos *cottage*, ricotta desnatada, queijo minas, requeijão desnatado e o produto de interesse nesse estudo - o queijo *petit-suisse*, a porção proposta pela AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a) é de 50 g de queijo, o que corresponde a duas colheres de sopa do produto.

A quantidade mínima diária recomendada dos ingredientes prebiótico inulina e fruto-oligossacarídeo na porção do produto para a alegação de efeito prebiótico é de 3 g para produtos sólido e semi-sólido (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008). Desta forma, os queijos *petit-suisse* simbióticos

de cabra QCS e de vaca QVS preenchem os requisitos mínimos quanto ao teor de prebiótico, segundo a legislação brasileira.

O queijo QCC apresentou o valor energético total (VET) mais elevado, em comparação aos demais queijos *petit-suisse*, seguido pelo queijo QCS (simbiótico), como pode ser observado na Tabela 4. Já os queijos simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) apresentaram VET próximos, sendo de 139,46 kcal/100 g e 138,46 kcal/100 g, respectivamente.

#### 4.1.2. Composição em ácidos graxos.

A Figura 7 representa um cromatograma obtido dos lipídeos extraídos das amostras de queijo *petit-suisse* liofilizadas. Os picos se referem à presença de ácidos graxos específicos, enquanto a área delimitada pela curva até a linha da base corresponde à sua percentagem em massa em relação ao total de ácidos graxos presentes nos queijos *petit-suisse* estudados.

Nas Tabelas 6 e 7 estão enumerados os diferentes ácidos graxos encontrados nos queijos *petit-suisse* caprinos e queijos simbióticos, respectivamente, e suas respectivas proporções, em percentagem na base integral.

No leite de cabra, a gordura é um dos componentes mais importantes, pois está diretamente relacionada com a qualidade dos queijos e outros produtos lácteos, sendo fundamental nas propriedades de consistência, cor e sabor característicos. Em comparação ao leite de vaca, o leite caprino apresenta a vantagem de uma maior digestibilidade, devido à formação de coágulos mais finos de suas caseínas. Além disso, o perfil lipídico é mais saudável, em virtude de sua maior proporção de ácidos graxos de cadeia média e curta, como os ácidos butírico (C4:0), capróico (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) (RIBEIRO & RIBEIRO, 2010; NOUIRA et al, 2011). De fato, no presente trabalho, foi observada uma maior proporção de ácidos caprílico e cáprico em todos os queijos caprinos estudados, em comparação com o queijo de leite de vaca. Já os ácidos butírico e capróico apresentaram proporções mais ou menos equivalente, sendo ligeiramente inferiores para o QCS e superiores para os QCC e QCP (Tabelas 6 e 7).

Segundo YUYAMA et al, (2011), a gordura presente nos sucos de açaí é composta, principalmente, dos ácidos palmitoléico (C16:1), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3). Dentre esses ácidos graxos, o que está presente em maiores quantidades é o ácido monoinsaturado oléico (C18:1). Os autores observaram que o suco de açaí produzido em várias regiões do estuário amazônico apresentaram, em sua composição lipídica, valores superiores a 70% do ácido graxo C18:1. De fato, à presença de 10 a 11% de polpa de açaí nos queijos estudados certamente refletiu nos elevados percentuais de ácido oleico (C18:1) encontrados, chegando a valores superiores a 36%.

Percentuais de C18:1 similares aos observados nos queijos *petit-suisse* do presente estudo foram relatados por ESPIRITO SANTO et al. (2010), em iogurtes adicionados de polpa de açaí. Os autores relacionaram os elevados teores de ácido oleico à adição da polpa de açaí, uma vez que os iogurtes não adicionados de açaí apresentaram valores bem inferiores desse ácido graxo.



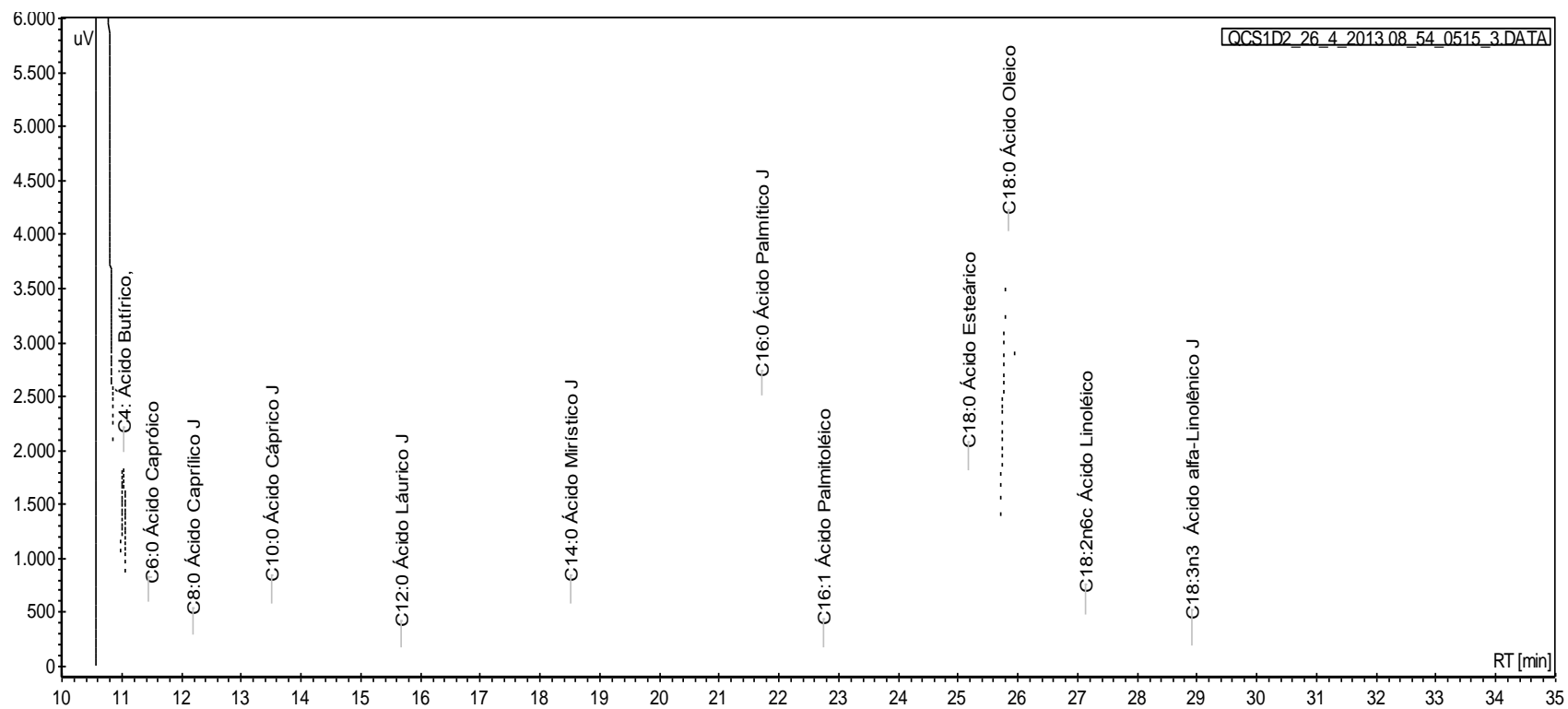


Figura 7. Cromatograma da fração de lipídeos extraída do queijo *petit-suisse* caprino QCS (simbiótico) após 1 dia de armazenamento a  $4 \pm 1^\circ\text{C}$ .

**Tabela 6.** Distribuição de ácidos graxos presentes em 100 g de amostra integral (média  $\pm$  DP) obtidos para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS).

Ácido graxo		Queijos caprinos*		
		QCC	QCP	QCS
Butírico	C4:0	1,087 $\pm$ 0,334	0,960 $\pm$ 0,292	0,882 $\pm$ 0,146
Capróico	C6:0	1,561 $\pm$ 0,174	1,540 $\pm$ 0,142	1,395 $\pm$ 0,051
Caprílico	C8:0	1,656 $\pm$ 0,215	1,580 $\pm$ 0,187	1,472 $\pm$ 0,067
Cáprico	C10:0	4,843 $\pm$ 0,840	4,600 $\pm$ 0,845	4,120 $\pm$ 0,081
Láurico	C12:0	1,952 $\pm$ 0,134	1,945 $\pm$ 0,190	1,798 $\pm$ 0,041
Mirístico	C14:0	6,390 $\pm$ 0,287	6,501 $\pm$ 0,504	6,195 $\pm$ 0,104
Palmítico	C16:0	24,737 $\pm$ 0,811	24,666 $\pm$ 0,585	25,058 $\pm$ 0,589
Palmitoléico	C16:1	1,681 $\pm$ 0,743	1,937 $\pm$ 0,889	1,053 $\pm$ 0,058
Esteárico	C18:0	14,015 $\pm$ 0,977	14,024 $\pm$ 0,585	14,523 $\pm$ 0,493
Oléico	C18:1n9c	37,407 $\pm$ 1,541	37,779 $\pm$ 1,494	39,257 $\pm$ 0,979
Linoléico	C18:2n6c	3,692 $\pm$ 0,444	3,575 $\pm$ 0,345	3,425 $\pm$ 0,261
$\alpha$ -Linolênico	C18:3n3	0,976 $\pm$ 0,093	0,892 $\pm$ 0,456	0,823 $\pm$ 0,136

\* Vide Tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

**Tabela 7.** Distribuição de ácidos graxos presentes em 100 g de amostra integral (média  $\pm$  DP) obtidos para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS).

Ácido graxo		Queijos simbióticos*	
		QCS	QVS
Butírico	C4:0	0,882 $\pm$ 0,146	0,947 $\pm$ 0,176
Capróico	C6:0	1,395 $\pm$ 0,051	1,412 $\pm$ 0,019
Caprílico	C8:0	1,472 $\pm$ 0,067	1,195 $\pm$ 0,261
Cáprico	C10:0	4,120 $\pm$ 0,081	3,010 $\pm$ 1,137
Láurico	C12:0	1,798 $\pm$ 0,041	2,041 $\pm$ 0,250
Mirístico	C14:0	6,195 $\pm$ 0,104	7,584 $\pm$ 1,502
Palmítico	C16:0	25,058 $\pm$ 0,589	29,050 $\pm$ 4,590
Palmitoléico	C16:1	1,053 $\pm$ 0,058	1,197 $\pm$ 0,185
Esteárico	C18:0	14,523 $\pm$ 0,493	13,242 $\pm$ 1,458
Oléico	C18:1n9c	39,257 $\pm$ 0,979	36,200 $\pm$ 3,420
Linoléico	C18:2n6c	3,425 $\pm$ 0,261	3,222 $\pm$ 0,388
$\alpha$ -Linolênico	C18:3n3	0,823 $\pm$ 0,136	0,901 $\pm$ 0,071

\* Vide Tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

Foi observada proporção de ácidos graxos poli-insaturados superior a 4% em todos os queijos *petit-suisse* caprinos (QCC, QCP e QCS) e nos queijos *petit-suisse* simbióticos (QCS e QVS) estudados. Dentre eles, o ácido linoléico (C18:2n6c) revelou teor superior a 3,4% e o ácido  $\alpha$ -linolênico (C18:3n3) teor próximos a 1%. Os ácidos graxos poli-insaturados linoléico e  $\alpha$ -linolênicoambos são considerados ácidos graxos essenciais, fundamentais na dieta (DJOUSSÉ, 2008).

A presença de ácidos poli-insaturados nos queijos *petit-suisse* aumenta o seu valor nutricional e funcional, por serem precursores dos ácidos eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n3) e docosa-hexaenoico (DHA) (C22:6n3). Os compostos formados são, por sua vez, essenciais para diversas atividades fisiológicas, entre elas, a produção e manutenção de membrana celular e a prevenção de arritmia (VEMURI & KELLEY, 2008; BERDANIER, 2008; DJOUSSÉ, 2008).

O perfil de ácidos graxos presentes nos queijos *petit-suisse* simbióticos (QCS e QVS) apresentaram algumas variações já esperadas, visto que, a composição da gordura do leite é variável, sendo influenciada por diversos fatores fisiológicos, como período de lactação, doenças e fatores genéticos, incluindo espécie, raça e espécime (PALQUIST & JENSEN, 2008). Foi observada proporção superior a 29% de C16:0 no queijo QVS. Entretanto, outros ácidos graxos tenderam a proporções inferiores aos encontrados no QCS, como pode ser observado na Tabela 6, que mostra proporção de C18:1 3% menor para o queijo QVS em comparação ao queijo QCS.

Nas Tabelas 8 e 9 são apresentadas as proporções dos ácidos graxos de acordo com a o seu grau de saturação para os queijos *petit-suisse* caprinos e os queijos *petit-suisse* simbióticos, respectivamente. Pode-se observar que as proporções de ácidos graxos saturados tenderam a maiores valores no queijo QVS (de vaca) quando comparado com o queijo QCS (de cabra). No entanto, as proporções de ácidos graxos monoinsaturados tenderam a maiores valores para o queijo QCS. Essas variações nas proporções de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, devem-se, principalmente, às variações nos percentuais dos ácidos C16:0 e C18:1.

**Tabela 8.** Proporção de ácidos graxos segundo o grau de insaturação em relação ao total de ácidos graxos presentes nos diferentes queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS).

Grau de saturação	Queijos caprinos*		
	QCC	QCP	QCS
<b>Saturados (%)</b>	56,24	55,82	55,44
<b>Mono-insaturados (%)</b>	39,09	39,72	40,31
<b>Poli-insaturados (%)</b>	4,67	4,46	4,25

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

**Tabela 9.** Proporção de ácidos graxos segundo o grau de insaturação em relação ao total de ácidos graxos presentes nos diferentes queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS).

Grau de saturação	Queijos simbióticos*	
	QCS	QVS
<b>Saturados (%)</b>	55,44	58,48
<b>Mono-insaturados (%)</b>	40,31	37,40
<b>Poli-insaturados (%)</b>	4,25	4,12

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

#### 4.1.3. pH, acidez titulável e dureza instrumental dos queijos

A Tabela 10 apresenta a evolução dos parâmetros físico-químicos de pH, acidez titulável e dureza instrumental dos queijos *petit-suisse* caprinos durante o armazenamento.

O pH e a acidez titulável são geralmente usados como parâmetros físico-químicos para a medição dos níveis de acidez, determinação da qualidade do leite e de produtos lácteos fermentados (AFFANE et al, 2011). Embora não haja uma relação direta entre o pH e a acidez titulável, em geral existe a relação: redução dos valores de pH com o aumento da acidez titulável (WALSTRA, WOUTERS, GEURTS, 2006).

Todos os queijos *petit-suisse* caprinos QCC (controle), QCP (probiótico) e QCS (simbiótico) estudados apresentaram, de maneira geral, decréscimos dos valores de pH ao longo do armazenamento, com o aumentar da acidez titulável, embora significativos apenas em alguns períodos de armazenamento ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, foi observado um ligeiro aumento nos

valores de pH dos queijos adicionados de probiótico (QCP e QCS) nos primeiros 14 dias de armazenamento. Esse pequeno aumento de pH durante esse período não foi acompanhado da redução na acidez titulável.

A redução dos valores do pH e aumento da acidez observados durante o armazenamento no presente estudo, de maneira geral, também foram observados em outros estudos (MARUYAMA et al, 2006; BURITI, CARDARELLI, SAAD, 2007; CARDARELLI et al, 2008b; PEREIRA et al, 2010). É um processo esperado, devido à contínua produção de ácido láctico e de outros ácidos orgânicos, pelas culturas lácticas presentes em produtos lácteos fermentados, uma vez que os micro-organismos continuam ativos em temperaturas de refrigeração, embora o seu metabolismo esteja reduzido.

As proteínas e os sais presentes no leite têm efeito tamponante (WALSTRA, WOUTERS, GEURTS, 2006). Esse fato poderia explicar a tendência de aumento dos valores de pH sem um decréscimo nos valores de acidez titulável no início do armazenamento de QCP e QCS. Além disso, bactérias do gênero *Lactobacillus* em geral exigem, pelo menos, alguns aminoácidos, dependendo da espécie ou da cepa. Conseqüentemente bactérias desse gênero tem um sistema proteolítico funcional para a obtenção dos aminoácidos necessários para seu crescimento (BARRANGOU et al, 2012). A ação proteolítica pode gerar alguns peptídeos com poder tamponante, assim mantendo estável e/ou elevando os valores de pH, mesmo com o aumento da acidez titulável.

O pH dos queijos QCP e QCS, após 1 dia de armazenamento foram similares, sendo significativamente menores ( $p < 0,05$ ) que o pH encontrado para o queijo QCC. No entanto, a partir dos 7 dias de armazenamento, os valores de pH foram similares para todos os queijos, não sendo observado mais diferença significativa entre eles.

Foi observado que o queijo QCC teve as maiores variações nos valores de pH entre os dias 1 e 28. Essa redução foi observada após 7 dias de armazenamento, mantendo-se estável durante todos os demais períodos estudados.

**Tabela 10.** Valores de pH, acidez e dureza instrumental (média  $\pm$  DP) obtidos para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4\pm 1$  °C.

Queijos*	Tempo (dias)	pH	Acidez titulável (mg de ác.lático/ g)	Dureza (N)
QCC	1	4,47 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>	0,62 $\pm$ 0,07 <sup>Ab</sup>	3,28 $\pm$ 0,18 <sup>Bbc</sup>
	7	4,33 $\pm$ 0,03 <sup>Ab</sup>	0,66 $\pm$ 0,03 <sup>Aab</sup>	3,00 $\pm$ 0,27 <sup>Bc</sup>
	14	4,30 $\pm$ 0,10 <sup>Ab</sup>	0,67 $\pm$ 0,05 <sup>Aab</sup>	3,60 $\pm$ 0,19 <sup>Bab</sup>
	21	4,24 $\pm$ 0,06 <sup>Ab</sup>	0,67 $\pm$ 0,06 <sup>Aab</sup>	3,37 $\pm$ 0,27 <sup>Bbc</sup>
	28	4,24 $\pm$ 0,10 <sup>Ab</sup>	0,69 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>	3,87 $\pm$ 0,39 <sup>Ba</sup>
QCP	1	4,26 $\pm$ 0,13 <sup>Bab</sup>	0,63 $\pm$ 0,04 <sup>Ab</sup>	2,78 $\pm$ 0,50 <sup>Ca</sup>
	7	4,29 $\pm$ 0,04 <sup>Aab</sup>	0,65 $\pm$ 0,05 <sup>Ab</sup>	2,75 $\pm$ 0,23 <sup>Ba</sup>
	14	4,36 $\pm$ 0,06 <sup>Aa</sup>	0,69 $\pm$ 0,07 <sup>Aab</sup>	2,87 $\pm$ 0,18 <sup>Ca</sup>
	21	4,22 $\pm$ 0,02 <sup>Ab</sup>	0,69 $\pm$ 0,08 <sup>Aab</sup>	3,02 $\pm$ 0,27 <sup>Ba</sup>
	28	4,19 $\pm$ 0,10 <sup>Ab</sup>	0,73 $\pm$ 0,09 <sup>Aa</sup>	2,82 $\pm$ 0,26 <sup>Ca</sup>
QCS	1	4,30 $\pm$ 0,04 <sup>Bab</sup>	0,58 $\pm$ 0,07 <sup>Ac</sup>	4,62 $\pm$ 0,24 <sup>Ac</sup>
	7	4,30 $\pm$ 0,04 <sup>Aab</sup>	0,57 $\pm$ 0,05 <sup>Bc</sup>	4,94 $\pm$ 0,50 <sup>Abc</sup>
	14	4,36 $\pm$ 0,05 <sup>Aa</sup>	0,61 $\pm$ 0,07 <sup>Bbc</sup>	5,26 $\pm$ 0,23 <sup>Aab</sup>
	21	4,19 $\pm$ 0,06 <sup>Abc</sup>	0,66 $\pm$ 0,07 <sup>Aab</sup>	5,64 $\pm$ 0,42 <sup>Aa</sup>
	28	4,15 $\pm$ 0,13 <sup>Ac</sup>	0,68 $\pm$ 0,09 <sup>Aa</sup>	5,28 $\pm$ 0,35 <sup>Aab</sup>

\* Vide Tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

A menor variação nos valores de acidez pode estar diretamente ligada à adição dos micro-organismos probióticos nos queijos QCP e QCS. A esse respeito, SOUZA e SAAD (2009) observaram que a adição de culturas lácticas em queijo minas frescal aumentou significativamente a acidez dos queijos, em comparação com queijos acidificados por acidificação direta.

A Tabela 11 apresenta a evolução dos parâmetros físico-químicos para os queijos simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) durante os 28 dias de armazenamento sob refrigeração. Ao compararmos o tipo de leite utilizado no processamento dos queijos simbióticos QCS e QVS, os queijos produzidos com leite de vaca (QVS) tiveram os maiores valores de pH durante todo o período de

armazenamento, embora significativamente superiores apenas até a primeira semana de armazenamento ( $p < 0,05$ ). No entanto, foram observados os maiores valores de acidez nos queijos produzidos com leite de vaca (QVS), que podem ser atribuídos às populações significativamente mais elevadas ( $p < 0,05$ ) de *L. paracasei* em todos os períodos de armazenamento e de *S. thermophilus* em alguns períodos nos queijos simbióticos de vaca (QVS), em comparação aos queijos simbióticos de cabra (QCS) (Tabela 12). Consequentemente, as culturas lácticas presentes em maior quantidade e continuando ativas em temperaturas de refrigeração, conforme mencionado anteriormente, poderiam resultar na produção de quantidades mais elevadas de ácido, embora o seu metabolismo esteja reduzido.

**Tabela 11.** Valores de pH, acidez e textura instrumental (média  $\pm$  DP) obtidos para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4 \pm 1$  °C.

Queijos*	Tempo (dias)	pH	Acidez titulável (mg de ác.lático/ g)	Dureza (N)
QCS	1	4,30 $\pm$ 0,04 <sup>Bab</sup>	0,58 $\pm$ 0,07 <sup>Bb</sup>	4,62 $\pm$ 0,24 <sup>Ac</sup>
	7	4,30 $\pm$ 0,04 <sup>Bab</sup>	0,57 $\pm$ 0,05 <sup>Ab</sup>	4,94 $\pm$ 0,50 <sup>Abc</sup>
	14	4,36 $\pm$ 0,05 <sup>Aa</sup>	0,61 $\pm$ 0,07 <sup>Ab</sup>	5,26 $\pm$ 0,23 <sup>Aab</sup>
	21	4,19 $\pm$ 0,06 <sup>Ab</sup>	0,66 $\pm$ 0,07 <sup>Aa</sup>	5,64 $\pm$ 0,42 <sup>Aa</sup>
	28	4,15 $\pm$ 0,13 <sup>Abc</sup>	0,68 $\pm$ 0,09 <sup>Ba</sup>	5,28 $\pm$ 0,35 <sup>Ab</sup>
QVS	1	4,55 $\pm$ 0,25 <sup>Aa</sup>	0,61 $\pm$ 0,08 <sup>Ae</sup>	3,64 $\pm$ 0,15 <sup>Be</sup>
	7	4,50 $\pm$ 0,18 <sup>Aa</sup>	0,64 $\pm$ 0,08 <sup>Ad</sup>	4,55 $\pm$ 0,26 <sup>Bd</sup>
	14	4,49 $\pm$ 0,26 <sup>Aa</sup>	0,63 $\pm$ 0,09 <sup>Ac</sup>	5,37 $\pm$ 0,34 <sup>Ac</sup>
	21	4,32 $\pm$ 0,09 <sup>Ab</sup>	0,69 $\pm$ 0,09 <sup>Ab</sup>	5,73 $\pm$ 0,20 <sup>Ab</sup>
	28	4,27 $\pm$ 0,06 <sup>Ab</sup>	0,74 $\pm$ 0,10 <sup>Aa</sup>	6,16 $\pm$ 0,54 <sup>Aa</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

Por outro lado, devido à capacidade tamponante do leite, a quantidade de ácido necessária para reduzir o pH pode variar de acordo com a sua composição ou mesmo o poder de dispersão do ácido no meio (WALSTRA, WOUTERS, GEURTS, 2006) e é sabido que a composição das proteínas dos

leites de cabra e de vaca são distintas, podendo afetar a capacidade tamponante de maneira diversa.

Textura é a manifestação sensorial e funcional das propriedades funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos, detectadas pelos sentidos da visão, audição, tato e sinestésicas (SZCZESNIAK, 2002).

Entre os parâmetros primários utilizados na determinação de textura instrumental de alimentos sólidos e semi-sólidos podemos citar a dureza também chamada de firmeza e/ou maciez, a adesividade, a coesividade, a viscosidade e a elasticidade e/ou plasticidade (SZCZESNIAK, 2002). No entanto, o presente estudo visou-se avaliar somente o parâmetro dureza.

A adição de ingredientes prebióticos aumentou significativamente a dureza do queijo simbiótico (QCS) em relação aos demais queijos. Corroborando com o presentes estudo CARDARELLI et al, (2008a), ao estudarem musses adicionados de inulina, observaram que a adição de inulina na formulação simbiótica de musses de chocolate estudadas aumentou a dureza e a adesividade desse produto, em comparação com as musses que não foram adicionados desses ingredientes.

O período de armazenamento também influenciou na dureza dos queijos QCC (controle) e QCS (simbiótico), pois a medida destes parametros foi aumentando durante o período de armazenamento.

Ao avaliarmos a influência do tipo de leite sobre a dureza instrumental dos queijos simbióticos, observa-se que a dureza do queijo simbiótico de cabra (QCS) foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) que a do queijo simbiótico de vaca (QVS) durante a primeira semana. Adicionalmente, a dureza do QVS aumentou significativamente ao longo de todo o período de armazenamento estudado ( $p < 0,05$ ), com um aumento nos valores médios de dureza de 2,52 N do dia 1 para o dia 28 de armazenamento (de 3,64 para 6,16 N). Já o queijo de cabra equivalente – QCS mostrou maior estabilidade ao longo do período estudado, com menos variações significativas e com um aumento de apenas 0,46 N do dia 1 ao 28 (de 4,62 a 5,28 N).

Em comparação ao leite de vaca, aproximadamente 80% dos glóbulos de gordura do leite de cabra são menores que 5  $\mu\text{m}$ . Essa diferença é uma das



principais causas para os derivados lácteos caprinos apresentarem textura mais macia, quando comparados aos derivados de leite de vaca (SILANIKOVE et al., 2010). Além disso, o leite de cabra difere do leite de vaca quanto às proporções das quatro principais caseínas ( $\alpha$ -S<sub>1</sub>,  $\alpha$ -S<sub>2</sub>,  $\beta$  e  $\kappa$ ) e ao tamanho das micelas de caseína (60-80  $\mu$ m no leite de vaca e 100-200  $\mu$ m no leite de cabra). Essas características particulares resultam em modificação nas propriedades específicas dessas micelas, em função de sua composição, tamanho e capacidade de hidratação (PARK, 2007; SILANIKOVE et al., 2010).

## 4.2. Parâmetros microbiológicos

### 4.2.1. Populações de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e de *Streptococcus thermophilus* dos queijos *petit-suisse* durante o período de armazenamento

A Tabela 12 apresenta as populações de *L. paracasei* LPC-37 e de *S. thermophilus* da massa-base (queijo *quark* – dia 0) e dos queijos *petit-suisse* caprinos ao longo do armazenamento de 28 dias em refrigeração a 4 $\pm$ 1 °C.

As populações de *L. paracasei* presentes nos queijos caprinos (QCP e QCS) obtiveram média igual ou superior a 7,93 log UFC/g durante todo o período de 28 dias de armazenamento em refrigeração a 4 $\pm$ 1 °C. Considerando-se uma porção de consumo diário de queijo *petit-suisse* de 50 g (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2003a), o produto atendeu aos requisitos da legislação brasileira e aos padrões internacionais. A legislação brasileira vigente preconiza que, para um alimento probiótico exercer seus potenciais efeitos benéficos à saúde do consumidor, esse deve conter uma quantidade mínima de 8 a 9 log UFC na porção diária de um alimento específico. Internacionalmente, por sua vez, considera-se que o alimento deve conter uma quantidade mínima de células viáveis, entre 10<sup>6</sup>-10<sup>8</sup> UFC/g ou 10<sup>8</sup>-10<sup>10</sup> UFC/dia (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2008; CHAMPAGNE et al. 2011).

Populações de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 similares ao presente estudo foram observados por MÄKELÄINEN et al. (2010), que desenvolveram queijos Gouda probióticos, para investigar o efeito de culturas probióticas comerciais na modulação nutricional e sobre parâmetros imunológicos em crianças. Os autores obtiveram populações de *L. paracasei* LPC-37 superiores a

8 log UFC/g, sendo que essas populações foram maiores que aquelas das outras culturas probióticas comerciais utilizadas.

As populações de *L. paracasei* LPC-37 dos queijos QCP (probiótico) e QCS (simbiótico) tiveram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) durante armazenamento entre os dias 1 e 28. Entretanto, esse aumento observado tem pouco ou nenhum significado sob o ponto de vista microbiológico, uma vez que são inferiores a 0,2 log UFC/.

**Tabela 12.** Populações (média  $\pm$  DP) de *S. thermophilus* (cultura starter) *Lactobacillus paracasei* LPC-37 obtidas para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) na massa-base de queijo *quark* (dia 0), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4 \pm 1$  °C.

Micro-organismos	Tempo (dias)	Populações dos micro-organismos (log UFC/g)		
		Queijos caprinos*		
		QCC	QCP	QCS
<i>S. thermophilus</i>	0	9,99 $\pm$ 0,25	9,60 $\pm$ 0,16	9,61 $\pm$ 0,19
	1	9,52 $\pm$ 0,28 <sup>Aa</sup>	9,47 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>	9,54 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>
	7	9,48 $\pm$ 0,17 <sup>Aa</sup>	9,57 $\pm$ 0,17 <sup>Aa</sup>	9,55 $\pm$ 0,15 <sup>Aa</sup>
	14	9,41 $\pm$ 0,16 <sup>Aa</sup>	9,42 $\pm$ 0,14 <sup>Aa</sup>	9,24 $\pm$ 0,09 <sup>Ab</sup>
	21	9,58 $\pm$ 0,29 <sup>Aa</sup>	9,05 $\pm$ 0,09 <sup>Bb</sup>	8,90 $\pm$ 0,33 <sup>Cc</sup>
	28	9,58 $\pm$ 0,16 <sup>Aa</sup>	8,81 $\pm$ 0,24 <sup>Bc</sup>	8,44 $\pm$ 0,23 <sup>Cd</sup>
	<i>L. paracasei</i>	0	-	8,09 $\pm$ 0,40
1		-	8,13 $\pm$ 0,13 <sup>Ab</sup>	7,93 $\pm$ 0,13 <sup>Ab</sup>
7		-	8,13 $\pm$ 0,17 <sup>Aab</sup>	8,04 $\pm$ 0,15 <sup>Aab</sup>
14		-	8,13 $\pm$ 0,14 <sup>Aab</sup>	8,01 $\pm$ 0,09 <sup>Aab</sup>
21		-	8,15 $\pm$ 0,09 <sup>Aab</sup>	8,08 $\pm$ 0,33 <sup>Aa</sup>
28		-	8,19 $\pm$ 0,21 <sup>Aa</sup>	8,13 $\pm$ 0,23 <sup>Aa</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

Estudos realizados por BURITI et al. (2007) e BURITI, CARDARELLI e SAAD, (2007) utilizando *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC82 em co-cultura com a cultura starter *Streptococcus thermophilus* TA40 no processamento de queijo fresco cremoso probiótico e simbiótico, assim como no

presente estudo para a maioria dos queijos, não constatarão diferença significativa entre as populações de *L. paracasei* durante o período de armazenamento estudado. Já SRISUVOR et al, (2013) observaram um aumento próximo a 1 ciclo logarítmico nas populações de *L. paracasei* LPC-37, ao longo de 21 dias de armazenamento de iogurtes adicionados de prebióticos e polpa de banana, sendo que essas populações, assim como no presente estudo, mantiveram-se sempre superiores a 8 log UFC/mL.

A adição de ingredientes prebióticos no queijo caprino simbiótico QCS, não teve influência sobre as populações de *L. paracasei*, pois essas foram similares às populações encontradas no queijo caprino probiótico (QCP) (Tabela 12). O período de armazenamento não afetou significativamente as populações de *L. paracasei* em nenhum dos queijos adicionadas da cultura (QCP e QCS). Em estudos com musses de chocolate probiótico e simbiótico ARAGON-ALEGRO et al, (2007) e CARDARELLI et al, (2008a) também observaram que a adição de inulina não influenciou nas populações de *L. paracasei*, que mantiveram-se estáveis durante todo o período de armazenamento de 28 dias.

Em estudos realizados com iogurtes produzidos com leite desnatado e integral adicionados de fibras de maracujá, ESPÍRITO SANTO et al, (2012) observaram que a quantidade de gordura do leite teve maior influência nas populações de probióticos do que a adição de fibra da casca de maracujá.

Em contraste ao observado com as populações de *L. paracasei*, o período de armazenamento teve influência significativa ( $p < 0,05$ ) nas populações da cultura *starter* de *S. thermophilus* dos queijos probiótico (QCP) e simbiótico (QCS). A co-cultura não foi favorável para as populações de *S. thermophilus*, que tiveram reduções significativas ( $p < 0,05$ ) a partir dos 14 dias para QCS e 21 dias para QCP. As maiores quedas foram observadas no queijo adicionado de ingredientes prebióticos (QCS), onde foi verificada reduções superiores a 1 ciclo logarítmico entre os dias 1 e 28. O mesmo não foi observado no queijo QCC (controle), pois as populações de *S. thermophilus* mantiveram-se estáveis ( $p > 0,05$ ) até o fim do período de armazenamento estudado com populações superiores a 9,41 log UCF/g.

Resultados distintos foram observados por CARDARELLI et al., (2008b) ao estudarem queijos *petit-suisse* probióticos e simbióticos, utilizando a cultura de *Streptococcus thermophilus* TA40 em co-cultura com *Lactobacillus*

*acidophilus* Lac4 e/ou *Bifidobacterium lactis* BL04, não constatando diferença significativa entre as populações de *S. thermophilus*, superiores a 9,56 log UFC/g.

ESPÍRITO SANTO et al, (2010) observaram que as populações de *S. thermophilus* de iogurtes adicionados de polpa de açaí foram menores que as dos iogurtes sem a adição de açaí. Além disso, corroborando com os resultados observados no presente estudo, os autores observaram que o período de armazenamento exerceu influência sobre as populações desse micro-organismo, o qual teve sua viabilidade reduzida a cada período estudado.

A Tabela 13 apresenta as populações de *L. paracasei* LPC-37 e *S. thermophilus* da massa-base (queijo *quark*) dos queijos *petit-suisse* simbióticos (QCS e QVS), ao longo de 28 dias de armazenamento a  $4 \pm 1$  °C. O tipo de leite foi um fator importante para as populações de *L. paracasei* LPC-37 e da cultura *starter S. thermophilus* dos queijos simbióticos. Observou-se que as populações de *L. paracasei* dos queijos simbióticos de vaca (QVS) foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) que as populações observadas no queijo simbiótico de cabra (QCS), durante todo o período de armazenamento estudado. No entanto, do ponto de vista microbiológico, as populações de *L. paracasei* LPC-37 dos queijos QCS e QVS não são consideradas diferentes, uma vez que ambas estão no mesmo ciclo logaritimico.

Resultados similares aos do presente estudo foram relatados por WANG et al, (2012), que observaram que a partir da 3ª semana de armazenamento de iogurtes probióticos adicionados de *Lactobacillus casei* Zhaen, as populações de *L. casei* foram significativamente menores nos iogurtes de leite de cabra, em comparação com os iogurtes de leite de vaca.

Em contrapartida, MARTÍN-DIANA et al, (2003), em estudos com leites fermentados caprinos, tendo como controle o leite fermentado produzido com leite de vaca, não observaram influencia do tipo de leite nas populações de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12. No entanto, a adição de 3 e 5 % de concentrado proteico de soro resultou em aumento das populações de *B. animalis* Bb-12, em relação aos leites fermentados de leite de vaca e de cabra que não tiveram a adição do concentrado proteico de soro.

**Tabela 13.** Populações (média  $\pm$  DP) de *S. thermophilus* (cultura starter) e de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 obtidas para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca(QVS) na massa-base de queijo *quark* (dia 0), no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4\pm 1$  °C.

Micro-organismos	Tempo (dias)	Populações dos micro-organismos (log UFC/g)	
		Queijos simbióticos*	
		QCS	QVS
<i>S. thermophilus</i>	0	9,61 $\pm$ 0,19	9,59 $\pm$ 0,23
	1	9,54 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>	9,48 $\pm$ 0,17 <sup>Aa</sup>
	7	9,55 $\pm$ 0,15 <sup>Aa</sup>	9,39 $\pm$ 0,18 <sup>Bab</sup>
	14	9,24 $\pm$ 0,09 <sup>Ab</sup>	9,28 $\pm$ 0,08 <sup>Abc</sup>
	21	8,90 $\pm$ 0,33 <sup>Bc</sup>	9,20 $\pm$ 0,13 <sup>Ac</sup>
	28	8,44 $\pm$ 0,23 <sup>Bd</sup>	9,15 $\pm$ 0,14 <sup>Ac</sup>
<i>L. paracasei</i>	0	8,13 $\pm$ 0,33	8,48 $\pm$ 0,18
	1	7,93 $\pm$ 0,13 <sup>Bb</sup>	8,47 $\pm$ 0,17 <sup>Aa</sup>
	7	8,04 $\pm$ 0,15 <sup>Bab</sup>	8,51 $\pm$ 0,18 <sup>Aa</sup>
	14	8,01 $\pm$ 0,09 <sup>Bab</sup>	8,53 $\pm$ 0,08 <sup>Aa</sup>
	21	8,08 $\pm$ 0,33 <sup>Ba</sup>	8,58 $\pm$ 0,13 <sup>Aa</sup>
	28	8,13 $\pm$ 0,23 <sup>Ba</sup>	8,51 $\pm$ 0,14 <sup>Aa</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

#### 4.2.2. Monitoramento de micro-organismos indicadores de contaminação e determinação de patógenos

Nas Tabelas 14 e 15 encontram-se, respectivamente, para os queijos caprinos QCC, QCP e QCS e para os queijos simbióticos QCS e QVS, as populações de micro-organismos indicadores de contaminação coliformes totais, bolores e leveduras, expressas como média dos valores das amostras positivas e valores mínimo-máximo durante o armazenamento em refrigeração a 4°C por até 28 dias.

**Tabela 14.** Populações de micro-organismos indicadores de contaminação obtidas para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4\pm 1$  °C.

Micro-organismos	Tempo (dias)	Populações dos micro-organismos (log UFC/g)					
		Queijos caprinos <sup>1</sup>					
		QCC		QCP		QCS	
		Média*	Variação*	Média*	Variação*	Média*	Variação*
<b>Coliformes totais</b>	<b>1</b>	2,11	1,70-2,52	1,63	<1-2,08	3,13	<1-3,20
	<b>7</b>	1,68	1,00-2,67	<1	-	2,69	<1-2,72
	<b>14</b>	1,87	<1-2,45	<1	-	2,27	<1-2,40
	<b>21</b>	1,36	<1-1,48	<1	-	1,26	<1-1,48
	<b>28</b>	1,00	<1-1,00	<1	-	1,60	<1-1,90
<b>Bolores e Leveduras</b>	<b>1</b>	3,28	2,04-4,16	1,97	<1-3,04	2,71	<1-4,21
	<b>7</b>	3,57	2,95-4,11	1,97	<-13,26	2,48	<1-4,18
	<b>14</b>	3,75	3,00-4,79	2,21	<1-3,04	2,59	<1-4,30
	<b>21</b>	3,84	3,18-4,49	2,35	<1-3,04	2,55	<1-4,20
	<b>28</b>	3,77	2,78-4,43	1,77	<1-2,70	2,18	<1-4,11

<sup>1</sup> Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

\* Média das amostras positivas

\*\* Valores mínimos – máximos das contagens obtidas para todas as amostras analisadas

-: sem variação

Os micro-organismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus DNA-se* positivos não foram detectados durante o armazenamento dos queijos *petit-suisse*. Do mesmo modo, não foram encontradas colônias suspeitas de *Salmonella* spp. para as amostras mantidas congeladas após o primeiro dia de armazenamento, deste modo estando dentro dos padrões de segurança alimentar estipulados pela AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2001).

As populações de coliformes totais detectadas em amostras dos queijos *petit-suisse* caprinos (QCC, QCP e QCS) e nos queijos *petit-suisse* simbióticos (QCS e QVS) não ultrapassaram o valor máximo de 3 log UFC/g, permitido pela Portaria nº 146 para queijos de muita alta umidade com bactérias lácticas em forma viável em abundância (BRASIL, 1996), com exceção de uma única amostra de QCS.

**Tabela 15.** Populações de micro-organismos indicadores de contaminação obtidos para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) no produto final (1 dia) e após 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a  $4 \pm 1$  °C.

Micro-organismo	Tempo (dia)	Populações dos micro-organismos (log UFC/g)			
		Queijos simbióticos <sup>1</sup>			
		QCS		QVS	
		Média*	Variação**	Média*	Variação**
Coliformes totais	1	3,13	<1-3,20	2,46	<1-2,14
	7	2,69	<1-2,72	2,57	<1-2,35
	14	2,27	<1-2,40	2,08	<1-1,66
	21	1,26	<1-1,48	1,78	<1-1,38
	28	1,60	<1-1,90	1,48	<1-1,36
Bolors e leveduras	1	2,71	<1-4,21	3,74	<1-3,96
	7	2,48	<1-4,18	3,97	<1-4,56
	14	2,59	<1-4,30	3,90	<1-4,45
	21	2,55	<1-4,20	3,92	<1-4,48
	28	2,18	<1-4,11	3,67	<1-4,23

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

\*Média das amostras positivas

\*\* Valores mínimos – máximos das contagens obtidas para todas as amostras analisadas

-: sem variação

As populações de bolores e leveduras variaram de <1 a 4,79 log UFC/g nos queijos *petit-suisse* estudados. Dentre eles, o queijo QCP (queijo *petit-suisse* caprino probiótico) apresentou as menores populações de bolores e leveduras em todos os períodos avaliados, apresentando uma variação de <1 a 3,26 log UFC/g. Entretanto, ao final de 28 dias de armazenamento essa população não ultrapassou 2,7 log UFC/g.

De qualquer modo, a Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001, que aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos não estipula valores para coliformes totais, bolores e leveduras (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001).

Embora as populações de bolores e leveduras tenham atingido valores superiores a 4 log UFC/g na maioria dos queijos *petit-suisse*, é importante ressaltar que todos os queijos foram produzidos obedecendo às normas de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2002), havendo amplo controle da higiene dos utensílios empregados e da manipulação das matérias-primas e dos queijos durante o processamento. É provável que a presença desses micro-organismos após o processamento e durante o armazenamento dos queijos tenha sido decorrente da sua presença no ambiente durante a fabricação (BURITI, 2005). Ressalta-se que não foi utilizado nenhum tipo de conservante nas diferentes formulações de queijo *petit-suisse*, dificultando, assim, o controle desses micro-organismos no produto final.

A presença de coliformes totais em alimentos de origem animal indica contaminação ambiental, uma vez que esses micro-organismos são abundantes no meio ambiente (SHOJAEI & YADOLLAHI, 2008). Entre os contaminantes mais comuns do leite cru, processado e produtos lácteos estão os coliformes totais, em especial *Escherichia coli* (MHONE et al., 2011). No entanto, o contaminante não foi detectado nos queijos *petit-suisse* estudados.



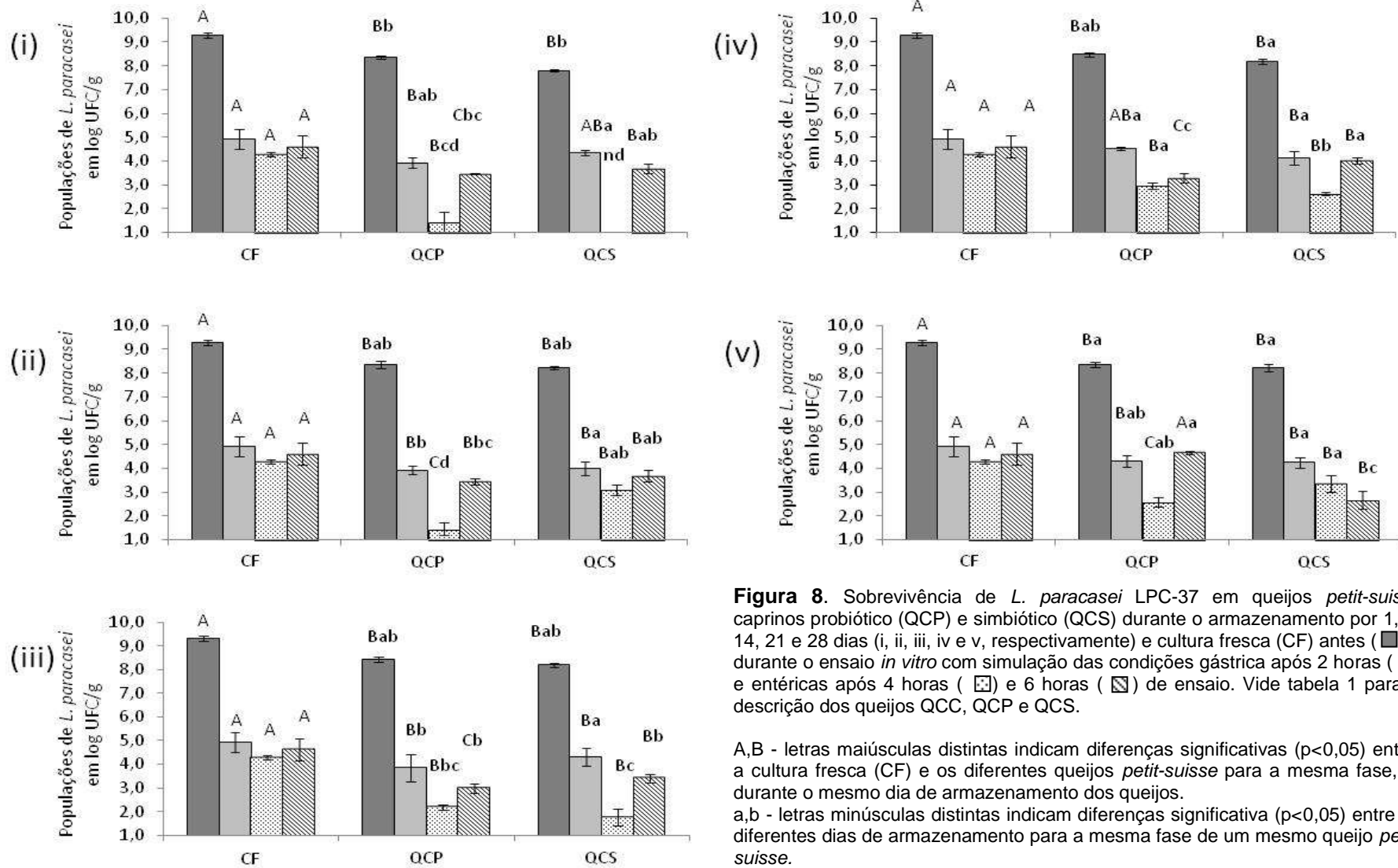
#### **4.2.3. Sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 nos queijos *petit-suisse* e cultura fresca frente às condições gastrintestinais simuladas *in vitro***

As populações de *Lactobacillus paracasei* nos queijos *petit-suisse* caprinos (QCP e QCS) e nos queijos *petit-suisse* simbiótico (QCS e QVS) submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, ao longo do armazenamento em refrigeração são apresentados nas Figuras 8 e 9, respectivamente. Também foram apresentados nas referidas figuras os dados obtidos com a cultura fresca (CF) utilizada como controle.

Modelos de digestão *in vitro* são amplamente utilizados para estudar as mudanças estruturais, digestibilidade e liberação de componentes dos alimentos em condições gastrintestinais simuladas. Esses ensaios podem ser úteis, no sentido de estimar se a bactéria sobreviveria à passagem pelo trato gastrintestinal (O'MAY & MACFARLANE, 2005; HUR et al., 2011).

É importante salientar que a CF utilizada como controle nos ensaios de sobrevivência apresentou as maiores populações na fase inicial, antes da submissão as condições gastrintestinais simuladas *in vitro*, quando comparada aos queijos caprinos e aos queijos simbióticos.

Após 2 horas de ensaio (fase gástrica), observou-se uma queda expressiva de no mínimo 4 ciclos logarítmicos para todos os queijos caprinos e simbióticos, assim como na cultura fresca. Em trabalho de revisão, MORELLI (2000) descreveu que, dentre as espécies do gênero *Lactobacillus*, as cepas pertencentes ao “grupo *Lactobacillus casei*”, composto pelas espécies *L. casei*, *L. paracasei* e *L. rhamnosus*, tem sido reportadas como as mais sensíveis durante simulações gástricas *in vitro*. DING e SHAH (2007) observaram que após 2 horas de exposição a suco gástricos e valores de pH inferiores a pH 3, cepas de diferentes espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* tiveram reduções expressivas em suas populações. De acordo com esses pesquisadores, populações superiores a 10 log UFC/g foram reduzidas a populações inferiores a 4 log UFC/g, ao final de 2 horas de ensaio, como foi observado no presente estudo cujo pH utilizado na fase gástrica foi inferior a pH 3 (anexo 6).

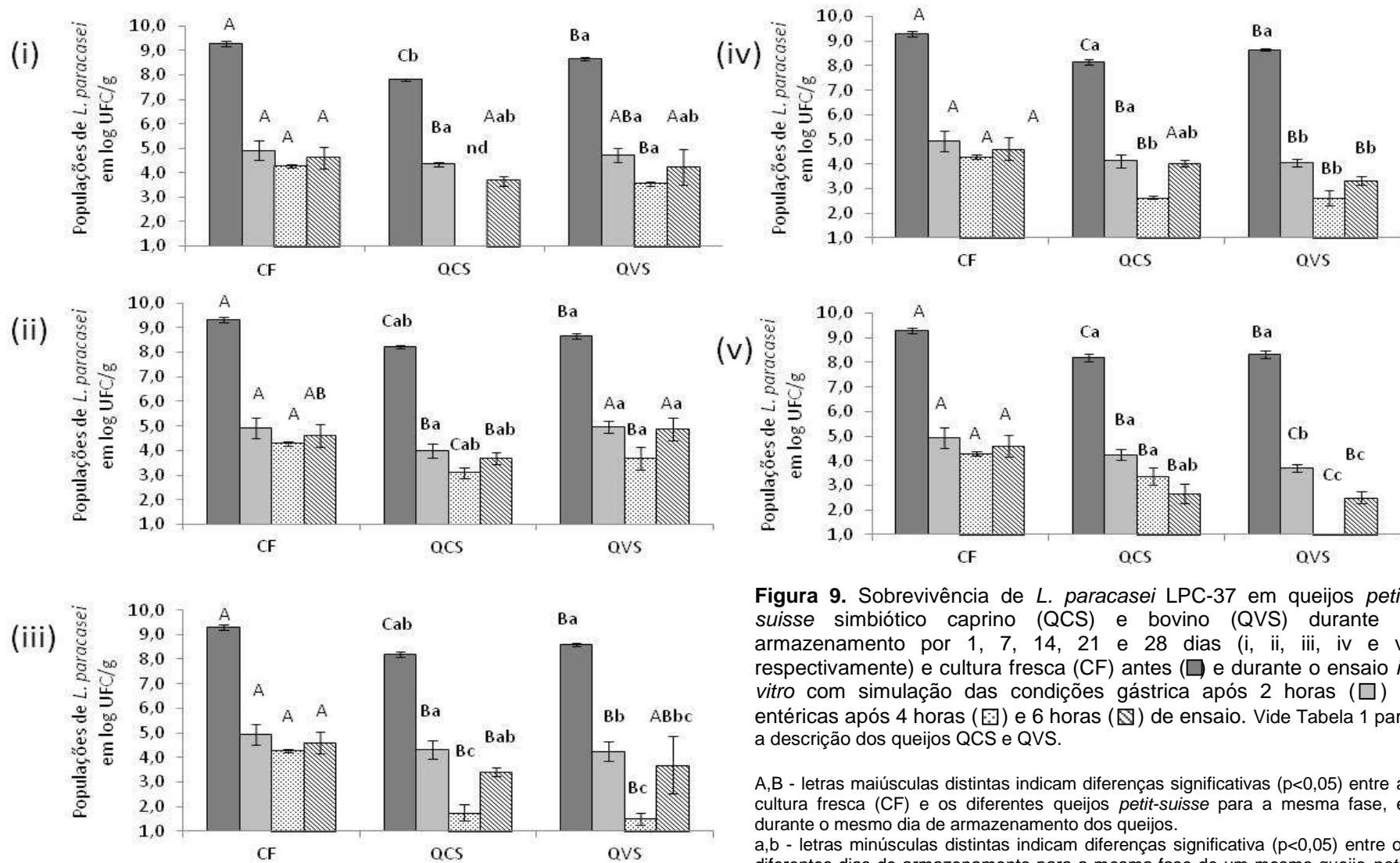


**Figura 8.** Sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 em queijos *petit-suisse* caprinos probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) durante o armazenamento por 1, 7, 14, 21 e 28 dias (i, ii, iii, iv e v, respectivamente) e cultura fresca (CF) antes (■) e durante o ensaio *in vitro* com simulação das condições gástrica após 2 horas (□) e entéricas após 4 horas (▨) e 6 horas (▩) de ensaio. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

A,B - letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre a cultura fresca (CF) e os diferentes queijos *petit-suisse* para a mesma fase, e durante o mesmo dia de armazenamento dos queijos.

a,b - letras minúsculas distintas indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para a mesma fase de um mesmo queijo *petit-suisse*.

nd - valores abaixo do limite de detecção do método utilizado.



**Figura 9.** Sobrevivência de *L. paracasei* LPC-37 em queijos *petit-suisse* simbiótico caprino (QCS) e bovino (QVS) durante o armazenamento por 1, 7, 14, 21 e 28 dias (i, ii, iii, iv e v, respectivamente) e cultura fresca (CF) antes (■) e durante o ensaio *in vitro* com simulação das condições gástrica após 2 horas (□) e entéricas após 4 horas (▣) e 6 horas (▤) de ensaio. Vide Tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

A,B - letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre a cultura fresca (CF) e os diferentes queijos *petit-suisse* para a mesma fase, e durante o mesmo dia de armazenamento dos queijos.

a,b - letras minúsculas distintas indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para a mesma fase de um mesmo queijo *petit-suisse*.

nd - valores abaixo do limite de detecção do método utilizado.

O período de armazenamento não influenciou significativamente ( $p > 0,05$ ) nas populações de *L. paracasei* após a fase gástrica para os queijos *petit-suisse* caprinos QCS e QCP.

Diferentemente ao observado no presente estudo para os queijos caprinos, CHAMPAGNE e GARDNER (2008), ao avaliarem a influência do período de armazenamento na sobrevivência de *Lactobacillus* em suco de frutas, observaram que a sobrevivência à etapa gástrica foi mais prejudicada pelo período de armazenamento.

Para os queijos simbióticos, foram observadas variações significativas ( $p < 0,05$ ) na sobrevivência após a fase gástrica no queijo simbiótico de vaca (QVS) com o tempo de armazenamento do produto. Aos 7 dias de armazenamento as populações após 2 horas de ensaio foram similares às populações sobreviventes da CF. No entanto, foi observada uma queda nessas populações sobreviventes após essa fase à partir dos 14 dias de armazenamento, sendo que aos 28 dias as populações sobreviventes do queijo QVS após a fase gástrica foram inferiores às do queijo simbiótico de cabra QCS.

As taxas de sobrevivência (TS%) da cepa de *L. paracasei* após a fase gástrica (Tabela 16) para os queijos caprinos durante todo o período de armazenamento estudado não diferiu ( $p > 0,05$ ) ao da cultura fresca (CF). Já para os queijos simbióticos (Tabela 17), aos 28 dias, a TS% de *L. paracasei* no queijo simbiótico de vaca (QVS) foi significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) àquela da CF. Reduções superiores àquelas encontradas no presente estudo foram observadas por XANTHOPOULOS et al., (2000), em estudos de caracterização de *Lactobacillus* isolados de fezes de crianças, onde as populações de *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* isoladas tiveram reduções de até 82,8%, após 2 horas de simulação gástrica a pH 3.

A exposição à bile e a pancreatina após 4 horas de ensaio (fase entérica 1), resultou em novas reduções nas populações de *L. paracasei* para os queijos caprinos e simbióticos, assim como para CF. Assim como foi observado no presente estudo, DING e SHAH (2007) verificaram que a exposição das cepas probióticas estudadas a 3% de bile Oxgall por 8 horas resultaram em reduções das populações dos micro-organismos testados de até 6,51 log UFC/mL, populações estas que eram superiores a 10 log UFC/mL, antes de serem submetidas ao estresse gástrico.

**Tabela 16.** Taxa de sobrevivência (TS%) de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 frente às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, quando incorporado aos queijos *petit-suisse* caprino probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o armazenamento dos produtos a  $4 \pm 1$  °C, e na cultura fresca (CF) utilizada como controle.

Queijos Caprinos*	Tempo (dias)	Fase gástrica	Fase entérica
CF	-	52,69 ± 4,20	49,58 ± 4,39
	1	52,89 ± 4,27 <sup>Aa</sup>	26,50 ± 0,43 <sup>Bd#</sup>
	7	47,05 ± 1,81 <sup>Ab</sup>	41,34 ± 1,93 <sup>Ab#</sup>
QCP	14	45,69 ± 6,37 <sup>Ab</sup>	35,28 ± 2,11 <sup>Bc#</sup>
	21	53,35 ± 1,26 <sup>Aa</sup>	38,91 ± 2,72 <sup>Bbc#</sup>
	28	51,33 ± 2,80 <sup>Ab</sup>	55,90 ± 1,02 <sup>Aa§</sup>
	1	55,76 ± 0,98 <sup>Aa</sup>	47,03 ± 2,58 <sup>Aa</sup>
QCS	7	48,52 ± 3,78 <sup>Ab</sup>	44,71 ± 3,19 <sup>Ab#</sup>
	14	52,83 ± 4,56 <sup>Ab</sup>	41,65 ± 2,01 <sup>Ab#</sup>
	21	50,44 ± 1,23 <sup>Ab</sup>	49,36 ± 1,23 <sup>Aa</sup>
	28	51,67 ± 1,86 <sup>Ab</sup>	32,46 ± 4,55 <sup>Bc#</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

# sobrescritos indicam que a TS% dos diferentes queijos *petit-suisse* foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor que a cultura fresca.

§ sobrescritos indicam que a TS% dos diferentes queijos *petit-suisse* foi significativamente ( $p < 0,05$ ) maior que a cultura fresca.

As reduções após 4 horas de ensaio (fase entérica 1), foram mais expressivas nos queijos caprinos e simbióticos, ao compararmos com a cultura fresca. Não foram detectadas contagens nessa fase para o queijo caprino simbiótico (QCS), após 1 dia de armazenamento. Para o queijo simbiótico de vaca, as populações detectadas não foram superiores a 1,01 log UCF/g para essa mesma fase, aos 28 dias. No entanto, após 6 horas de ensaio (fase entérica 2), a cepa de *L. paracasei* se “recuperou”, com populações de até 3,67 log UFC/g detectadas, sendo que o queijo QCS obteve a maior “recuperação”. A menor “recuperação” após as 6 horas de ensaio foi observada em CF (cultura fresca) e não ultrapassou 0,33 log UFC/g.

**Tabela 17.** Taxa de sobrevivência (TS%) de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 frente às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, quando incorporado aos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o armazenamento dos produtos a  $4 \pm 1$  °C, e na cultura fresca (CF) utilizada como controle.

Queijos Simbióticos*	Tempo (dias)	Fase gástrica	Fase entérica
CF	-	52,69 ± 4,20	49,58 ± 4,39
QCS	1	55,76 ± 0,98 <sup>Aa</sup>	47,03 ± 2,58 <sup>Aa</sup>
	7	48,52 ± 3,78 <sup>Bb</sup>	44,71 ± 3,19 <sup>Aa</sup>
	14	52,83 ± 4,56 <sup>Aab</sup>	41,65 ± 2,01 <sup>Aab</sup>
	21	50,44 ± 1,23 <sup>Aab</sup>	49,36 ± 1,23 <sup>Aa</sup>
	28	51,67 ± 1,86 <sup>Aab</sup>	32,46 ± 4,55 <sup>Ab#</sup>
QVS	1	54,51 ± 3,22 <sup>Aa</sup>	48,81 ± 8,09 <sup>Aab</sup>
	7	57,34 ± 2,46 <sup>Aa</sup>	56,13 ± 4,84 <sup>Aa</sup>
	14	47,45 ± 0,76 <sup>Ab</sup>	42,85 ± 13,26 <sup>Ab</sup>
	21	47,08 ± 1,99 <sup>Ab</sup>	38,49 ± 2,15 <sup>Abc#</sup>
	28	44,42 ± 2,32 <sup>Bb#</sup>	30,04 ± 2,83 <sup>Ac#</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse*.

<sup>#</sup> sobrescritos indicam que a TS% dos diferentes queijos *petit-suisse* foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor que a cultura fresca.

A recuperação das populações após 6 horas de ensaio pode ter resultado de uma subestimação das populações da fase anterior (4 horas), devido a limitações na técnica de cultivo em ágar seletivo. Isto porque certos micro-organismos facilmente cultiváveis podem se manter viáveis em outro estado, preservando algumas atividades metabólicas típicas de células viáveis e voltando a ser cultiváveis sob certas condições. Nesse caso, são chamadas de células viáveis-mas-não-cultiváveis, células dormentes ou células sub-letalmente lesadas (GUEIMONDE et al, 2012).

Em estudos realizados recentemente pelo nosso grupo de pesquisa (PADILHA, 2013) foi verificado que a utilização de técnicas moleculares, especialmente qPCR com PMA, para a quantificação de micro-organismos probióticos mostrou-se extremamente útil em omitir células mortas e em identificar células viáveis, porém não cultiváveis presentes em queijos *petit-*

*suisse* sabor morango probiótico e simbiótico, submetidos a ensaios simulação *in vitro* do trato gastrointestinal.

Foi observado que o período de armazenamento foi um fator limitante na sobrevivência de *L. paracasei* na matriz dos queijos simbióticos (QCS e QVS), após as 6 horas de ensaio. Após 28 dias de armazenamento, foram observadas populações não superiores a 2,67 log UFC/g. Corroborando com os resultados observados do presente estudo WANG et al, (2009), ao compararem a sobrevivência de *L. casei* Zhang após estresse entérico nas matrizes alimentícias de leite de vaca e “leite de soja” submetidos previamente a um estresse gástrico com pH 2, observaram que a sobrevivência foi sendo reduzida ao longo do armazenamento, como observado para os queijos QCS e QVS.

Inversamente ao observado para os queijos simbiótico, o queijo QCP, teve um aumento da sobrevivência durante o período de armazenamento, atingindo população superior a 4,5 log UFC/g no ensaio ao final de 28 dias. Resultados similares aos encontrados para QCP foram observados por BURITI CASTRO e SAAD (2010b) ao estudarem a sobrevivência, frente a condições gastrintestinais, de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 incorporado em musses de goiaba mantidos refrigerados e congelados, onde a sobrevivência do probiótico foi maior nos produtos mantidos congelados após 112 dias. A hipótese levantada pelos autores para essa maior sobrevivência no produto congelado foi de que a exposição de um micro-organismo a algum outro tipo de estresse prévio (por exemplo, por meio de calor, frio ou ácido) resulta em maior tolerância das células sobreviventes a um ambiente desfavorável subsequente (por exemplo, às condições adversas do TGI).

A alta viabilidade de bactérias probióticas em alimentos prontos para consumo, não garante a sua sobrevivência e chegada ao(s) seu(s) sítio(s) de ação no intestino (KARIMI; MORTAZAVIAN; CRUZ, 2011). Conforme observado, o queijo QVS (Tabela 13), inicialmente continha as maiores populações de *L. paracasei*, o que ocorreu durante todo o período de armazenamento. Já após 28 dias de armazenamento, o mesmo queijo apresentou as menores populações ao final do ensaio de sobrevivência (de 8,51 log UFC/g antes do ensaio, para 2,5 log UFC/g após 6 horas de ensaio) (Figuras 9).

Em revisão, KOLIDA e GIBSON (2011) relataram diversos estudos onde o uso de prebióticos, combinados com microencapsulação de bactérias

probióticas, aumentaram significativamente a sobrevivência dos probióticos durante simulações *in vitro* do trato gastrintestinal, podendo essa ser uma solução para aumentar os índices de sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* LPC-37, utilizado no presente estudo. No entanto, é importante destacar que a adição de prebióticos dos queijos simbióticos só teve efeito de proteção nas primeiras semanas de armazenamento.

Existem controvérsias em relação à necessidade das bactérias probióticas estarem viáveis para que as mesmas exerçam o seu efeito benéfico à saúde do hospedeiro. Segundo ADAMS (2010), muitos dos efeitos obtidos com células viáveis também podem ser obtidos com as mesmas células mortas. Os probióticos podem regular a resposta imune à partir de uma complexa interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e diversos componentes bacterianos, incluindo o DNA cromossômico, componentes da parede celular e metabólitos solúveis (MADSEN et al., 2001; MENAR et al., 2004; HOURAU et al., 2006).

### **4.3. Análise sensorial e de intenção de compra**

A análise sensorial realizada para os queijos *petit-suisse* caprinos (Tabela 18) não indicou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) na aceitabilidade dos queijos caprinos frente às localidades avaliadas (Sobral/CE e São Paulo/SP), exceto para o queijo caprino simbiótico (QCS) aos 21 dias de armazenamento. Nesse período de armazenamento, QCS apresentou uma menor aceitabilidade ( $p < 0,05$ ) por parte dos consumidores de São Paulo/SP, em comparação com os consumidores de Sobral/CE. Foi observado que as médias de aceitabilidade dos queijos caprinos variaram de 5,60 a 7,15 entre os consumidores de Sobral/CE e de 4,60 a 6,84 entre os consumidores de São Paulo/SP.

A adição de probióticos e prebióticos exerceu influência positiva na aceitabilidade das diferentes formulações dos queijos caprinos, onde aos 7 dias de armazenamento foi observada uma maior aceitabilidade ( $p < 0,05$ ) para o queijo simbiótico QCS em relação ao queijo controle QCC, na análise realizada apenas em Sobral/CE. Aos 14 dias, não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) na aceitabilidade entre as diferentes formulações de queijos *petit-suisse* caprinos em ambas as localidades. Aos 21 dias de armazenamento, o queijo QCS foi novamente mais aceito sensorialmente em relação ao queijo QCC. Entretanto,



em São Paulo/SP, o queijo mais aceito para o mesmo período foi o queijo probiótico (QCP), sendo o único período em que foi observada diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre o público das duas localidades estudadas, devido a essa menor aceitabilidade de QCS pelos provadores de São Paulo/SP. No entanto, o período de armazenamento não influenciou significativamente ( $p > 0,05$ ) na aceitabilidade de queijos caprinos em ambas as localidades avaliadas.

**Tabela 18.** Aceitabilidade sensorial obtida para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o armazenamento dos produtos a  $4 \pm 1$  °C, com consumidores de Sobral/CE e de São Paulo/SP.

Local da análise	Queijos caprinos*	Dias		
		7	14	21
Sobral/CE	QCC	5,60 ± 1,73 <sup>Ba</sup>	5,81 ± 2,02 <sup>Aa</sup>	5,79 ± 1,38 <sup>Ba</sup>
	QCP	6,60 ± 1,31 <sup>ABa</sup>	6,25 ± 1,49 <sup>Aa</sup>	6,00 ± 2,09 <sup>ABa</sup>
	QCS	7,15 ± 0,98 <sup>Aa</sup>	6,80 ± 1,28 <sup>Aa</sup>	7,05 ± 1,39 <sup>#Aa</sup>
São Paulo/SP	QCC	-	4,92 ± 1,94 <sup>Aa</sup>	4,60 ± 1,96 <sup>Ba</sup>
	QCP	-	6,84 ± 3,54 <sup>Aa</sup>	6,81 ± 1,33 <sup>Aa</sup>
	QCS	-	5,95 ± 1,97 <sup>Aa</sup>	5,75 ± 1,67 <sup>#ABa</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento em cada local de análise.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma linhas indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse* em cada local de análise.

<sup>#</sup> sobrescritos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes locais de análise para um mesmo queijo *petit-suisse* e período de armazenamento.

- = não avaliado

Assim como constatado no presente estudo, PEREIRA et al, (2010) observaram que a adição dos probióticos *L. acidophilus* La-5 e *B. animalis* BL04, isolados ou em co-cultura, influíram positivamente na aceitabilidade de queijos *petit-suisse* sabor morango. Diferentemente do presente trabalho, onde não se detectou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os queijos probióticos com e sem prebióticos, SRISUVOR et al, (2013) observaram que a adição de inulina e polidextrose melhoraram as características sensoriais, como aparência e textura de iogurte com polpa de banana, não tendo observado alterações na aceitabilidade em relação ao sabor e ao aroma.

Ao estudar a aceitabilidade sensorial de sorvetes sabor cajá potencialmente funcionais frente às mesmas localidades do presente estudo,

PAULA (2012) observou que os sorvetes formulados com creme de leite de cabra tiveram uma menor aceitabilidade frente ao público de São Paulo/SP.

O sabor “caprino” é normalmente conferido pelos ácidos graxos cáprico (C10:0), caprílico (C8:0) e capróico (C6:0) (PARK, 2009). No entanto, no presente estudo, esses ácidos graxos tiveram proporções similares em todos os queijos caprinos estudados (Tabela 6), sendo que em QCC esses ácidos correspondiam a 8,06% do total de ácidos graxos e, em menor proporção, em QCS, onde esses ácidos graxos correspondiam a 6,98% do total.

Ao comparar a aceitabilidade sensorial dos queijos simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) (Tabela 19), pode-se observar uma maior aceitabilidade do queijo QVS, pelos provadores de Sobral/CE e São Paulo aos 14 dias. Particularmente em São Paulo/SP, essa maior aceitabilidade do queijo QVS manteve-se durante todo o período de armazenamento avaliado. Do mesmo modo como observado para os queijos caprinos (QCC, QCP e QCS), para os queijos simbióticos QCS e QVS não foram observadas influências significativas ( $p>0,05$ ) do período de armazenamento sobre a aceitabilidade, em ambas as localidades estudadas, exceto para o queijo QCS aos 21 dias, que foi menos aceito em São Paulo/SP em comparação aos consumidores de Sobral/CE. Dentre os queijos simbióticos, observou-se uma menor proporção de ácido cáprico (C10:0) no queijo simbiótico de vaca (Tabela 7), o que pode ter influenciado na sua maior aceitabilidade em ambas as localidades.

Não sendo observadas diferenças significativas ( $p>0,05$ ) quanto à aceitabilidade sensorial entre as diferentes localidades para os queijos caprinos QCC e QCP. Entretanto, ao compararmos frequências de intenção de compra para os queijos caprinos (QCC, QCP e QCS) das localidades de Sobral/CE (Figura 10) e São Paulo/SP (Figura 11), pode-se observar uma maior tendência a intenções de compra positivas (provavelmente compraria e certamente compraria) entre os provadores de Sobral/CE, em comparação aos consumidores de São Paulo/SP.

Foi observado que o queijo QVS atingiu as maiores frequências de intenção de compra positivas, em ambas as localidades (Figura 12 e 13). No entanto, os queijos simbióticos também tenderam a maiores frequências de intenções de compra positivas frente aos consumidores de Sobral/CE, em comparação àqueles de São Paulo/SP. De fato, o queijo QVS não atingiu

frequências superiores a 56% em São Paulo/SP, enquanto em Sobral/CE essas frequências foram superiores a 80%.

**Tabela 19.** Aceitabilidade sensorial obtida para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o armazenamento dos produtos a  $4\pm 1$  °C, com consumidores de Sobral/CE e de São Paulo/SP.

Local da análise	Queijos simbióticos*	Dias		
		7	14	21
Sobral/CE	QCS	7,15 ± 0,98 <sup>Aa</sup>	6,80 ± 1,28 <sup>Ba</sup>	7,05 ± 1,39 <sup>#Aa</sup>
	QVS	7,50 ± 1,41 <sup>Aa</sup>	7,65 ± 0,92 <sup>Aa</sup>	7,50 ± 1,01 <sup>Aa</sup>
São Paulo/SP	QCS	-	5,95 ± 1,97 <sup>Ba</sup>	5,75 ± 1,67 <sup>#Ba</sup>
	QVS	-	7,20 ± 1,19 <sup>Aa</sup>	7,25 ± 1,00 <sup>Aa</sup>

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

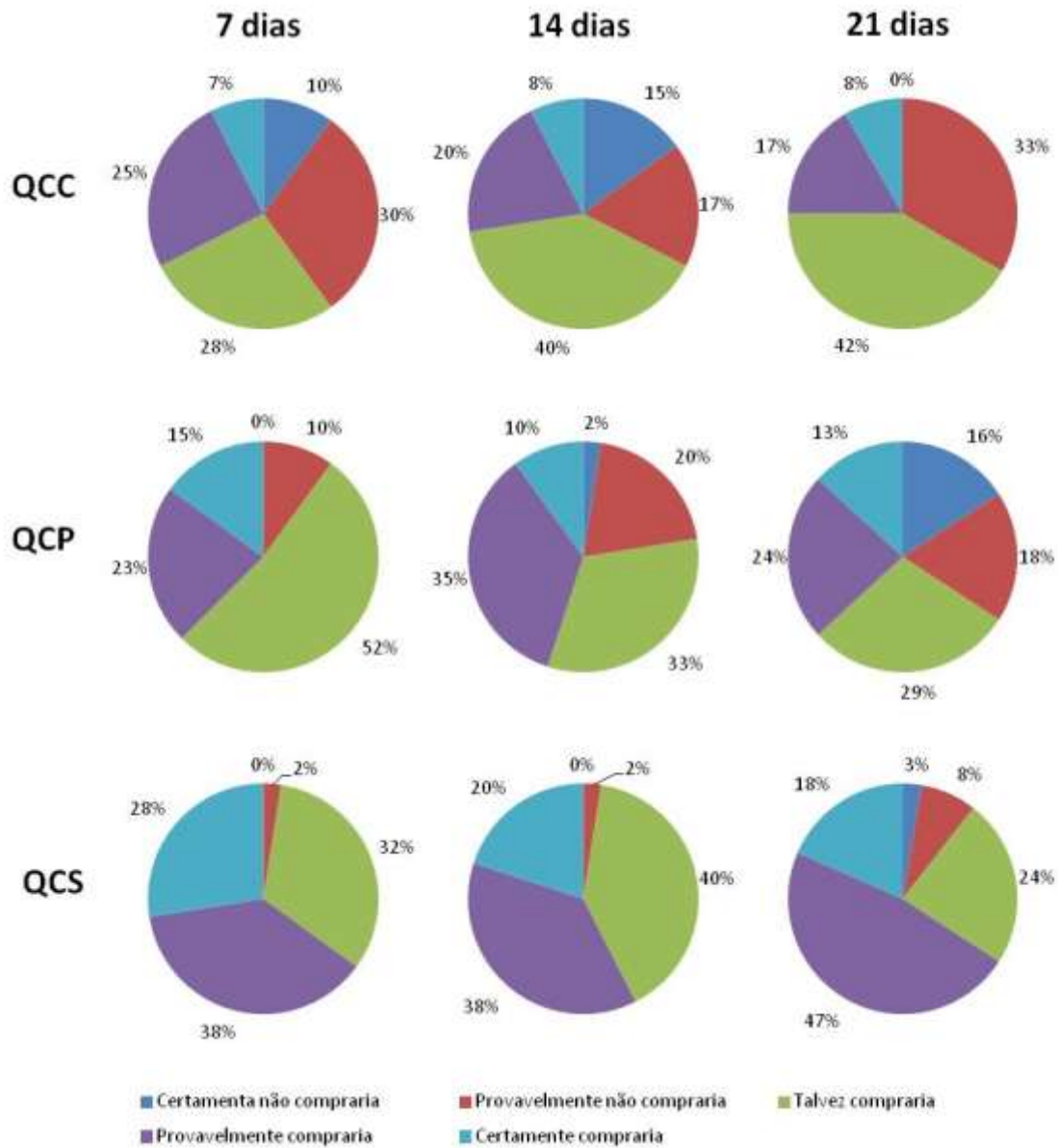
<sup>A,B</sup> letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes queijos *petit-suisse* para um mesmo dia de armazenamento em cada local de análise.

<sup>a,b</sup> letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma linhas indicam diferenças significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *petit-suisse* em cada local de análise.

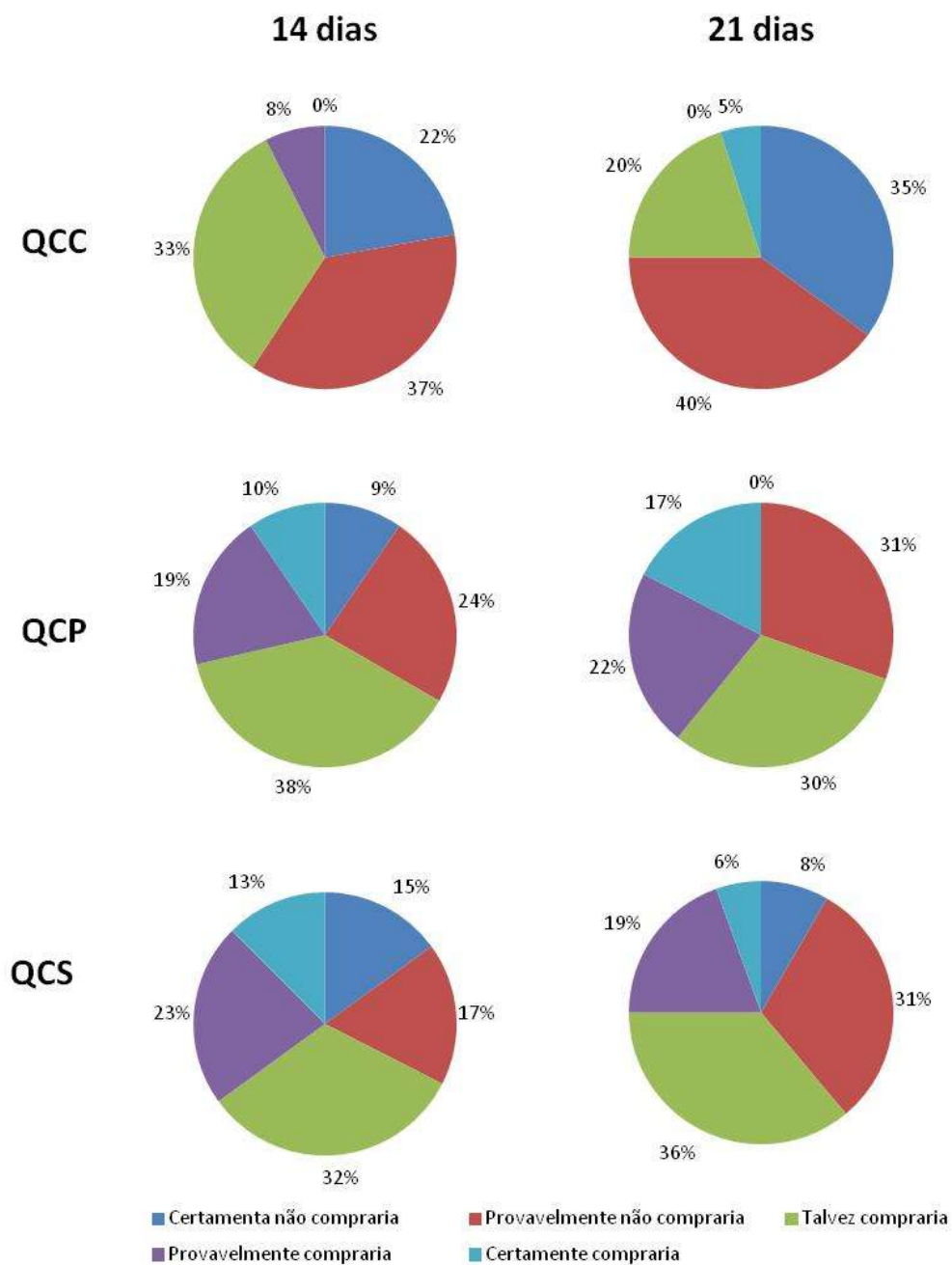
<sup>#</sup> sobrescritos indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes locais de análise para um mesmo queijo *petit-suisse* e período de armazenamento.

- = não avaliado

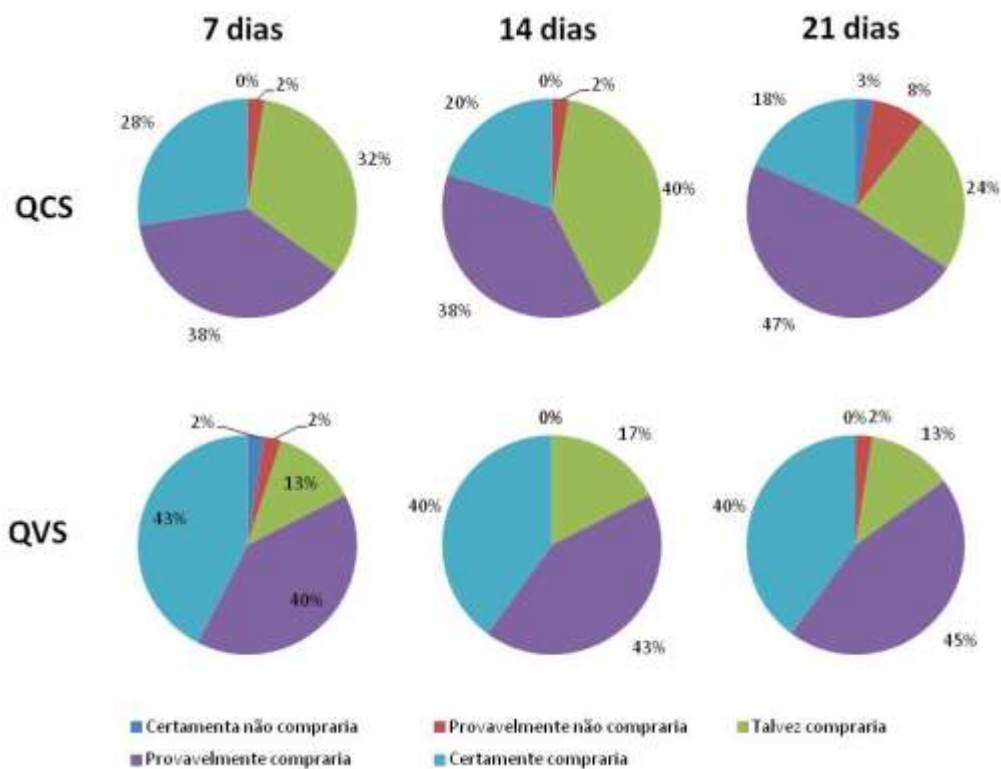
Em relação aos atributos sensoriais citados pelos consumidores durante a realização das avaliações sensoriais (Tabela 20), pode-se observar uma maior tendência a citações dos atributos sabor e textura, em ambas as localidades avaliadas. Foram observados que, para o queijo QCS, os atributos sabor e textura foram os que tenderam a maiores frequências de apreciação para a localidade de Sobral, seguido da textura para o queijo QCP e sabor para o queijo QCC.



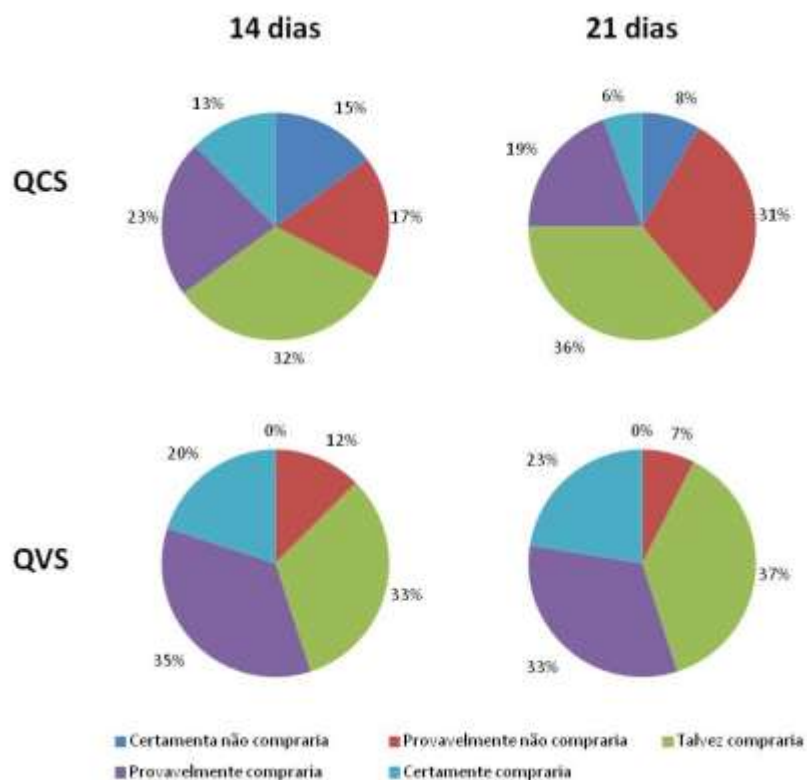
**Figura 10.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) obtidos nos testes sensoriais realizados em Sobral/CE. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.



**Figura 11.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) obtidos nos testes sensoriais realizados em São Paulo/SP. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.



**Figura 12.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) obtidos nos testes sensoriais realizados em Sobral/CE. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.



**Figura 13.** Frequência das intenções de compra dos queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS) obtidos nos testes sensoriais realizados em São Paulo/SP. Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

**Tabela 20.** Frequência das citações dos atributos sensoriais obtida para os queijos *petit-suisse* caprinos controle (QCC), probiótico (QCP) e simbiótico (QCS), durante o seu armazenamento a  $4\pm 1$  °C, para os diferentes locais onde a análise foi realizada (Sobral/CE e São Paulo/SP).

Atributo sensorial	Classificação	Sobral/CE			São Paulo/SP		
		Queijos caprinos*			Queijos caprinos*		
		QCC	QCP	QCS	QCC	QCP	QCS
Sabor	Mais apreciado	36,54	32,20	50,85	36,17	45,45	25,00
	Menos apreciado	25,00	35,59	26,27	42,55	34,09	51,32
	Indiferente**	38,46	32,20	22,88	21,28	20,45	23,68
Textura	Mais apreciado	20,19	50,00	56,78	17,02	34,09	40,79
	Menos apreciado	50,00	34,75	25,42	51,06	18,18	25,00
	Indiferente**	29,81	15,25	17,80	31,91	47,73	34,21
Aparência	Mais apreciado	17,31	12,71	11,02	25,53	6,82	10,53
	Menos apreciado	32,69	17,80	27,12	14,89	34,09	13,16
	Indiferente**	50,00	69,49	61,86	59,57	59,09	76,32
Aroma	Mais apreciado	8,65	14,41	5,93	6,38	0,00	0,00
	Menos apreciado	2,88	0,85	1,69	6,38	0,00	1,32
	Indiferente**	88,46	84,75	92,37	87,23	100,00	98,68

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCC, QCP e QCS.

\*\*Para todas as sessões de cada localidade, corresponde à frequência das fichas em que o atributo não foi citado.

A aparência foi o atributo que, quando citado, apresentou uma menor apreciação em todos os queijos (Figura 14), em ambas as localidades. O queijo que foi menos apreciado pelos consumidores de Sobral/CE foi o QCC, enquanto que em São Paulo/SP foi o queijo QCP. Essa menor apreciação do atributo aparência está relacionada à cor do produto, considerada pelos consumidores como “parece chocolate” ou “não tem cor de açaí”, descaracterizando um produto de açaí. De fato, os consumidores esperavam a cor roxo-azulado, semelhante à polpa de açaí e creme de açaí (açaí na tigela). As mesmas dificuldades quanto a aparência de produtos simbióticos foi observado por BURITI, CASTRO e SAAD (2010a), onde foi observada a menor apreciação da aparência de musses de goiaba por parte dos provadores, devido a palidez e aparência não característica de produtos de goiaba, onde os provadores

esperavam receber um produto com coloração vermelha semelhante a polpa de goiaba.



**Figura 14.** Aparência geral dos queijos *petit-suisse* servidos aos consumidores nas análises sensoriais.

Durante os testes de desenvolvimento do produto, foi estudada a adição de corante artificial para conferir coloração roxa ao produto, o que não influenciou nas populações de *L. paracasei* (dados não mostrados). No entanto, o corante Carmim Germinal<sup>®</sup> (Germinal<sup>®</sup>), utilizado nos testes, era à base de amônia. Sendo assim, procurou-se reduzir o possível perigo de ocorrência de processos alérgicos devido à adição desse corante, substituindo-se o aditivo pelo pó para gelado comestível sabor açaí (Duas Rodas), o que não foi suficiente para manter a cor roxa do produto. Entretanto, melhorou as características de sabor e aroma do produto.

A aparência, assim como o sabor é um atributo de grande importância no desenvolvimento de novos produtos. A aparência dos queijos *petit-suisse* do presente estudo pode ter sido prejudicada, devido à instabilidade das antocianinas frente complexidade da matriz alimentícia dos queijos *petit-suisse*. As antocianinas são flavonoides responsáveis pela coloração vermelha, azul e violeta do açaí (ALMEIDA et al., 2008; CRUZ, 2008). Sabe-se que as antocianinas são facilmente instáveis na presença de oxigênio e de diversos carboidratos, como sacarose, glicose, lactose e frutose. Além disso, o pH do produto foi outro fator que pode ter afetado a coloração, uma vez que as



antocianinas são desestabilizadas em pH superiores a pH 4 (MARKAKIS, 1982), como foi observado em todos os queijos *petit-suisse* do presente estudo.

O probiótico adicionado nos queijos caprinos probiótico QCP e simbiótico (QCS) e queijo simbiótico de vaca (QVS) pode também ter influenciado para uma menor apreciação da aparência dos queijos *petit-suisse* estudados. Essa suposição tem como base os estudos realizados por ŚCIBISZ et al, (2012) com iogurtes probióticos adicionados com polpa de *blueberry*. Os pesquisadores concluíram que as bactérias probióticas *Lactobacillus acidophilus* La-5, *L. paracasei* LPC-37 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12, adicionadas aos iogurtes, degradaram as antocianinas. Segundo os pesquisadores, a cepa de *L. paracasei* LPC-37 foi a que mais degradou antocianinas durante o armazenamento dos produtos.

**Tabela 21.** Frequência das citações dos atributos sensoriais obtida para os queijos *petit-suisse* simbióticos de cabra (QCS) e de vaca (QVS), durante o seu armazenamento a  $4\pm 1$  °C, para os diferentes locais onde a análise foi realizada (Sobral/CE e São Paulo/SP).

Atributo sensorial	Classificação	Sobral/CE		São Paulo/SP	
		Queijos simbióticos*		Queijos simbióticos*	
		QCS	QVS	QCS	QVS
Sabor	Mais apreciado	50,85	64,17	25,00	61,25
	Menos apreciado	26,27	5,00	51,32	26,25
	Indiferente**	22,88	30,83	23,68	12,50
Textura	Mais apreciado	56,78	52,50	40,79	50,00
	Menos apreciado	25,42	8,33	25,00	28,75
	Indiferente**	17,80	39,17	34,21	21,25
Aparência	Mais apreciado	11,02	10,83	10,53	8,75
	Menos apreciado	27,12	39,17	13,16	26,25
	Indiferente**	61,86	50,00	76,32	65,00
Aroma	Mais apreciado	5,93	7,50	0,00	1,25
	Menos apreciado	1,69	2,50	1,32	7,50
	Indiferente**	92,37	90,00	98,68	91,25

\* Vide tabela 1 para a descrição dos queijos QCS e QVS.

\*\*Para todas as sessões de cada localidade, corresponde à frequência das fichas em que o atributo não foi citado.

A adição dos ingredientes prebióticos inulina e FOS pode ter influenciado positivamente para a maior apreciação do sabor para o queijo QCS

em relação aos demais. Esse fato pode ter ocorrido, uma vez que os FOS apresentam um percentual de dulçor de 30%, em comparação à sacarose (BENEO-ORAFIT, 2012), proporcionando, assim, um sabor mais doce ao queijos simbióticos. Além disso, a adição desses ingredientes contribuiu para uma textura mais firme e adesiva, o que pode ter influenciado diretamente na maior apreciação da textura para esse queijo. Pode-se observar que os queijos adicionados de probióticos (QCP e QCS) apresentaram uma textura mais agradável ao paladar dos consumidores de ambas as localidades, em comparação com o queijo controle (QCC), o qual tendeu a uma maior frequência negativa em relação a esse parâmetro.

Cepas do gênero *Lactobacillus* são apontadas como bactérias potencialmente proteolíticas (BARRANGOU et al, 2012). O processo de proteólise em queijos proporciona uma textura mais suave e de palatabilidade mais agradável. Esse fato poderia justificar a maior apreciação da textura dos queijos QCP e QCS em ambas as regiões. Diferentemente do observado no presente estudo, CARDARELLI et al, (2008b) não observaram influências significativas referentes a uma maior dureza e maior adesividade de musses de chocolate adicionados de inulina quanto à aceitabilidade sensorial. No entanto, a adição de inulina e de bactérias probióticas contribuíram para uma maior aceitabilidade do produto, como também observado no presente estudo.

## 5. CONCLUSÕES

- O presente estudo mostrou que o queijo *petit-suisse* produzidos com leite de cabra foi tecnologicamente viável, com resultados satisfatórios, uma vez que as populações de *Lactobacillus paracasei* LPC-37 nos queijos caprinos probiótico (QCP) e simbiótico (QCS) foram superior a 7,93 log UFC/g durante todo o armazenamento a 4 °C.
- As taxas de sobrevivência de *L. paracasei* na matriz dos queijos foram similares ou superiores às taxas de sobrevivência da cultura fresca após 6 horas de ensaio de simulação *in vitro* das condições gástricas e entéricas. A sobrevivência do probiótico após 6 horas de ensaio foi influenciada pela presença dos ingredientes prebióticos, com uma maior sobrevivência no início do armazenamento em QCS (com prebióticos) e no final em QCP

(sem prebióticos), com populações superiores às encontradas na cultura fresca.

- O queijo caprino simbiótico (QCS) apresentou os maiores valores de dureza, não sendo observadas diferenças entre a aceitabilidade sensorial frente ao público das duas localidades distintas, exceto em QCS, que foi menos aceito em São Paulo/SP aos 21 dias de armazenamento. Entretanto, as frequências de intenções de compra positivas foram superiores frente ao público de Sobral/CE (>65%) em comparação ao público de São Paulo (>35%);
- *Lactobacillus paracasei* LPC-37 apresentou boa capacidade de utilização dos ingredientes prebióticos e dos demais carboidratos avaliados, assim como da polpa de açaí como fonte de nutrientes para sua multiplicação;
- As populações de *L. paracasei* foram superiores no queijo simbiótico de vaca (QVS) em comparação ao queijo simbiótico de cabra (QCS). No entanto, suas taxas de sobrevivência *in vitro* foram similares às observadas no queijo QCS e, aos 28 dias, foram inferiores às observadas na cultura fresca utilizada como controle. O queijo QVS apresentou dureza similar ao queijo caprino simbiótico QCS. Entretanto, o queijo QVS foi o mais aceito em ambas as localidades, com frequências de intenção de compra positivas, sendo superiores a 80% frente aos consumidores de Sobral/CE e a 55% frente aos consumidores de São Paulo/SP;
- Os resultados revelaram que os queijos *petit-suisse* caprinos apresentam-se com matrizes alimentares adequadas para a incorporação de *L. paracasei* LPC-37, em combinação com os prebióticos inulina e FOS, com boa aceitabilidade sensorial, principalmente por parte dos consumidores de Sobral/CE.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

ADAMS, C.A. The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. **Nutrition Research Reviews**, v.23, p.37-46, 2010.

---

<sup>1</sup> De acordo com a NBR6023/2002 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT)

AFFANE, A.L.N.; FOX, G.P.; SIGGE, G.O.; MANLEY, M.; BRITZ, T.J. Simultaneous prediction of acidity parameters (pH and titratable acidity) in Kefir using near infrared reflectance spectroscopy. **International Dairy Journal**, v.21, p.896-900, 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **IX – Lista de alegações aprovadas**. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>. Acesso em: 04 out. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: Ministério da Saúde; São Paulo: Instituto Adolfor Lutz, 2005. 1018p. (Série A. Normas e manuais técnicos).

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução n.12, de 02 de janeiro de 2001**. A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em: 22 set. 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.275, de 21 de outubro de 2002**. Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação de boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/dcf7a900474576fa84cfd43fbc4c6735/RDC+N%C2%BA+275%2C+DE+21+DE+OUTUBRO+DE+2002.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 17 mai. 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.359, de 23 de dezembro de 2003**. Aprova o Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d12c9e804745947f9bf0df3fbc4c6735/RDC\\_359.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d12c9e804745947f9bf0df3fbc4c6735/RDC_359.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em: 25 out. 2012.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003**. Aprova regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c2998004bc50d62a671ffbc0f9d5b29/RDC\\_N\\_360\\_DE\\_23\\_DE\\_DEZEMBRO\\_DE\\_2003.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1c2998004bc50d62a671ffbc0f9d5b29/RDC_N_360_DE_23_DE_DEZEMBRO_DE_2003.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em: 25 out. 2012.

AGUIRRE-EZKAURIATAZA, E.J.; AGUILAR-YÁÑEZ, J.M.; RAMÍREZ-MEDRANO, A.; ALVAREZ, M.M. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. **Bioresource Technology**, v.101, p.2837-2844, 2010.

ALBUQUERQUE, I.A. **Produção e composição físico-química do leite de cabras puras e mestiças da raça Saanen no Estado do Ceará.** Fortaleza, 2009. 71p. Dissertação de Mestrado – Centro de Ciências Agrárias - Departamento de Zootecnia – Universidade Federal do Ceará.

ALFÉREZ, M.J.M.; BARRINUEVO, M.; LÓPEZ ALIAGA, I.; SANZ-SAMPELAYO, M.R.; LISBONA, F.; ROBLES, J.C. Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.451-461, 2001.

ALJEWICZ, M.; CICHOSZ, G.; LANIEWSKA-TROKENHEIM, L.; DANOWSKA-OZIEWICZ, M.; LUKASZUK-KEPKA, W. Przeżywalność *Lactobacillus paracasei* LPC-37 w serach dojrzewających typu szwajcarskiego. **ŻYWNOSĆ, Nauka Technologia, Jakość**, v.6, n.67, p.7-15, 2009.

ALLES, M.S.; ROOS, N.M.; BAKX, C.J.; LISDONK, E.V.; ZOCK, P.L.; HAUTVAST, J.G.A.J. Consumption of fructooligosaccharides does not favorably affect blood glucose and serum lipid concentrations in patients with type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.64-69, 1999.

ALMEIDA, M.H.B.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; MOURA, M.R.L.; CARVALHO, L.M.I.; FREITAS, M.C. Effect of the açai pulp on the sensorial attributes of probiotic yogurts. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v.4, n.1, p.41-44, 2009.

ALMEIDA, M.H.B.; ZOELLNER, S.S.; CRUZ, A.G.; MOURA, M.R.L.; CARVALHO, L.M.J.; FREITAS, M.C.J.; SANT'ANA, A. Potentially probiotic açai yogurt. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, n.2, p.178-182, 2008.

AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. Position of the American Dietetic Association: functional foods. **Journal of the American Dietetic Association**, v.109, p.735-746, 2009.

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

ARAI, S.; OSAWA, T.; OHIGASHI, H.; YASHIKAWA, M.; KAMINOGAWA, S.; MICHIKO WATANABE, M.; OGAWA, T.; OKUBO, K.; WATANABE, S.; NISHINO, H.; SHINOHARA, K.; ESASHI, K.; HIRAHARA, T. A mainstay of functional food science in Japan – history, present status, and future Outlook. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v.65, n.1, p.1-13, 2001.

ARVANITOYANNIS, I.S.; HOUWELINGEN-KOUKALIAROGLOU, M.V. Functional foods: a survey of health claims, pros and cons, and current legislation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.45, p.385-404, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 17.ed. Gaithersburg: AOAC, 2003. v.1, p.12.1-12.3.; v.2, p.33.1-33.88.

BARRANGOU, R.; LAHTINEN, S.J.; IBRAHIM, F.; OUWEHAND, A.C. Genus *Lactobacillus*. In: LAHTINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; WRIGHT, A.V., eds. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 2012. cap.4, p.77-96.

BARRIONUEVO, M.; ALFEREZ, M.J.M.; LOPEZ ALIAGA, I.; SANZ SAMPELAYO, M.R.; CAMPOS, M.S. Beneficial effect of goat milk on nutritive utilization of iron and copper in malabsorption syndrome. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.3, p.657-664, 2002.

BEMILLER, J.N.; HUBER, K.C. Carboidratos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.L.; FENNEMA, O.R. **Química de alimentos de Fennema**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p.75-130. (Biblioteca Artmed. Nutrição e tecnologia de alimentos).

BENEO-ORAFI. **Nutritivo e saboroso de uma maneira natural**. Disponível em:  
[http://www.beneo.com/Ingredients\\_Benefits/Nutrition\\_for\\_Humans/Prebiotic\\_Fibres/](http://www.beneo.com/Ingredients_Benefits/Nutrition_for_Humans/Prebiotic_Fibres/). Acesso em: 20 abr. 2012.

BENEVIDES, S.D. **O crescimento do setor de produção de queijos de leite de cabra no Nordeste do Brasil**. In: EMBRAPA Caprinos e Bovinos. 2011. Disponível em:  
[http://www.cnpc.embrapa.br/?pg=sala\\_imprensa&uiui=fala&id=27](http://www.cnpc.embrapa.br/?pg=sala_imprensa&uiui=fala&id=27). Acesso em: 24 abr. 2012.

BENEVIDES, S.D.; EGITO, A.S. **Orientações sobre Boas Práticas de Fabricação (BPF) para unidades processadoras de leite de cabra**. Sobral: Embrapa caprinos e ovinos, 2007. 4p. (Embrapa caprinos e ovinos Comunicado Técnico, n.76). Disponível em:  
[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/BPFleitecabra\\_000febddi7u02wx5eo006u55tpz180hh.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/BPFleitecabra_000febddi7u02wx5eo006u55tpz180hh.pdf). Acesso em: 29 jun. 2009.

BERDANIER, C.D. Fatty acids and membrane function. In: CHOW, C.K., ed. **Fatty acids in foods and their health implications**. 3.ed. New York: CRC Press, 2008. cap.27, p.693-712. (Food science and technology, 170).

BLIGH, E.G.; DRYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.53, de 29 de dezembro de 2000**. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijo “*petit-suisse*”. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo “*petit-suisse*”. Disponível em:  
<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1774>. Acesso em: 14 set. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.68, de 12 de dezembro de 2006**. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. Disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>. Acesso em: 4 dez. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria n.146, de 07 de março de 1996**. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos lácteos – Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>. Acesso em: 06 mai. 2009.

BURITI, F.C.A. **Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico**. São Paulo, 2005. 86p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; FILISETTI, T.M.C.C.; SAAD, S.M.I. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v.104, p.1605-1610, 2007.

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

BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Effects of refrigeration, freezing and replacement of milk fat by inulin and whey protein concentration on texture profile and sensory acceptance of synbiotic guava mousses. **Food Chemistry**, v.123, p.1190-1197, 2010a.

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

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

BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.57, n.4, p.373-380, 2007.

CARDARELLI, H.R. **Desenvolvimento de queijo *petit-suisse* simbiótico**. São Paulo, 2006. 133p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

CARDARELLI, H.R.; ARAGON-ALEGRO, L.C.; ALEGRO, J.H.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and

instrumental texture properties of functional chocolate mousse. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.88, p.1318-1324, 2008a.

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 symbiotic *petit-suisse* cheese. **LWT – Food Science and Technology**, v.41, p.1037-046, 2008b.

CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I.; GIBSON, G.R.; VULEVIC, J. Functional *petit-suisse* cheese: measure of the prebiotic effect. **Anaerobe**, v.13, p.200-207, 2007.

CARVALHO, A.V. **Otimização dos parâmetros tecnológicos para produção de estruturados de frutas funcionais a partir de polpa de açaí e mix de taperabá com mamão**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2007a. 65p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, n.306). Disponível em: [http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Doc\\_306\\_000gbz4wb6302wx5ok01dx9lc2sa1ek0.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Doc_306_000gbz4wb6302wx5ok01dx9lc2sa1ek0.pdf). Acesso em: 16 mai. 2011.

CÉRANTOLA, S.; KERVAREC, N.; PICHON, R.; MAGNÉ, C.; BESSIERES, M.-A.; DESLANDES, E. NMR characterisation of inulin-type fructooligosaccharides as the major water-soluble carbohydrates from *Matricaria maritime* (L.). **Carbohydrate Research**, v.339, p.2445-2449, 2004.

CHAMAGNE, C.P.; GARDNER, N.J. Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. **Food Research International**, v.41, p.539-543, 2008.

CHAMPAGNE, C.P.; ROSS, R.P.; SAARELA, M.; HANSEN, K.F.; CHARALAMPOPOULOS, D. Recommendations of the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v.149, p.185-193, 2011.

CICHOSKI, A.J.; CUNICO, C.; DI LUCCIO, M., ZITKOSKI, J.L.; CARVALHO, R.T. Efeito da adição de probióticos sobre as características de queijo prato com reduzido teor de gordura fabricado com fibras e lactato de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.214-219, 2008.

CODRON, J.-M.; GRUNERT, K.; GIRAUD-HERAUD, E.; SOLER, L.-G.; REGMI, A. Retail sector responses to changing consumer preferences: the European experience. In: REGMI, A.; GEHLHAR, M., eds. **New directions in global food markets**. Washington: United States Department of Agriculture, 2005. cap.3, p.32-46. (Agriculture Information Bulletin, n.794).

COHEN, K.O.; OLIVEIRA, M.S.P.; CHISTÉ, R.C.; PALLET, J.P.D.; MONTE, D.C. **Quantificação do teor de antocianinas totais da polpa de açaí de diferentes populações de açazeiro**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2006. 16p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n.60).

CORRÊA, S.B.M. **Desenvolvimento de manjar branco potencialmente probiótico**. São Paulo, 2006. 92p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.



CRUZ, A.G.; BURITI, F.C.A.; SOUZA, C.H.B.; FARIA, J.A.F.; SAAD, S.M.I. Queijos probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F., eds. **Probióticos e prebióticos em alimentos**: fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo: Varela, 2011a. cap.13, p.305-338.

CRUZ, A.P.G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante**. Rio de Janeiro, 2008. 88p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro.

DANISCO. **Lactobacillus paracasei LPC-37**. Brabrand: Danisco, 2007. (Technical Memorandum, 2085-1e). Disponível em: [http://ss1.spletnik.si/4\\_4/000/000/19f/153/Lpc-37%20TM.pdf](http://ss1.spletnik.si/4_4/000/000/19f/153/Lpc-37%20TM.pdf). Acesso em: 8 ago. 2010.

DESAI, A.R.; SHAH, N.P.; POWELL, I.B. Discrimination of dairy industry isolates of the *Lactobacillus casei* group. **Journal Dairy Science**, v.89, p.3345-3351, 2006.

DIAS, M.M.S. **Leite de cabra fermentado adicionado de prebiótico, probiótico e compostos bioativos destinado a idosos**. Viçosa, 2009. 123p. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal de Viçosa.

DIMENSTEIN, R.; MELO, C.U.; GARCIA, L.R.S.; LIRA, L.Q. Quantificação do retinol em leite de cabra e sua importância na alimentação infantil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, p.415-418, 2010.

DING, W.K.; SHAH, N.P. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. **Journal of Food Science**, v.72, n.9, p.446-450, 2007.

DJOUSSE, L. Biological effects of alpha-linolenic acid. In: CHOW, C.K., ed. **Fatty acids in foods and their health implications**. 3.ed. New York: CRC Press, 2008. cap.33, p.791-812. (Food science and technology, 170).

DONKOR, O.N.; NILMINI, S.L.I.; STOLIC, P.; VASILJEVIC, T.; SHAN, N.P. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. **International Dairy Journal**, v.17, p.657-665, 2007.

ENGELBREKTSON, A.; KORZENIK, J.R.; PITTLER, A.; SANDERS, M.E.; KLAENHAMMER, T.R.; LEYER, G.; KITTS, C.L. Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. **Journal of Medical Microbiology**, v.58, p.663-670, 2009.

ESPÍRITO SANTO, A.P.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M.N. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. **LWT – Food Science and Technology**, v.47, p.393-399, 2012.

ESPÍRITO SANTO, A.P.; SILVA, R.C.; SOARES, F.A.S.M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L.A.; OLIVEIRA, M.N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, v.20, p.415-422, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. In: \_\_\_\_\_. **Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evolution: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food, including powder milk with live lactic acid bacteria: Cordoba, Argentina, 1-4 October 2001: report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.** Rome: FAO, 2006. 50p. (FAO Food and Nutritional Paper, 85). Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>. Acesso em: 15 jan. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food, Ontario, Canada, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>. Acesso em: 17 jan. 2010.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; CONGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. **Funcamentals of cheese science**. Gaithersburg: AN Aspen Publication, 2000. 587p.

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

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. **Handbook of prebiotics**. Boca Raton: CRC Press, 2008. 485p.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1492-1507, 1998.

GONZÁLEZ-TOMÁS, L.; BAYARRI, S.; COSTELL, E. Inulin-enriched dairy desserts: physicochemical and sensory aspects. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4188-4199, 2009.

GUEIMONDE, A.; REYES-GAVILÁN, C.G.L.; SÁNCHEZ, B. Stability of lactic acid bacteria in foods and suplementes. In: LAHTINEN, S.; OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; WRIGHT, A.V., eds. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**. 4.ed. Boca Raton: CRC Press, 2012. cap.18, p.361-384.

GUÉRIN-DANAN, C.; CHABANET, C.; PEDONE, C.; POPOT, F.; VAISSADE, P.; BOULEY, C.; SZYLIT, O.; ANDRIEUX, C. Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, p.111-117, 1998.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, n.6, p.475-476, 494, 1973.

HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) – a phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v.4, p.11-21, 2011.

HERIGSTAD, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK, J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **Journal of Microbiological Methods**, v.44, p.121-129, 2001.

HOARAU, C.; LAGARAINÉ, C.; MARTIN, L.; VELGE-ROUSSEL, F.; LABRANCHU, Y. Supernatant of *Bifidobacterium breve* induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a Toll-like receptor 2 pathway. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.17, p.696-702, 2006.

HOLDERNESS, J.; SCHEPETKIN, I.A.; FREEDMAN, B.; KIRPOTINA, L.N.; QUINN, M.T.; HEDGES, J.F.; JUTILA, M.A. Polysaccharides isolated from açai fruit induce innate immune responses. **PLoS One**, v.6, n.2, p.1-14, 2011.

HOURAU, C.; LAFARAINÉ, C.; MARTIN, L.; VELGE-ROUSSEL, F.; LABRANCHU, Y. Supernatant of *Bifidobacterium breve* induces dendritic cell maturation, activation, and survival through a Toll-like receptor 2 pathway. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.17, p.696-702, 2006.

HUEBNER, J.; WEHLING, R.L.; HUTKINS, R.W. Functional activity of commercial probiotics. **International Dairy Journal**, v.17, p.770-775, 2007.

HUR, S.J.; LIM, B.O.; DECKER, E.A.; MCCLEMENTS, D.J. *In vitro* human digestion models for food applications. **Food Chemistry**, v.125, n.1, p.1-12, 2011.

JAHREIS, G.; VOGELSANG, H.; KIESSLING, G.; SCHUBERT, R.; BUNTE, C.; HAMMES, W.P. Influence of probiotic sausage (*Lactobacillus paracasei*) on blood lipids and immunological parameters of healthy volunteers. **Food Research International**, v.35, p.133-138, 2002.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; CRUZ, A.G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science & Technology**, v.91, n.3, p.283-308, 2011.

KHAN, R.S.; GRIGOR, J.; WINGER, R.; WIN, A. Functional food product development – opportunities and challenges for food manufacturers. **Trends in Food Science & Technology**, v.30, n.1, p.27-37, 2013.

KOLIDA, S.; GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. **Annual Review of Food Science and Technology**, v.2, p.377-393, 2011.

KOLIDA, S.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v.87, n.2, p.193-197, 2002.

MADSEN, K.; CORNISH, A.; SOPER, P.; McKAIGNEY, C.; JIJON, H.; YACHIMEC, C.; DOYLE, J.; JEWELL, L.; DE SIMONE, C. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. **Gastroenterology**, v.121, p.580-591, 2001.

MADUREIRA, A.R.; AMORIM, M.; GOMES, A.N.; PINTADO, M.E.; MALCATA, F.X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v.44, p.465-470, 2011.

MÄKELÄINEN, H.; IBRAHIM, F.; FORSSTEN, S.; JORGENSEN, P.; OUWEHAND, A.C. Probiotic cheese: development and functionality. **NutraFoods**, v.9, n.3, p.15-19, 2010.

MAKRAS, L.; VAN ACKER, G.; DE VUYST, L. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. **Applied and Environmental Microbiology**, v.71, n.11, p.6531-6537, 2005.

MANDALARI, G.; NUENO PALOP, C.; TUOHY, K.; GIBSON, G.R.; BENNETT, R.N.; WALDRON, K.W.; BISIGNANO, G.; NARBAD, A.; FAULDS, C.B. *In vitro* evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.73, p.1173-1179, 2007.

MANNING, T.S.; GIBSON, G.R. Prebiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.18, n.2, p.287-298, 2004.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: \_\_\_\_\_, ed. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. cap.6, p.163-180. (Food science and technology).

MARK-HERBERT, C. Innovation of a new product category – functional foods. **Technovation**, v.24, n.9, p.713-719, 2004.

MARTÍN-DIANA, A.B.; JANER, C.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.13, p.827-833, 2003.

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, n.2, p.386-393, 2006.

MATHARA, J.M.; SHILLINGER, U.; GUIGAS, C.; FRANZ, C.; KUTIMA, P.M.; MBUGUA, S.K.; SHIN, H.-K.; HOLZAPFEL, W.H. Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional maasai fermented milk products in Kenya. **International Journal of Food Microbiology**, v.126, p.57-64, 2008.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press, 1999. 416p.

MENAR, S.; CANDALH, C.; BAMBOU, J.C.; TERPEND, K.; CERF-BENSUSSAN, N.; HEYMAN, M. Lactic acid bacteria secrete metabolites retaining anti-inflammatory properties after intestinal transport. **Gut**, v.53, p.821-828, 2004.

MERRY, R.J.; WINTERS, A.L.; THOMAS, P.I.; MÜLLER, M., MÜLLER, T. Degradation of fructans by epiphytic and inoculated lactic acid bacteria and by plant enzymes during ensilage of normal and sterile hybrid ryegrass. **Journal of Applied Microbiology**, v.79, n.6, p.583-591, 1995.

MHONE, T.A.; MATOPE, G.; SAIDI, P.T. Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. **International Journal of Food Microbiology**, v.151, p.223-228, 2011.

MORAIS, A.R.; NOGUEIRA, M.C.S. Tratamentos primários em blocos incompletos parcialmente balanceados. I: uma solução das equações normais. **Scientia Agricola**, v.52, n.2, p.249-256, 1995.

MORELLI, L. *In vitro* selection of probiotic lactobacilli: a critical appraisal. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v.1, n.2, p.59-67, 2000.

MÜLLER, M.; STELLER, J. Comparative studies of the degradation of grass fructan and inulin by strains of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Applied Microbiology**, v.78, n.3, p.229-236, 1995.

NASCIMENTO, R.J.S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S.P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, n.2, p.498-502, 2008.

NOUIRA, W.; PARK, Y.W.; GULER, Z.; TERRILL, T. Comparison of free fatty acid composition between low-fat and full-fat goat milk cheeses stored for 3 months under refrigeration. **Open Journal of Animal Sciences**, v.1, n.2, p.17-23, 2011.

O'MAY, G.A.; MACFARLANE, G.T. Health claims associated with probiotics. In: TAMIME, A.Y., ed. **Probiotic dairy products**. Oxford: Blackwell Publishing, 2005. p.138-150.

OHLSON, K.; BJÖRNEHOLM, S.; FONDÉN, R.; SVENSSON, U. Lactobacillus F19 – a probiotic strain suitable for consumer products. **Microbial Ecology in Health and Disease**, v.14, n.1, p.27-32, 2002.

PADILHA, M. **Queijo *petit-suisse* probiótico e simbiótico**: características tecnológicas e emprego de técnica dependentes e independentes de cultivo na avaliação da sobrevivência dos probióticos no produto e em ensaios de sobrevivência *in vitro*. São Paulo, 2013. 121p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

PAINEAU, D.; CARCANO, D.; LEYER, G., DARQUY, S.; ALYANAKIAN, M.A.; SIMONEAU, G.; BERGMANN, J.F., BRASSART, D.; BORNET, F.; OUWEHAND,

A.C. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v.53, n.1 p.107-113, 2008.

PALMQUIST, D.L.; JENSEN, R. Fatt acids in milk fat. In: CHOW, C.K., ed. **Fatty acids in foods and their health implications**. 3.ed. New York: CRC Press, 2008. cap.6, p.109-125. (Food science and technology, 170).

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

PAULA, C.M. **Utilização de bactérias do grupo *Lactobacillus casei* no desenvolvimento de sorvete potencialmente probiótico de leite de cabra e polpa de cajá (*Spondias mombin*)**. São Paulo, 2012. 121p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

PAULA, C.M.; SANTOS, K.M.O.; SILVA, M.T.M.; OLIVEIRA, J.S.; PEREIRA, S.C. **Processamento de creme de leite de cabra padronizado pasteurizado**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2011. 4p. (Embrapa Caprinos e Ovinos Comunicado Técnico, n.124). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/919893>. Acesso em: 15 jan. 2012.

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

PÉREZ-CONESA, D., LÓPEZ, G.; ROS, G. Effects of probiotic, prebiotic and sybiotic follow-up infant formulas on large intestine morphology and bone mineralisation in rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.1059-1068, 2007.

PINEIRO, M.; STANTON, C. Probiotic bacteria: legislative framework – requirements to evidence basis. **Journal of Nutrition**, v.137, p.850–853, 2007.

PRETER, V.D.; HAMER, H.M.; WINDEY, K.; KRISTIN, V. The impact of pre-and/or probiotics on human colonic metabolism: does it affect human health? **Molecular Nutrition & Food Research**, v.55, p.46-57, 2011.

QUEIROGA, R.C.R.E.; COSTA, R.G. Qualidade do leite caprino. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONSERVAÇÃO DE RECURSOS GENÉTICOS – Raças nativas para o semi-árido, 1., 2004, Recife. **Anais**. Recife, 2004. p.161-171.

RACHIMILEWITZ, D.; KATAKURA, K.; KARMELU, F.; HAYASHI, T.; REINUS, C.; RUDENSKY, B.; AKIRA, S.; TAKEDA, K.; LEE, J.; TAKABAYASHI, K.; RAZ, E. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects probióticos in murine experimental colitis. **Gastroenterology**, v.126, p.520-528, 2004.

RADA, V.; NEVORAL, J.; TROJANOVA, I.; TOMÁNKOVÁ, E.; ŠMEHILOVÁ, M.; KILLER, J. Growth of faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in *in vitro* conditions. **Anaerobe**, v.14, p.205-208, 2008.

RAMIREZ-FARIAS, C.; SLEZAK, K.; FULLER, Z.; DUCAN, A.; HOLTROP, G.; LOUIS, P. Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. **British Journal of Nutrition**, v.101, p.541-550, 2009.

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v.43, p.1-7, 2010.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P.; GUILLET, I.; CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: an update. **Small Ruminant Research**, v.79, p.57-72, 2008.

RIBEIRO, A.C.; RIBEIRO, S.D.A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v.89, p.225-233, 2010.

RIBEIRO, K.M.; PEREIRA, L.C.; SOUZA, C.H.B.; SAAD, S.M.I. Particular behavior of different *Lactobacillus acidophilus* strains in *petit-suisse* cheese. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.62, p.1-7, 2012.

RICHTER, E.P.; VEDAMUTHU, E.R. Milk and milk products. In: DOWNES, F.P.; ITO, K., eds. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: APHA, 2001. p.483-495.

ROBERFROID, M.B. Caloric value of inulin and oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, suppl.7, p.1436S-1437S, 1999.

ROBERFROID, M.B. Introducing inulin-type fructans. **British Journal of Nutrition**, v.93, suppl.1, p.S13-S15, 2005.

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

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

ROCHET, V.; RIGOTTIER-GOIS, L.; SUTREN, M.; KREMENTSCKI, M.; ANDRIEUX, C.; FURET, J.; TAILLIEZ, P.; LEVENEZ, F.; MOGENET, A.; BRESSON, J.; MÉANCE, S.; CAYUELA, C. LEPLINGARD, A.; DORÉ, J. Effects of orally administered *Lactobacillus casei* DR-114 001 on the composition or activities of the dominant faecal microbiota in healthy humans. **British Journal of Nutrition**, v.95, p.421-429, 2006.

RODRIGUES, D.; ROCHA-SANTOS, T.A.P.; PEREIRA, C.I.; GOMES, A.M.; MALCATA, R.X.; FREITAS, A.C. The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. **LWT – Food Science and Technology**, v.44, p.100-108, 2011.

ROSSI, E.A.; VENDRAMINI, R.C.; CARLOS, I.Z.; OLIVEIRA, M.G.; VALDEZ, G.F. Efeito de um novo produto fermentado de soja sobre os lípidos séricos de homens adultos normocolesterolêmicos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 53, p. 47-51, 2003.

ROSSI, E.A.; VENDRAMINI, R.C.; CARLOS, I.Z.; PEI, Y.C.; VALDEZ, G.F. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties. **European Food Research Technology**, v.209, p.305-307, 1999.

RYU, S.I.; KIM, B.G.; PARK, M.S.; LEE, Y.B.; LEE, S.B. Evaluation of enhanced hygroscopicity, bifidogenicity, and anticariogenicity of enzymatically synthesized  $\beta$ -galactosyl-trehalose oligosaccharides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.4184-4188, 2007.

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

SAAD, S.M.I.; BEDANI, R.; MAMIZUKA, E.M. Benefícios à saúde dos probióticos e prebióticos. In: SAAD, S.M.I.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F., eds. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo: Varela, 2011. cap.2, p.51-84.

SANABRIA, N.; SANGRONIS, E. Caracterización del acai o manacá (*Euterpe olerácea* Mart.): un fruto del Amazonas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.57, n.1, p.94-98, 2007.

SANTINI, M.S.; KOGA, E.C.; ARAGON, D.C.; SANTANA, E.H.; COSTA, M.R.; COSTA, G.N.; ARAGON-ALEGRO, L.C. Dried tomato-flavored probiotic cream cheese with *Lactobacillus paracasei*. **Journal of Food Science**, v.77, n.11, p.M604-M608, 2012.

SANTOS, K.M.O.; BOMFIM, M.A.D.; VIEIRA, A.D.S.; BENEVIDES, S.D.; SAAD, S.M.I.; BURITI, F.C.A.; EGITO, A.S. Probiotic caprine coalho cheese naturally enriched in conjugated linoleic acids a vehicle for *Lactobacillus acidophilus* and beneficial fatty acids. **International Dairy Journal**, v.24, n.2, p.107-112, 2012.

SANTOS, K.M.O.; EGITO, A.S.; BURITI, F.C.A.; VIEIRA, A.D.S. Agregação de valor ao leite de cabra através da elaboração de queijo cremoso potencialmente probiótico. In: XIMENES, L.J.F.; MARTINS, G.A.; MORAIS, O.R.; COSTA, L.S.A.; NASCIMENTO, J.L.S. **Ciência e tecnologia na pecuária de caprinos e ovinos**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2010a. cap.18, p.439-458 (BNB Ciência e Tecnologia, v.5).

SANTOS, K.M.O.; EGITO, A.S.; VIEIRA, A.D.S.; BURITI, F.C.A.; BENEVIDES, S.D.; LAGUNA, L.E. **Processamento de queijo caprino cremoso probiótico adicionado de *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus***. Sobral: Embrapa caprinos e ovinos, 2010b. 5p. (Embrapa caprinos e ovinos. Comunicado Técnico, n.118). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/880105>. Acesso em: 30 jan. 2011.

SANTOS, K.M.O.; VIEIRA, A.D.S.; BENEVIDES, S.D.; LAGUNA, L.E.; EGITO, A.S.; BURITI, F.C.A. **Processo de fabricação de queijo Minas Frescal probiótico elaborado com leite de cabra**. Sobral: Embrapa caprinos e ovinos, 2009a. 7p. (Embrapa caprinos e ovinos. Comunicado Técnico, n.104). Disponível



em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/748022>. Acesso em: 07 jan. 2010.

SANTOS, K.M.O.; VIEIRA, A.D.S.; BURITI, F.C.A.; LAGUNA, L.E.; EGITO, A.S. Elaboração de queijo caprino cremoso potencialmente probiótico. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 4, 2009, João Pessoa. **Anais**. João Pessoa: EMEPA-PB/SEBRAE-PB/Embrapa Caprinos e Ovinos, 2009b. 1CD.

SANZ SAMPELAYO, M.R.; CHILLIARD, Y.; SCHMIDELY, P.; BOZA, J. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v.68, n.1/2, p.42-63, 2007.

SARKER, S.A.; SULTANA, S.; FUCHS, G.J.; ALAM, N.H.; AZIM, T.; BRÜSSOW, H.; HAMMARSTRÖM, L. *Lactobacillus paracasei* strain ST11 has no effect on Rotavirus but ameliorates the outcome of Nonrotavirus diarrhea in children from Bangladesh. **Pediatrics**, v.116, p.221-228, 2005.

SCHULZ-COLLINS, D.; SENGE, B. Acid and acid/rennet-curd cheeses. Parte A: Quark, cream cheese and related varieties. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, v.2, p.301-328, 2004. [Major Cheese Groups].

ŚCIBISZ, I.; ZIARNO, M.; MITEK, M.; ZARĘBA, D. Effect of probiotic cultures on the stability of anthocyanins in blueberry yoghurts. **LWT – Food Science and Technology**, v.49, p.208-212, 2012.

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

SHAH, N.P.; DING, W.K.; FALLOURD, M.J.; LEYER, G. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. **Journal of Food Science**, v.75, n.5, p.278-282, 2010.

SHOJAEI, Z.A.; YADOLLAHI, A. Physicochemical and microbiological quality of raw, pasteurized and UHT milks in shops. **Asian Journal of Scientific Research**, v.1, n.5, p.532-538, 2008.

SILANIKOVE, N.; LEITNER, G.; MERIN, U.; PROSSER, C.G. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v.89, p.110-124, 2010.

SILBERNAGEL, K.M.; JECHOREK, R.P.; CARVER, C.N. 3M™ Petrifilm™ Staph Express count plate method for the enumeration of *Staphylococcus aureus* in selected dairy foods: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.86, n.5, p.963-970, 2003.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVERIA, E.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análises microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2007. 552p.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: a review. **Appetite**, v.51, n.3, p.456-467, 2008.

SIVIERI, K.; BEDANI, R.; CAVALLINI, D.C.U.; ROSSI, E.A. Probiotics and intestinal microbiota: implications in colon cancer prevention. In: KONGO, J.M. ed. **Lactic acid bacteria R & D for food, health & livestock purpose**. Rijeka: Intech, 2013, Ch 9, p.217-242

SIVIERI, K.; SPINARDI-BARBISAN, A.L.T.; BARBISAN, L.F.; BEDANI, R.; PAULY, N.D.; CARLOS, I.Z.; BENZATTI, F.; VENDRAMINI, R. C.; ROSSI, E.A. Probiotic *Enterococcus faecium* CRL 183 inhibit chemically induced colon cancer in male Wistar rats. **European Food Research Technology**, v. 228, p.231-237, 2008.

SOKOL, H.; PIGNEUR, B.; WATTERLOT, L.; LAKHADARI, O.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L.G.; GRATADOUX, J.-J.; BLUGEON, S.; BRIDONNEAU, C.; FURET, J.-P.; CORTHER, G.; GRANGETTE, C.; VASQUEZ, N.; POCHART, P.; TRUGNAN, G.; THOMAS, G.; BLOTTIÈRE, H.M.; DORÉ, J.; MARTEAU, P.; SEKSIK, P.; LANGELLA, P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.105, n.43, p.16731-16736, 2008.

SOUZA, C.H.B.; SAAD, S.M.I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yogurt 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.

SOUZA, M.O.; SILVA, M.; SILVA, M.E.; OLIVEIRA, R.P.; PEDROSA, M.L. Diet supplementation with acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. **Nutrition**, v.26, p.804-810, 2010.

SRISUVOR, N.; CHINPRAHAST, N.; PRAKITCHAIWATTANA, C.; SUBHIMAROS, S. Effects of inulin and polydextrose on physicochemical and sensory properties of low-fat set yoghurt with probiotic-cultured banana purée. **LWT – Food Science and Technology**, v.51, p.30-36, 2013.

SU, P.; HENRIKSSON, A.; MITCHELL, H. Prebiotics enhance survival and prolong the retention period of specific probiotic inocula in an *in vivo* murine model. **Journal of Applied Microbiology**, v.103, p.2392-2400, 2007.

SULLIVAN, A.; PALMGRE, A.; NORD, C.E. Effect of *Lactobacillus paracasei* on intestinal colonization of *Lactobacilli*, *Bifidobacteria* and *Clostridium difficile* in elderly persons. **Anaerobe**, v.7, p.67-70, 2001.

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

TANNOCK, G.W.; MUNRO, K.; BIBILONI, R.; SIMON, M.A.; HARGREAVES, P.; GOPAL, P.; HARMSSEN, H.; WELLING, G. Impact of consumption of

oligosaccharide-containing biscuits on the fecal microbiota of humans. **Applied and Environmental Microbiology**, v.70, n.4, p.2129-2136, 2004.

TOTON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M.D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, p.444-450, 2009.

TRAUTVETTER, U.; DITSCHIED, B.; KIEHNTOFF, M.; JAHREIS, G.A combination of calcium phosphate and probiotics beneficially influences intestinal lactobacilli and cholesterol metabolism in humans. **Clinical Nutrition**, v.31, n.2, p.230-237, 2012.

TSAI, Y.-T.; CHENG, P.C.; FAN, C.-K.; PAN, T.-M. Time-dependent persistence of enhanced immune response by a potential probiotic strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101. **International Journal of Food Microbiology**, v.128, p.219-225, 2008.

VASCONCELOS, B.G. **Desenvolvimento de mix de açaí probiótico, prebiótico e simbiótico**. São Paulo, 2010. 96p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

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

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, n.3, p.267-272, 2001.

VEMURI, M.; KELLEY, D.S. The effect of dietary fatty acids on lipid metabolism. In: CHOW, C.K., ed. **Fatty acids in foods and their health implications**. 3.ed. New York: CRC Press, 2008. cap.23, p.591-630. (Food science and technology, 170).

VIEIRA, A.D.S.; BURITI, F.C.B.; SILVA, L.M.F.; EGITO, A.S.; SANTOS, K.M.O. Características físico-químicas e avaliação sensorial de queijo Minas frescal caprino potencialmente probiótico. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 4, 2009, João Pessoa. **Anais**. João Pessoa: EMEPA-PB/SEBRAE-PB/Embrapa Caprinos e Ovinos, 2009. 1CD.

VIEIRA, A.D.S.; PADILHA, M.; MARTINEZ, R.C.R.; SILVA, L.M.F.; SAAD, S.M.I.; SANTOS, K.M.O. Viability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 in goat Minas fresh cheese and its survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.47, supl.1, p.52, 2011. [XVI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2011, São Paulo].

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

VINDEROLA, G.; PROSELLO, W.; MOLINARI, F. GHIBERTO, D. REINHEIMER, J. Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. **International Journal of Food Microbiology**, v.135, p.171-174, 2009.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J.T.M.; GEURTS, T.J. **Dairy science and technology**. 2.ed. Boca Raton: CRS Press, 2006. 763p. (Food science and technology, 146).

WANG, J.; GUO, Z.; ZHANG, Q.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, X.-M.; ZHANG, H.-P. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.6, p.2468-2476, 2009.

WANG, W.; BAO, Y.; HENDRICKS, G.M.; GUO, M. Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats' milk yoghurt using polymerized whey protein as a co-thickening agent. **International Dairy Journal**, v.24, p.113-119, 2012.


WATSON, D.; MOTHERWAY, M.O.'C.; SCHOTERMAN, M.H.C.; NEERVEN, R.J.J.V.; NAUTA, A.; SINDEREN, D.V. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v.114, p.1132-1146, 2012.

XANTHOPOULOS, V.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; TZANETAKIS, N. Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant faeces as dietary adjuncts. **Food Microbiology**, v.17, p.205-215, 2000.

YUYAMA, L.K.O.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA FILHO, D.F.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M.J.; FÁVARO, D.I.T.; VASCONCELLOS, M.B.A.; PIMENTEL, S.A.; CARUSO, M.S.F. Caracterização físico-química de suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazonica**, v.41, n.4, p.545-552, 2011.

ZACARÍAS, M.F.; BINETTI, A.; LACO, M.; REINHEIMER, J.; VINDEROLA, G. Preliminary technological and potential probiotic characterization of bifidobacteria isolated from breast milk for use in dairy products. **International Dairy Journal**, v.21, n.8, p.548-555, 2011.

## Anexo 1. Ofício de aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
 Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

**PARECER CONSUBSTANCIADO**

Parecer CEP/FCF/109/2011  
 Protocolo CEP/FCF/583  
 CAAE: 0027.0.018.018-11

**I – Identificação:**

Projeto de Pesquisa:	Desenvolvimento de queijo caprino tipo petit-suisse simbiótico com polpa de açaí
Pesquisador Responsável:	Profa. Dra. Susana Marta Isay Saad
Pesquisador Co-responsável:	Antônio Diogo Silva Vieira
Instituição:	Faculdade de Ciências Farmacêuticas – FCF- USP

**II - Sumário Geral do Protocolo:**

A preocupação constante com a qualidade de vida faz com que haja especial atenção à alimentação, possibilitando a inclusão de alimentos com propriedades funcionais benéficas para a saúde, tais como os produtos lácteos com ação funcional. A adição de culturas probióticas e de ingrediente prebiótico, torna o alimento mais atrativo, potencialmente saudável, podendo ser apreciado pela maioria da população.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo desenvolver queijo petit-suisse com polpa de açaí com micro-organismos prebióticos e leite de cabra, comparando-o ao produzido com leite de vaca. Serão preparadas 4 formulações distintas, sendo avaliadas as características microbiológicas, textura, parâmetros físico-químicos e de composição centesimal do produto e a aceitabilidade sensorial frente aos diferentes períodos de armazenamento, por até 28 dias.

**Os objetivos do presente estudo são:**

O projeto pretende desenvolver queijo petit-suisse a partir de leite de cabra e polpa de açaí processado com a cultura probiótica de *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 e prebiótico inulina; avaliar a viabilidade bacteriana e as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do produto ao longo de tempo de vida de prateleira e, comparar o produto simbiótico de cabra com o similar obtido de leite de vaca.

**Descrição da Casuística:**

Será realizada a análise sensorial das formulações constantes no projeto, em duas etapas e em duas regiões distintas do país, sendo uma na EMBRAPA em Sobral, CE, e outra no laboratório de Análise Sensorial da FCF-USP/SP, por período entre 7 e 21 dias. A análise será realizada em blocos de 40 a 50 provadores não treinados, utilizando-se uma escala de hedônica de 9 pontos e,

Página 1

Av. Prof. Lineu Prestes, nº 880, Bloco 13 A - Cidade Universitária - CEP 05508-900 - São Paulo - SP  
 Fone: (11) - 3091-3822 - Fone / Fax: (11) 3091-3877 - e-mail: cegf@usp.br

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO****FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS**  
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP


avaliando também a intenção de compra por parte do indivíduo. Para a primeira etapa, estima-se de 50 a 600 voluntários adultos (provedores não treinados) de ambos os sexos, podendo ser estagiários e funcionários da Embrapa Caprinos e Ovinos e, na segunda etapa, de 40 a 320 voluntários adultos (provedores não treinados) de ambos os sexos, entre alunos de graduação e de pós-graduação, docentes e funcionários da Universidade de São Paulo.

**III – Situação do Protocolo:** APROVADO em reunião de 01 de julho de 2011.

Cabe ao pesquisador:

- Comunicar ao CEP:
  - A ocorrência de efeitos colaterais e ou de reações não esperadas;
  - Eventuais modificações no projeto aguardando a apreciação e aprovação do CEP;
  - A interrupção do projeto;
- Apresentar relatório parcial em jan/2012 e relatório final em julho/2013.

São Paulo, 04 de julho de 2011.



Prof. Dra. Mariza Landgraf  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
CEP/FCF/USP

**Anexo 2.** Modelo da ficha de avaliação sensorial utilizada nas análises do presente trabalho.

### Ficha de Teste de Aceitação e Intenção de Compra

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Amostra: \_\_\_\_\_

Você está recebendo uma amostra codificada de queijo *petit-suisse* com polpa de açaí. Por favor, prove a amostra e avalie de maneira geral (aparência, sabor e textura), utilizando a escala abaixo:

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

Cite a característica que você **mais** gostou na amostra: ☺ \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_


Cite a característica que você **menos** gostou na amostra: ☹ \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Indique, em relação ao produto avaliado qual seria sua INTENÇÃO DE COMPRA:**

- ( ) certamente eu compraria
- ( ) provavelmente eu compraria
- ( ) talvez eu compraria
- ( ) provavelmente eu não compraria
- ( ) certamente eu não compraria

### Anexo 3. Modelo do Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento



Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE**

**1. INFORMAÇÕES DO SUJEITO DA PESQUISA**

Nome:			
Documento de Identidade nº:		Sexo: ( ) M ( ) F	
Data de Nascimento: / /			
Endereço:		Nº	Complemento:
Bairro:	Cidade:	Estado:	
CEP:	Telefones:		

**2. DADOS SOBRE A PESQUISA**

Título do Projeto de Pesquisa: <i>Desenvolvimento de queijo caprino tipo petit-suisse simbiótico com polpa de açaí</i>	
Duração da Pesquisa: 2 anos; Análise sensorial – 1 ano	
Nome do pesquisador responsável: Prof <sup>a</sup> . Dr <sup>a</sup> . Susana Maria Isay Saad	
Cargo/ Função: Professora Associada	Nº do Registro do Conselho Regional: CRF - 8. 9541
Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP	

Eu, Dra. Susana Marta Isay Saad (Professora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – FCF-USP), pesquisadora responsável por esse projeto de pesquisa, e os demais participantes desse projeto, Antônio Diogo Silva Vieira (Mestrando da FCF-USP) e Dra Karina Maria Olbrich dos Santos (Pesquisadora da EMBRAPA Caprinos e Ovinos), vimos lhe convidar para participar da análise sensorial de queijo de leite de cabra tipo *petit-suisse* com polpa de açaí. O desenvolvimento deste produto é feito pelo mestrando Antônio Diogo Silva Vieira, sob a minha orientação.

Bactérias benéficas (probióticos) e fibras alimentares prebióticas são considerados aditivos alimentares que exercem efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal. Queijos de leite de cabra são alimentos que surgem com um grande potencial para uso como veículo de micro-organismos benéficos, com a vantagem de serem alimentos de alto valor nutricional e de fácil digestão. O açaí é um fruto de alto valor energético e nutricional de grande aceitação por pessoas de todas as idades e que, também, contém propriedades benéficas, por conterem gorduras insaturadas essenciais e alto teor de antioxidantes. O queijo *petit-suisse* é um produto lácteo de ampla aceitação, por ser um produto de sabor e textura agradáveis ao paladar, além de ser um produto para diversificar o uso e introdução do leite de cabra na alimentação da população brasileira. O produto foi elaborado e acondicionado, de acordo com as Boas Práticas de Fabricação de Alimentos, na Unidade de Processamento de Produtos Lácteos e Laboratório de Ciência de Alimentos da EMBRAPA Caprinos e Ovinos, em Sobral (CE) e/ou nos laboratórios do Departamento de Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica FCF/USP. Caso você tenha interesse em participar, acomode-se junto a uma das cabines do Laboratório de Análise Sensorial.

O produto a ser avaliado nesta análise pode possuir quatro formulações diferentes. As quatro formulações serão constituídas por queijo quark (leite de cabra e/ou leite de vaca, fermento lácteo, cloreto de cálcio e coagulante), polpa de açaí, goma guar, goma xantana, goma xantana, creme de leite de cabra e/ou creme de leite de vaca, inulina e microrganismos que contribuem com a função intestinal (*Lactobacillus paracasei* Lpc- 37). Todos os ingredientes da formulação são utilizados em produtos disponíveis para consumo humano, ou seja, são de grau alimentício.

Para participar desta análise, você: **deve ter entre 18 e 60 anos**; não possuir histórico de manifestação de alergia, intolerância ou outro tipo de restrição (como doença crônica ou tratamento médico com uso de medicamentos que podem interagir) com os ingredientes; não deve estar gripado, resfriado ou indisposto ou ter entrado em contato com materiais, alimentos ou cosméticos de cheiro forte. Atendendo a essas condições você poderá participar da análise sensorial do queijo de leite de cabra tipo *petit-suisse* com polpa de açaí.

Você receberá uma amostra e uma ficha de avaliação e intenção de compra. A amostra contém aproximadamente 20 g. Prove a amostra e registre na ficha sua opinião com relação ao produto de uma maneira geral e sua intenção de compra fazendo um "x" em um lugar na escala de 1 a 9, onde, 1 = gostei muitíssimo e 9 = gostei muitíssimo e em algum lugar da intenção de compra que variará entre certamente eu não compraria e certamente eu compraria. Em seguida, escreva o que você mais gostou e o que menos gostou na amostra.





Universidade de São Paulo  
Faculdade de Ciências Farmacéuticas

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

Os riscos desse estudo são mínimos. Pelo fato do queijo de leite de cabra tipo *peiti-meizre* com polpa de açaí possuir, em sua composição, microrganismos que auxiliam na função intestinal, que são ingredientes reconhecidamente seguros, os possíveis desconfortos são mínimos. Adicionalmente, não foram encontradas evidências de risco específico ou desconforto relacionado à análise sensorial em estudos deste tipo.

Não há nenhum benefício direto. Porém, você contribuirá para o desenvolvimento de alimentos com características sensoriais adequadas às expectativas de futuros consumidores.

Caso você não queira continuar participando da pesquisa, a qualquer momento você pode desistir, sem que haja qualquer penalidade. Havendo qualquer dúvida com relação aos procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa você deve comunicar ao grupo de pesquisa a qualquer momento. É assegurado que todas as informações pessoais serão confidenciais, o sigilo e privacidade também são garantidos, mesmo que os resultados sejam publicados em periódicos científicos.

Serão adotadas cuidados especiais para evitar que indivíduos subordinados ou diretamente ligados ao pesquisador se sintam obrigados a participarem do estudo.

Não haverá remuneração financeira aos participantes das análises sensoriais.

Caso haja alguma intercorrência clínica ou reação adversa, que esteja relacionada com o produto, você poderá procurar a Santa Casa de Misericórdia de Sobral, Rua Antônio Crisóstomo de Melo, 919 – Centro – Sobral/CE, CEP 62010-550. Telefone: (88) 3677-1930, caso você esteja participando do estudo na Empresa Caprinos e Ovinos em Sobral/CE ou o Hospital Universitário – USP, Av. Lineu Prestes, 2565 - São Paulo – SP, CEP 05508-900. Telefone: (11) 3091-9200, caso você esteja participando do estudo na Faculdade de Ciências Farmacéuticas -USP São Paulo/SP ou entrar em contato com o nosso grupo de pesquisa: **Antônio Diogo Silva Vieira** e **Susana Marta Isay Saad** na Faculdade de Ciências Farmacéuticas – Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacéutica, Av. Prof. Lineu Prestes, 580 CEP 05508-000 São Paulo-SP. Telefone: (11) 3091-2379 e **Karina Maria Othrich dos Santos** na Empresa Caprinos e Ovinos, Estrada Sobral-Ocruiras Km 04, CEP 62030-970 Sobral-CE. Telefone: (88) 3112-7444.

### 3. CONSENTIMENTO PÓS ESCLARECIMENTO

“Estou ciente do objetivo do teste, não apresento reação alérgica ou intolerância aos ingredientes, tenho entre 18 e 60 anos, não tenho nenhuma doença crônica (como diabetes, hipotireoidismo, hipertireoidismo, hipertensão ou outras), não estou fazendo tratamento médico (tomando algum medicamento que possa interferir no paladar) e aceito participar dessa análise.”

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, concito em participar do presente Protocolo de Pesquisa.

\_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do sujeito de pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador responsável  
Susana Marta Isay Saad

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador Co-responsável  
Antônio Diogo Silva Vieira

Para qualquer questão, dúvida, esclarecimento ou reclamação sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas da Faculdade de Ciências Farmacéuticas da Universidade de São Paulo – Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 13A – Butantã – São Paulo – CEP 05508-900. Fone: 3091-3622, fone-fax: 3091-3677 – e-mail: [cepfcf@usp.br](mailto:cepfcf@usp.br)

**Anexos 4.** Informação nutricional dos queijos *petit-suisse* caprino (QCC, QCP e QCS), seguindo as normas da AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a,b; 2008).

**Queijo *petit-suisse* caprino controle (QCC)**

Informação Nutricional		
Porção de 50g(1 potinho)		
Quantidade por Porção		%VD(*)
Valor energético(kcal)	72	3,6
Carboidratos(g)	8,3	2,8
Proteínas(g)	5,0	6,6
Gorduras Totais(g)	2,1	3,8
Gorduras Saturadas (g)	1,2	5,4
Fibras(g)	0,0	0,0
(*) Valores Diários baseados numa dieta de 2000 kcal. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.		

**Queijo *petit-suisse* caprino probiótico (QCP)**

Informação Nutricional		
Porção de 50g(1 potinho)		
Quantidade por Porção		%VD(*)
Valor energético(kcal)	65	3,3
Carboidratos(g)	7,6	2,5
Proteínas(g)	4,8	6,4
Gorduras Totais(g)	1,8	3,2
Gorduras Saturadas (g)	1,0	4,5
Fibras(g)	0,0	0,0
(*) Valores Diários baseados numa dieta de 2000 kcal. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.		

**Queijo *petit-suisse* caprino simbiótico QCS**

Informação Nutricional		
Porção de 50g(1 potinho)		
Quantidade por Porção		%VD(*)
Valor energético(kcal)	70	3,5
Carboidratos(g)	7,1	2,4
Proteínas(g)	4,7	6,2
Gorduras Totais(g)	1,8	3,2
Gorduras Saturadas (g)	1,0	4,5
Fibras(g)	4,7	18,7
(*) Valores Diários baseados numa dieta de 2000 kcal. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.		

**Anexo 5.** Informação nutricional dos queijos *petit-suisse* simbiótico de vaca (QVS), seguindo as normas da AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2003a,b; 2008).

**Queijo *petit-suisse* simbiótico de vaca (QVS)**

Informação Nutricional		
Porção de 50g(1 potinho)		
Quantidade por Porção	%VD(*)	
Valor energético(kcal)	69	3,5
Carboidratos(g)	7,1	2,4
Proteínas(g)	4,5	6,0
Gorduras Totais(g)	1,8	3,2
Gorduras Saturadas (g)	1,0	4,5
Fibras(g)	4,7	18,7

(\*) Valores Diários baseados numa dieta de 2000 kcal. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas.

**Anexo 6.** Controle do pH durante os teste de sobrevivência de *Lactobacillus paracasei* nos queijos *petit-suisse* QCP, QCS e QVS submetidos às condições gástricas e entéricas simuladas *in vitro*, após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento (Veja a Tabela 1 para descrição dos queijos *petit-suisse* QCP, QCS e QVS)

Dias de armazenamento	Tempo do teste	pH		
		Queijos		
		QCP	QCS	QVS
1	0-2h	2,10±0,02	2,62±0,03	2,60±0,04
	2-4h	4,85±0,11	4,32±0,03	4,81±0,07
	4-6h	6,78±0,13	6,41±0,01	6,35±0,16
7	0-2h	2,22 ± 0,04	2,08±0,01	2,70±0,02
	2-4h	4,71±0,01	4,42±0,20	4,59±0,05
	4-6h	6,80±0,00	6,73±0,06	6,17±0,06
14	0-2h	2,27±0,11	2,61±0,08	2,28±0,02
	2-4h	4,59±0,02	4,82±0,03±	4,54±0,04
	4-6h	6,53±0,04	6,86±0,01	6,71±0,04
21	0-2h	2,23±0,03	2,19±0,03	2,23±0,05
	2-4h	4,59±0,02	4,80±0,18	4,54±0,05
	4-6h	6,82±0,15	6,69±0,01	6,63±0,05
28	0-2h	2,18±0,05	2,35±0,06	2,32±0,27
	2-4h	4,70±0,03	4,66±0,05	4,75±0,27
	4-6h	6,79±0,01	6,73±0,06	6,52±0,00

**Anexo 7.** Ingredientes utilizados na formulação do caldo MRS modificado utilizado na avaliação da capacidade de utilização de carboidratos por *Lactobacillus paracasei* LPC-37.

<b>Ingredientes</b>	<b>Quantidade em g/L</b>
Peptona bacteriológica (Oxoid)	10 g
Extrato de carne (Oxoid)	8 g
Extrato de levedura (Oxoid)	4 g
Tween 80 (Merck)	1 g
Acetato de amônio (C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> , P.A., A.C.S., Labsynth)	2 g
Sulfato de Magnésio (MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O, P.A., Merck)	0,18 g
Sulfato de Maganes (MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O, P.A., Merck)	0,05 g
Sulfato de Sódio (Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , P.A. Dinâmica)	2 g
Carbonato de Sódio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , P.A., Dinâmica)	0,2 g
Sulfato de Potácio (K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , P.A. Synth)	1,25 g
Cloreto de Cálcio (CaCl 2 H <sub>2</sub> O, P.A. Synth)	0,11 g
L-Cisteína (Sigma-Aldrich)	0,5 g
Vermelho de fenol (P.A., Vetec)	0,18 g

## Anexo 8. Ficha do aluno gerada pelo Sistema Janus-USP

05/06/13

Ficha do Aluno

**Janus** - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**

**Documento sem validade oficial**

**FICHA DO ALUNO**

9133 - 7493379/1 - Antonio Diogo Silva Vieira

**Email:** diogovieira@usp.br  
**Data de Nascimento:** 07/01/1986  
**Cédula de Identidade:** RG - 2002028090630 - CE  
**Local de Nascimento:** Estado do Ceará  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Tecnologia em Alimentos - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia - São Paulo - Brasil - 2011

**Curso:** Mestrado  
**Programa:** Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
**Área:** Tecnologia de Alimentos  
**Data de Matrícula:** 07/07/2011  
**Início da Contagem de Prazo:** 07/07/2011  
**Data Limite:** 07/01/2014  
**Orientador:** Prof(a), Dr(a), Susana Marta Isay Saad - 07/07/2011 até o presente. E-Mail: susaad@usp.br  
**Proficiência em Línguas:** Inglês, Aprovado em 07/07/2011  
**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 13/08/2012  
**Data do Depósito do Trabalho:**  
**Título do Trabalho:**  
**Data Máxima para Aprovação da Banca:**  
**Data de Aprovação da Banca:**  
**Data Máxima para Defesa:**  
**Data da Defesa:**  
**Resultado da Defesa:**  
**Histórico de Ocorrências:** Ingressou no Mestrado em 07/07/2011  
 Matrícula Regular em 14/02/2013

Aluno matriculado nas normas vigentes a partir de 01/07/2009

**Última ocorrência:** Matrícula Regular em 14/02/2013

**Impresso em:** 05/06/13 12:22:48

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**Documento sem validade oficial**

**FICHA DO ALUNO**

9133 - 7493379/1 - Antonio Diogo Silva Vieira

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
FBA5741-3/1	Química e Bioquímica de Alimentos I	18/08/2011	21/09/2011	60	4	100	A	N	Concluída
FBT5781-4/1	Culturas Probióticas: Aplicações Tecnológicas	10/10/2011	30/10/2011	60	4	100	A	N	Concluída
FBC5800-4/1	Temas Avançados em Ciências e Tecnologia Farmacêutica I	17/10/2011	23/10/2011	30	2	100	A	N	Concluída
FBT5773-6/4	Tópicos Especiais em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica	02/04/2012	10/06/2012	30	2	90	A	N	Concluída
FBA5898-6/2	Bacteriocinas e suas Aplicações em Alimentos	10/04/2012	30/04/2012	45	3	100	A	N	Concluída
PO6873-1/1	Fisiologia Microbiana (Escola Politécnica - Universidade de São Paulo)	11/06/2012	03/09/2012	120	0	0	-	N	Matrícula cancelada
EDM5102-3/1	Preparação Pedagógica PAE (Faculdade de Educação - Universidade de São Paulo)	14/08/2012	24/09/2012	60	4	100	A	N	Concluída
FBT5787-1/2	Aplicação Biotecnológica de Bactérias Láticas	15/08/2012	18/09/2012	45	3	100	A	N	Concluída
FBT5713-1/3	Biologia Molecular Aplicada à Biotecnologia Farmacêutica Industrial	01/04/2013	14/04/2013	60	4	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito da dissertação	
<b>Disciplinas:</b>	0	25	26
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	0	25	26

Créditos Atribuídos à Dissertação: 71

**Conceito a partir de 02/01/1997:**

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.

Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula Regular em 14/02/2013

Impresso em: 05/06/13 12:22:48