

**Viabilidade das culturas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* adicionadas ao Queijo de Coalho**

**Viability of probiotic cultures *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* added to the Curd Cheese**

**Viabilidad de los cultivos probióticos *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium lactis* añadidos al Queso de Coelho**

Recebido: 20/02/2019 | Revisado: 27/02/2019 | Aceito: 01/03/2019 | Publicado: 06/03/2019

**Francisco Cesino de Medeiros Júnior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3252-7830>

Centro de Ciências e Tecnologia do Maranhão – UNIFACEMA, Brasil

E-mail: [cesinocaico@yahoo.com.br](mailto:cesinocaico@yahoo.com.br)

**Irislene Costa Pereira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8993-2020>

Universidade Federal do Piauí- UFPI, Brasil

E-mail: [irislley\\_cx@hotmail.com](mailto:irislley_cx@hotmail.com)

**Karla Kaligia Silva Borba**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2378-7435>

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Brasil

E-mail: [karla\\_nutripb@yahoo.com.br](mailto:karla_nutripb@yahoo.com.br)

**Raimundo Nonato Cardoso Miranda Junior**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2937-6143>

Centro de Ciências e Tecnologia do Maranhão - UNIFACEMA, Brasil

E-mail: [jrfarmaceutico@hotmail.com](mailto:jrfarmaceutico@hotmail.com)

**Ricardo Targino Moreira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1681-8179>

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Brasil

E-mail: [Ricardo.ufpb@gmail.com](mailto:Ricardo.ufpb@gmail.com)

**Esmeralda Paranhos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0823-1634>

Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Brasil

E-mail: [esmeraldaparanhos@ig.com.br](mailto:esmeraldaparanhos@ig.com.br)

## Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a viabilidade de culturas probióticas na fabricação do queijo de Coalho. Foram utilizados três tratamentos com três repetições: queijo de Coalho adicionado *Lactobacillus acidophilus* (T1); queijo de Coalho adicionado *Bifidobacterium lactis* (T2); e queijo de Coalho tradicional, sem adição de cultura (T3). Os queijos foram analisados quanto à sua composição físico-química e sensorial a cada 7 dias até o 28º dia. O tratamento T1 apresentou contagem populacional probiótica dentro do permitido pela legislação e não houve diferenciação sensorial significativa entre os demais. Portanto, o Queijo de Coalho adicionado de *L. acidophilus* apresentou condições propícias para ser considerado uma nova alternativa de alimento probiótico.

**Palavras-chave:** Alimento funcional. Processamento. Produto regional.

## Abstract

The present study aimed to evaluate the viability of probiotic cultures in the production of Coalho cheese. Three treatments with three replicates were used: Curd cheese added *Lactobacillus acidophilus* (T1); Bocal cheese added *Bifidobacterium lactis* (T2); and traditional Curd cheese, without addition of culture (T3). The cheeses were analyzed for their physico-chemical and sensorial composition every 7 days until the 28th day. Treatment T1 presented a probiotic population count within the allowed by the legislation and there was no significant sensorial differentiation between the others. Therefore, the added Combination Cheese of *L. acidophilus* presented propitious conditions to be considered a new alternative of probiotic food.

**Keywords:** Functional food. Processing. Regional product.

## Resumen

El presente estudio objetivó evaluar la viabilidad de cultivos probióticos en la fabricación del queso de Coalho. Se utilizaron tres tratamientos con tres repeticiones: queso de Cobre añadido *Lactobacillus acidophilus* (T1); queso de Cobre añadido *Bifidobacterium lactis* (T2); y queso de Coelho tradicional, sin adición de cultivo (T3). Los quesos fueron analizados en cuanto a su composición físico-química y sensorial cada 7 días hasta el día 28. El tratamiento T1 presentó conteo poblacional probiótico dentro de lo permitido por la legislación y no hubo diferenciación sensorial significativa entre los demás. Por lo tanto, el Queso de Cobre añadido

de *L. acidophilus* apresentou condições propícias para ser considerado uma nova alternativa de alimento probiótico.

**Palabras clave:** Comida funcional. Tratamiento. Producto regional.

## 1. INTRODUÇÃO

Os compostos bioativos são substâncias contidas nos alimentos, que possuem além da qualidade nutricional, efeitos positivos à saúde humana (Sofi & Nidu, 2016). O mercado dos alimentos funcionais tem se desenvolvido de forma bastante promissora, cujas evidências teóricas e experimentais ressaltam que o motivo crucial para a escolha e consumos dos mesmos, se dá pela crescente preocupação da população com a saúde (Goetzke, Nitzko & Spiller, 2014; Martirosyan & Singh, 2015; Reynolds & Martirosyan, 2016).

A utilização de micro-organismos na elaboração de alimentos está inserida em diferentes processos, como os fermentativos, e a produção de biomoléculas que influenciam nas características nutricionais e sensoriais dos produtos (Pophaly et al., 2014). Os probióticos são micro-organismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Hill et al., 2014; Govender et al., 2014). As bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais frequentemente empregadas como suplemento probiótico em alimentos, uma vez que são isoladas das porções do trato gastrointestinal do ser humano saudável (Soccol et al., 2010; Butel, 2014).

Para que possam ter efeito probiótico, estes micro-organismos precisam resistir aos processos tecnológicos e estocagem do produto, assim como, não alterar negativamente a qualidade e ser seguro à saúde do consumidor (Favretto, Moreira & Pontin, 2013). No Brasil, a legislação estabelece que o número mínimo viável de cultura probiótica deve ser entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC por porção diária do produto que corresponde ao consumo de 100 g de um produto que contenha  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g, e que a população probiótica deve ser declarada no rótulo do produto (Brasil, 2005; Vandenplas, Huys & Daube, 2015; Silva et al., 2015; Kumar & Kumar, 2016).

Em queijos frescos a sobrevivência das bactérias probióticas é maior quando comparada aos queijos maturados, essa maior sobrevivência está relacionada às características próprias destes queijos como: menor tempo de armazenamento, baixo teor de sal e maior atividade de água, que não limitam a multiplicação das bactérias benéficas (Buriti, 2005; Favretto, Pontin & Moreira, 2013).

O Queijo de Coalho é um queijo semi-duro, de alta umidade, com textura macia e compacta, com algumas olhaduras, obtido após a coagulação do leite por meio da utilização de coalho animal ou outras enzimas coagulantes adequadas, por vezes, complementado com bactérias ácido-lácticas selecionadas, consumidos geralmente frescos (Brasil, 2001a; Bezerra et al., 2016). Estudos prévios têm mostrado que a adição de micro-organismos probióticos para alguns tipos de queijos podem melhorar as características físico-química, sensoriais e tecnológicas (Favretto, Pontin & Moreira, 2013; Minervini et al., 2012).

Neste contexto, a inovação e o desenvolvimento de novos produtos na indústria de alimentos, são estimulados a criação de novas tecnologias para a elaboração e comercialização de produtos com atividades biológicas importantes, entre elas, a probiótica, mediante a adição destas culturas iniciadoras (Bigliardi & Galati, 2013; Granato, Branco, Cruz, Faria & Shah, 2010; Saarela, Mogensen, Fondem, Mättö & Sandholm-Mattila, 2000).

Pesquisas demonstram que o queijo é uma matriz láctea de elevado potencial para a incorporação de micro-organismos probióticos, e a fim de assegurar que um número mínimo de bactérias probióticas presente no queijo, métodos de estudos sobre a enumeração e viabilidade das estirpes adicionadas, faz-se necessário (Karimi, Mortazavian & Amiri-Rigi, 2012). Este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade da incorporação de culturas probióticas *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* na elaboração do queijo de Coalho, e sua avaliação como produto lácteo com potencial funcional.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As análises do leite e dos queijos foram realizadas nos Laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimentos de Lácteos (PDLAT) e no Laboratório de Controle de Qualidade de Alimentos e de Desenvolvimento de Produtos e Análise Sensorial (LADPAS), pertencentes ao Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). As amostras de leite bovino *in natura* foram obtidas no Setor de Bovinocultura do CCHSA, e as culturas probióticas utilizadas foram obtidas do comércio, do tipo liofilizadas. Foram elaborados três tratamentos de queijo de Coalho (queijo de Coalho adicionado de *Lactobacillus acidophilus* (T1); queijo de Coalho adicionado de *Bifidobacterium lactis* (T2); e queijo de Coalho tradicional, sem adição de cultura (T3). O leite foi caracterizado quanto a sua composição centesimal de acordo com as normas da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2016) e os queijos de Coalho analisados

quanto aos parâmetros físico-químicos, microbiológicos e sensoriais nos tempos 7, 14, 21 e 28 dias, com três repetições.

Os queijos de Coalho foram elaborados segundo o protocolo proposto por Pereda et. al. (2005). O leite foi recebido e pasteurizado a 65 °C por 30 min e submetido a resfriamento a 37° C; foram adicionados o coalho líquido, o CaCl<sub>2</sub> e a cultura probiótica de acordo com o tratamento. Aguardou-se a coagulação por 45 min e procedeu-se o corte da coalhada, seguido de mexedura e dessoragem da massa. A massa recebeu 2,5 % de sal e foi colocada nas formas; procedendo-se com a prensagem manual por 4 h e após 24 horas de descanso, os queijos foram embalados à vácuo, em sacos de polietileno e armazenamento a 10 ± 1 °C por até 28 dias.

As análises físico-químicas dos queijos de Coalho T1, T2 e T3 foram realizadas no dia 1 e a cada 7 dias, até o 28° dia. As amostras foram submetidas a determinações de lipídeos, proteínas, acidez titulável (em ácido lácteo), pH, umidade, atividade de água e cinzas de acordo com os métodos descritos pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2016).

A determinação de bactérias do grupo coliformes a 35 °C e termotolerantes foram realizadas em tubos múltiplos (NMP/g), e as contagens de *Staphylococcus ssp.* (UFC/g) e pesquisa de *Salmonella* de acordo com os métodos da American Public Health Association (APHA, 2001). Os parâmetros microbiológicos de viabilidade das culturas *starter* foram determinados quanto à contagem de *Lactobacillus acidophilus* utilizando o meio Agar MRS e contagem de *Bifidobacterium lactis* utilizando Agar *bifidobacterium*, sob condições de anaerobiose por 72 horas a 35 ± 1° C, de acordo com as instruções do fabricante (*Christian Hansen*) (AOAC, 2016).

As análises sensoriais dos queijos de Coalho consistiram em Testes de aceitação e de intenção de compra e foram realizadas nos tempos 7 e 21 dias de armazenamento. Inicialmente foram recrutados 110 provadores não treinados, com faixa etária entre 15 e 29 anos, dos quais 81% eram do sexo masculino e 19 % do sexo feminino, 98,0% dos recrutados afirmaram ter o hábito de consumir leite ou derivados, e 85 % relataram ter hábito de consumir queijo de Coalho.

O teste de aceitação foi aplicado em cabines individuais, utilizando-se escala hedônica de 9 pontos (9 = gostei extremamente, 1= desgostei extremamente) para avaliar os atributos aparência, aroma, textura e sabor, e a aceitação global. Para a intenção de compra utilizou-se escala hedônica mista de 5 pontos (5= com certeza compraria; 1= com certeza não

compraria). As amostras foram apresentadas simultaneamente, e os provadores foram orientados a provar uma amostra de cada vez, da esquerda para a direita, foi oferecido água mineral e biscoito água e sal para ser ingeridos entre uma amostra e outra (Dutcosky, 2013).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizados (DIC), e os dados obtidos foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA). As diferenças entre os grupos estudados foram analisadas utilizando o teste Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de significância, utilizando-se o *software* ASSISTAT, Versão 7.5 beta (2008). O projeto de avaliação sensorial deste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba – UFPB. Número do protocolo: 643/10.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização físico-química das amostras de leite bovino, tiveram valores de proteína (2,93 g/100 g), gordura (4,08 g/100 g), acidez (0,16 g/100 mL) e densidade do leite (1,032 g/L) dentro dos valores permitidos pela legislação vigente (BRASIL, 2002). Quanto a umidade o valor médio foi de 88,46 %, cinzas de 0,55 %, atividade de água ( $A_w$ ) de 0,96, e pH 6,73.

Na Tabela 1 são apresentados os valores médios dos parâmetros físico-químicos dos queijos analisados nos três tratamentos. Observa-se que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) quanto à umidade entre os queijos com probióticos em relação ao queijo tradicional no 1º, 7º e 21º dia de armazenamento. Ao longo do período de armazenamento ocorreu uma tendência de redução dos valores de umidade, que variaram de 56 a 51 %. Na diminuição da umidade em queijos, o pH influencia na promoção de uma maior desmineralização da rede protéica nas coalhadas mais ácidas, o que permite uma maior dessoragem espontânea do queijo (Furtado, Souza & Munck, 1980; Sousa et al., 2014).

Quanto à umidade, os queijos são classificados de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, constando na Portaria nº 146, de 07 de março de 1996 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 1996) em queijo de baixa umidade (até 35,9 %), média umidade (36 a 45,9 %), alta umidade (46,0 a 54,9 %) e muito alta umidade (superior a 55 %). Nos queijos T1 e T2 apresentaram teores de umidade entre 52,08 a 53,28 %, sendo considerados de alta umidade. O queijo T3 apresentou umidade acima dos 55 % durante quase todo o armazenamento, sendo classificado como de muito alta umidade, com uma ligeira redução a partir do 21º dia.

Ao estudarem queijo Minas com e sem adição de bactérias lácteas, Marques et al. (2011) obtiveram valores de umidade maiores para queijos não adicionados de culturas lácteas, enquanto Castro (2015) não observou diferença nos teores de umidade dos queijos com e sem probióticos, o que também condiz com os achados Back, Mattanna, Andrade, Simões e Rochards (2013) e Arrais (2015). Na pesquisa com queijo de coalho a umidade variou entre 45,5 a 51,5%, sendo, portanto, classificados com queijo de média e alta umidade (Silva, Ramos, Moreno & Moraes, 2010). A quantidade elevada de umidade em queijos torna-os mais susceptíveis a contaminação e multiplicação bacteriana, podendo então reduzir a qualidade do produto (Santos & Hoffmann, 2010).

Com relação aos lipídios, verificou-se que não houve diferença estatística ( $p \geq 0,05$ ) entre as amostras dos tratamentos estudados nos dias 7 e 21 de armazenamento, enquanto, a amostra do tratamento T1 não diferiu durante o período de armazenamento. Nos queijos dos tratamentos T2 e T3 houve diferença entre os dias de armazenamento do produto, sendo constatado que no 21º e 28º dia houve um aumento quanto aos valores de lipídios, que pode estar relacionado com a diminuição de umidades neste período.

Na pesquisa de Marques et al. (2011) os autores também observaram que não houve diferença significativa da quantidade de lipídeos entre os tratamentos empregados, o que corrobora com trabalho de Chaves (2014) que avaliou queijo prato com adição de probióticos após 1 dia de armazenamento. Enquanto na pesquisa de Castro (2015) com queijo Minas Frescal, averiguou que houve diferença no percentual de lipídeos entre todos os tratamentos empregados quando comparados ao padrão.

Quanto ao teor de proteína não houve variação significativa ( $p \geq 0,05$ ) entre os tratamentos dos queijos com probióticos e durante o 7º e 21º dia de armazenamento dos queijos estudados, com valores médios de 16,91 a 19,75 %. Os queijos elaborados com culturas probióticas, as variações de micro-organismos utilizados no processo de fermentação não interferiram nos valores protéicos do produto. Valores médios de proteínas próximo de 13,68 % foram verificados por Back et al. (2013) no estudo com o queijo Minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium* sp. BB-12 sem lactose, porém Arrais (2015) ao avaliar ricota com e sem adição de culturas probióticas obteve valores de proteínas entre 9,36 a 9,46% não observou-se diferença significativa entre os tratamentos.

Os valores médios de cinzas entre os tratamentos apresentaram variação estatística ( $p < 0,05$ ) nos dias 1, 7, 14 e 21 de armazenamento, e com relação ao período de cada tratamento não houve diferença significativa entre os dias de análise dos tratamentos T2 e T3. No estudo de

Beltrão, Moura, Madruga e Andrade. (2017) observaram valores de cinzas de 4,40% a 4,61% em queijo chevrotin; enquanto Diniz (2014) observou que os valores de cinzas foram entre 3,8-6,19% em queijo de coalho.

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros físico-químicos dos queijos dos tratamentos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) e T3 (controle) durante 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$

Tratamento	Tempo (dias)	Umidade (%)	Lipídios (%)	Proteína (%)	Cinzas (%)	pH	Acidez em láctico (%)	E.S.T (%)	G.E.S (%)
<b>T1</b>	1	53,28±0,24 <sup>Aa</sup>	20,97±0,51 <sup>Ba</sup>	18,31±0,08 <sup>Ab</sup>	3,60±0,01 <sup>Ba</sup>	6,65±0,00 <sup>Bb</sup>	0,16±0,01 <sup>Aa</sup>	46,72±0,24 <sup>Ba</sup>	44,87±0,85 <sup>Ba</sup>
	7	53,19±0,10 <sup>Aa</sup>	20,24±1,17 <sup>Aa</sup>	17,64±0,50 <sup>Aa</sup>	3,51±0,09 <sup>Bb</sup>	6,49±0,00 <sup>Bc</sup>	0,14±0,00 <sup>Aa</sup>	46,81±0,10 <sup>Ba</sup>	43,23±2,41 <sup>Ba</sup>
	14	52,97±0,15 <sup>Ba</sup>	19,80±0,67 <sup>Aa</sup>	18,99±0,25 <sup>Aa</sup>	3,72±0,03 <sup>Ba</sup>	6,65±0,00 <sup>Cb</sup>	0,16±0,01 <sup>Aa</sup>	47,03±0,15 <sup>Aa</sup>	42,11±1,56 <sup>Aa</sup>
	21	52,95±0,89 <sup>Aab</sup>	21,38±2,56 <sup>Aa</sup>	17,82±0,60 <sup>Aa</sup>	3,60±0,08 <sup>ABab</sup>	6,67±0,03 <sup>Bb</sup>	0,14±0,01 <sup>Aa</sup>	47,05±0,89 <sup>ABa</sup>	45,52±6,24 <sup>Aa</sup>
	28	52,31±1,34 <sup>Aab</sup>	20,83±0,47 <sup>Ba</sup>	18,47±0,93 <sup>Ab</sup>	3,55±0,03 <sup>Ab</sup>	6,86±0,04 <sup>Ba</sup>	0,14±0,00 <sup>Aa</sup>	47,69±1,34 <sup>ABa</sup>	43,68±0,49 <sup>Ba</sup>
<b>T2</b>	1	52,08±0,24 <sup>Aa</sup>	20,96±0,34 <sup>Bc</sup>	18,96±0,73 <sup>Aa</sup>	3,58±0,01 <sup>Ca</sup>	6,72±0,02 <sup>ABbc</sup>	0,12±0,01 <sup>Ba</sup>	47,92±0,24 <sup>Ba</sup>	43,74±0,62 <sup>Ab</sup>
	7	52,48±0,10 <sup>Aa</sup>	21,31±0,22 <sup>Abc</sup>	19,37±0,67 <sup>Aa</sup>	3,73±0,09 <sup>Ca</sup>	6,69±0,05 <sup>Ac</sup>	0,12±0,01 <sup>Aa</sup>	47,52±0,10 <sup>Ba</sup>	44,85±0,67 <sup>ABab</sup>
	14	52,32±0,53 <sup>Aa</sup>	21,32±0,38 <sup>Bbc</sup>	19,28±1,15 <sup>Aa</sup>	3,83±0,02 <sup>Ca</sup>	6,81±0,01 <sup>Bbc</sup>	0,13±0,00 <sup>Ba</sup>	47,68±0,53 <sup>Aa</sup>	44,72±0,39 <sup>Bab</sup>
	21	52,03±0,95 <sup>Ab</sup>	22,94±0,81 <sup>Aa</sup>	17,98±0,93 <sup>Aa</sup>	3,65±0,12 <sup>Ba</sup>	6,86±0,01 <sup>Ab</sup>	0,13±0,01 <sup>Aa</sup>	47,97±0,95 <sup>Aa</sup>	47,85±2,44 <sup>Aab</sup>
	28	51,40±0,56 <sup>Bb</sup>	22,31±0,43 <sup>Aab</sup>	19,75±0,98 <sup>Aa</sup>	3,77±0,10 <sup>Aa</sup>	7,04±0,02 <sup>Aa</sup>	0,12±0,00 <sup>Ba</sup>	48,60±0,56 <sup>Aa</sup>	45,91±1,42 <sup>Ba</sup>
<b>T3</b>	1	55,19±0,24 <sup>Ba</sup>	19,06±0,49 <sup>Ad</sup>	16,96±0,18 <sup>Ba</sup>	3,46±0,03 <sup>Aa</sup>	6,78±0,04 <sup>Ac</sup>	0,13±0,02 <sup>Aa</sup>	44,81±0,24 <sup>Ab</sup>	42,54±1,06 <sup>Ab</sup>
	7	55,96±0,48 <sup>Bab</sup>	21,84±0,30 <sup>Aab</sup>	17,66±0,96 <sup>Aa</sup>	3,32±0,05 <sup>Aa</sup>	6,68±0,01 <sup>Ad</sup>	0,13±0,01 <sup>Aa</sup>	44,04±0,48 <sup>Aab</sup>	50,32±0,00 <sup>Aa</sup>
	14	56,77±0,00 <sup>Ab</sup>	20,72±0,25 <sup>ABc</sup>	17,04±0,70 <sup>Ba</sup>	3,50±0,01 <sup>Aa</sup>	6,85±0,01 <sup>Ab</sup>	0,13±0,00 <sup>Ba</sup>	43,23±0,00 <sup>Bb</sup>	48,28±0,37 <sup>Ca</sup>
	21	55,08±0,52 <sup>Ba</sup>	21,27±0,35 <sup>Abc</sup>	16,91±0,33 <sup>Aa</sup>	3,41±0,06 <sup>Aa</sup>	6,88±0,00 <sup>Ab</sup>	0,13±0,01 <sup>Aa</sup>	44,92±0,00 <sup>Ba</sup>	46,98±0,90 <sup>Aa</sup>
	28	54,48±0,24 <sup>Aa</sup>	22,78±0,46 <sup>Aa</sup>	17,35±0,89 <sup>Ba</sup>	3,14±0,45 <sup>Aa</sup>	7,07±0,01 <sup>Aa</sup>	0,12±0,00 <sup>Ba</sup>	45,52±0,24 <sup>Ba</sup>	49,71±1,59 <sup>Aa</sup>

\*Média ± Desvio padrão. \*\* <sup>A,B,C</sup>: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos no mesmo período.

\*\*\* <sup>a,b,c</sup>: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o período de armazenamento..

Os valores de pH dos queijos dos tratamentos T2 e T3 não variaram significativamente ( $P \geq 0,05$ ) entre os dias 21 e 28. O pH entre o 1º ao 7º dia de armazenamento apresentou redução em todos os tratamentos. O pH variou entre 6,65 a 6,78, que foram valores próximos ao obtido no estudo com queijo de coalho de Diniz (2014) que encontrou entre 6,63 a 6,84, não corroborando com a pesquisa de Castro (2015) em que o pH variou entre 6,15 a 6,20, com diferença estatística entre os tratamentos T1 (Padrão), T2 (*Bifidobacterium lactis*) e T4 (*Bifidobacterium lactis* e *Lactobacillus acidophilus*) quando comparados ao T3 (*Lactobacillus acidophilus*).

A modificação dos valores de pH, ocorre de forma natural em decorrência a produção contínua de ácido láctico e outros ácidos organismos pelas culturas probióticas presentes no queijo, e essas alterações já foram evidenciadas na literatura, em pesquisas com queijos simbióticos (Araujo, Carvalho, Leandro, Furtado & Moraes, 2010).

Quanto aos valores de acidez titulável expressos em ácido láctico, observou-se que entre os tratamentos houve diferença ( $P < 0,05$ ), no entanto, durante o tempo de armazenamento não houve variação significativa ( $P \geq 0,05$ ), com valores variando de 0,12 a 0,16 %. Um aumento de acidez no 14º dia sem redução do pH pode ter acontecido por algum fator tamponante do meio, como a liberação de aminas pela proteólise. No trabalho de Alves, Gemal, Cortez, Franco e Mano (2011) ao avaliar queijo minas frescal acrescido de cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*), após 30 dias de maturação, constataram um aumento da acidez titulável em todos os procedimentos, o que condiz com os resultados de Back et al. (2013) em que observou-se aumento da acidez concomitante a redução do pH, sendo que o aumento foi estatisticamente significativo em todos os tratamentos até o 14º dia de armazenamento.

Os tratamentos T1 e T2 não variaram entre si ( $P \geq 0,05$ ) quanto ao EST durante 1º e 7º dia de armazenamento, apenas o tratamento T3 diferiu significativamente entre os dias de análise, com valores entre 43,23 e 48,60 %. Observou-se que os valores de GES nos tratamentos T1 e T2 não diferiram estatisticamente ( $P \geq 0,05$ ) nos dias 7, 21 e 28 de armazenamento. Quanto ao período de armazenado não houve diferença significativa entre os dias de análise do tratamento T1. Os valores GES nos três tratamentos variaram de 42,11 a 50,32 %, visto que conforme a Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001 (Brasil, 2001a) o queijo de coalho é classificado quanto ao teor de gordura no extrato seco como semi-gordo (25,0 % a 44,9 %) e gordo (45 % a 59,9 %), neste sentido os queijos obtidos neste estudo são podem ser classificados como gordo, o que não concorda com os achados de Cavalcante et al. (2007) estudando queijo de Coalho armazenados durante 30 dias, que observaram valores de GES

variando de 48,75 a 55,63 %, respectivamente, já Back et al. (2013) obtiveram valores inferiores de GES que variaram entre 36,30 a 40,52%.

O valor médio da contagem de coliformes a 35 °C foi de < 3,6 NMP/g. Em relação ao número de coliformes termotolerantes, foi < 3 NMP/g. Na Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, que trata do Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos, estão estabelecidos para queijos de alta umidade e de muita alta umidade um valor mínimo de  $1 \times 10^3$  NMP/g e máximo de  $5 \times 10^3$  NMP/g para a contagem de coliformes termotolerantes. Número elevado de coliformes termotolerantes é indicativo de alto nível de contaminação fecal, normalmente decorrente da qualidade da matéria-prima, do processamento e manipulação dos queijos sob condições inadequadas de higiene. Os valores médios máximos encontrados para *Stafilococcus ssp.* foi de  $3,1 \times 10^2$  e  $3,4 \times 10^2$  UFC/g, respectivamente, portanto são inferiores ao máximo permitido na legislação para *S. aureus* que é de  $1 \times 10^3$  UFC/g. Portanto, os resultados obtidos confirmam que as amostras estavam dentro dos padrões preconizados pela legislação (Brasil, 2001b).

**Tabela 2.** Valores médios das populações de culturas probióticas nos queijos dos tratamentos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) durante 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$

Tempo (dias)	Tratamento	
	T1 - <i>Lactobacillus acidophilus</i> (log UFC/g)	T2 - <i>Bifidobacterium lactis</i> (log UFC/g)
1	6,37 <sup>Aa</sup>	6,58 <sup>Aa</sup>
7	7,17 <sup>Aa</sup>	5,68 <sup>Bab</sup>
14	6,05 <sup>Aa</sup>	5,52 <sup>Bb</sup>
21	5,67 <sup>Aa</sup>	5,39 <sup>Aab</sup>
28	6,00 <sup>Aa</sup>	5,79 <sup>Aab</sup>

\* A,B,C: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos no mesmo período. \*\* a,b,c: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o período de armazenamento.

Na Tabela 2 observa-se os valores médios referentes as populações de culturas probióticas nos queijos dos tratamentos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) durante 28 dias de armazenamento a  $5 \pm 1^\circ\text{C}$ . Pode-se verificar que as populações de culturas dos dois

tratamentos não variaram significativamente ( $P \geq 0,05$ ) no 1º, 21º e 28º dia de armazenamento. Quanto ao tempo de armazenamento o tratamento T1 não diferiu estatisticamente entre os dias de análise. O tratamento com a adição da cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* (T1) apresentou populações suficientes de cultura probiótica, caracterizando como alimento potencialmente probiótico.

O tratamento T2, adicionado da cultura probiótica *Bifidobacterium lactis* apresentou a contagem mínima da população probiótica apenas no 1º dia de armazenamento, ou seja, não atingiu durante o armazenamento o mínimo necessário para que pudesse ser considerado como potencial probiótico.

A concentração de cultura probiótica recomendada pelo fabricante aplicada no tratamento T2 não foi suficiente para que o queijo fosse considerado potencial probiótico, o que pode ser justificado devido as bifidobactérias serem micro-organismos mais sensíveis aos valores de pH do produto (pH ótimo entre 6,0 e 7,0), e em relação ao armazenamento sob refrigeração são menos tolerantes (Gomes & Malcata, 1999; Lourens-Hattingh & Viljoen, 2001; Matsumoto et al., 2004; Matto, Alakomi, Vaari, Virkajarvi & Saarela., 2006).

No entanto, desde o 7º dia, as contagens de *L. acidophilus* foram maiores que as apresentadas por *B. lactis*, o que é indicativo da necessidade de se aumentar a percentagem da cultura de *B. lactis* adicionada ao leite para a obtenção de resultados mais favoráveis, próximos aos obtidos pelo *L. acidophilus*, no produto final.

Gonsalves (2009) estudando queijo tipo quark simbiótico ao longo de 25 dias observou contagens de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* no 5º dia de 8,75 e 7,95 e no 25º dia de 6,86 e 6,95 log UFC/g, respectivamente. No estudo de Alves et al. (2011) no qual avaliou a viabilidade do uso do *Lactobacillus acidophilus* em queijo minas frescal no qual a contagem foi superior a  $10^8$  UFC/g, contudo na pesquisa de Back et al. (2013) a contagem de *Lactobacillus acidophilus* foi inferior a  $10^6$  UFC/g, contudo a quantidade de *Bifidobacterium sp*, foi superior a quantidade mínima estabelecida para o produto ser classificado como probióticos.

O critério estabelecido pela Agencia Nacional de Vigilância Sanitária quanto à quantidade mínima de microorganismos viáveis deve ser entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC por porção diária do produto para que tenha efeitos terapêuticos, então pode-se recomendar que o consumo diário de 100 g de queijo do tratamento T1 desenvolvidos no presente estudo é suficiente para proporcionar efeitos probióticos ao consumidor (Brasil, 2005).

Os probióticos atuam no processo de modulação do intestino, por meio da supressão de algumas bactérias maléficas, impedindo a translocação e melhorando a permeabilidade da parede intestinal, elevando os níveis de imunoglobulina A e da interleucina 10, produzindo resistência à ação de vírus ao organismo humano (Ioannidis, Tarone & Mclaughlin, 2011).

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias obtidas da avaliação sensorial dos queijos tratamentos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) e T3 (controle) no 7º e 21º dia de armazenamento a 5±1 °C.

**Tabela 3.** Pontuação dos atributos sensoriais dos queijos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) e T3 (controle) no 7º e 21º dia de armazenamento a 5±1°C

Tratamento	Tempo (dias)	Atributo				Aceitação global
		Aparência	Aroma	Textura	Sabor	
T1	7	7,7±1,13 <sup>Aa</sup>	7,2±1,25 <sup>Aa</sup>	7,6±1,27 <sup>Aa</sup>	7,7±1,40 <sup>Aa</sup>	7,6±1,34 <sup>Ab</sup>
	21	7,7±1,09 <sup>Aa</sup>	7,5±1,06 <sup>Aa</sup>	7,7±1,40 <sup>Aa</sup>	7,9±1,33 <sup>Aa</sup>	8,0±0,88 <sup>Aa</sup>
T2	7	7,7±1,22 <sup>Aa</sup>	7,0±1,44 <sup>Aa</sup>	7,6±1,06 <sup>Aa</sup>	7,9±1,14 <sup>Aa</sup>	7,8±0,92 <sup>Aa</sup>
	21	7,5±1,38 <sup>Aa</sup>	7,4±1,46 <sup>Aa</sup>	7,4±1,71 <sup>Aa</sup>	7,8±1,45 <sup>Aa</sup>	8,0±1,06 <sup>Aa</sup>
T3	7	7,8±1,08 <sup>Aa</sup>	7,2±1,27 <sup>Aa</sup>	7,5±1,26 <sup>Aa</sup>	7,7±1,44 <sup>Aa</sup>	7,7±1,09 <sup>Aa</sup>
	21	8,0±1,03 <sup>Aa</sup>	7,4±1,27 <sup>Aa</sup>	7,5±1,45 <sup>Aa</sup>	8,0±1,39 <sup>Aa</sup>	8,1±0,95 <sup>Aa</sup>

\* Média ±Desvio padrão. \*\* A,B,C; letras sobrescritas indicam diferenças significativas (p<0,05) entre os diferentes tratamentos no mesmo período. \*\*\* a,b,c; letras sobrescritas indicam diferenças significativas (p<0,05) entre o período de armazenamento. **Escala hedônica:** 1 – Desgostei muitíssimo; 2 – Desgostei muito; 3 – Desgostei moderadamente; 4 – Desgostei ligeiramente; 5 – Nem gostei/ nem desgostei; 6 – Gostei ligeiramente; 7 – Gostei moderadamente; 8 – Gostei muito; 9 – Gostei muitíssimo.

Os valores médios dos atributos aparência, aroma, textura e sabor, e a aceitação global não variaram significativamente (p≥0,05) quando comparados entre os tratamentos e, com exceção do tratamento T1, durante o 7º e 21º dia de armazenamento. Em relação a todos os atributos sensoriais avaliados, as médias variaram de 7,0 a 8,0, o que corresponde na escala hedônica a “gostei moderadamente” ao “gostei muito”. Os queijos dos tratamentos adicionados de culturas probióticas apresentaram a mesma aceitação do tratamento com queijo tradicional.

**Tabela 4.** Intenção de compra dos queijos T1 (adição de *L. acidophilus*) e T2 (adição de *B. lactis*) e T3 (controle) no 7º e 21º dia de armazenamento a 5±1°C

Atributo	Tratamento-Dia					
	T1-7	T2-7	T3-7	T1-21	T2-21	T3-21
Intenção de compra	3,8±1,23 <sup>Ab</sup>	4,4±0,75 <sup>Aa</sup>	4,1±0,98 <sup>Aa</sup>	4,1±1,01 <sup>Aa</sup>	3,9±1,14 <sup>Aa</sup>	4,5±0,78 <sup>Aa</sup>

\*Média±Desvio Padrão. \*\*<sup>A,B,C</sup>: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes tratamentos no mesmo período. \*\*\* <sup>a,b,c</sup>: letras sobrescritas indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre o período de armazenamento. Escala hedônica de 5 pontos: 1= Certamente não compraria; 2= Possivelmente não compraria; 3= Talvez comprasse/ Talvez não comprasse; 4= Possivelmente compraria; 5= Certamente compraria. \*\*

Com relação à intenção de compra, não houve variação significativa ( $P \geq 0,05$ ) entre os queijos dos tratamentos estudados, obtendo-se valores próximo de 4 (provavelmente compraria), ocorrendo variação no queijo T1 entre o período de armazenagem 7º e 21º dia. No trabalho desenvolvido por Argenta, Oliveira, Alves, Bandeira e Meira (2016) com queijo Minas frescal caprino probióticos, verificou-se um índice de aceitabilidade de 63,50%, enquanto Gaino, Voltarelli, Maciel, Rensis e Vianna (2012), obteve a intenção de compra de 82% dos provadores.

#### 4. CONCLUSÃO

O queijo de Coalho produzido com adição de culturas probióticas apresentou características propícias para que possa ser considerado uma nova alternativa de alimento com potencial probiótico, quando adicionado de *L. acidophilus*.

A principal limitação do estudo está relacionada a quantidade de culturas probióticas adicionadas ao produto, a qual foi baseada na recomendação do fabricante que comercializa este tipo de cultura liofilizada.

Portanto, recomenda-se em estudos futuros um levantamento prévio na literatura quanto a utilização dos probióticos adicionados ao queijo de Coalho. Uma vez que nos

resultados obtidos, foi possível observar valores médios constante destas culturas ao longo da pesquisa.

## AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado e a empresa SACCO BRASIL pelo fornecimento de culturas probióticas utilizadas.

## REFERÊNCIAS

Alves, C. C. C., Gemal, N. D. H., Cortez, M. A. S., Franco, R. M., Mano, S. B. (2011). Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63(1), 1559-1566. 2011.

Association of Official Analytical Chemists- AOAC (2016). *Official methods of analysis*, 20th Ed., Gaithersburg, MD, USA.

American Public Health Association - APHA (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th edition, Washington.

Araujo, E. A., Carvalho, A. F., Leandro, E. S., Furtado, M. M., Moraes, C. A. (2010). Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 and inulin. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 85-89.

Argenta, A. B., Oliveira, L. R., Alves, F. F., Bandeira, A. M. T., Meira, S. M. M. (2016). Desenvolvimento de queijo tipo Minas frescal caprino adicionado de bactéria probiótica. *Revista Thema*, 13:3, 8-16.

Arrais, B. C. D. (2015). Desenvolvimento de Ricota Funcional: avaliação das características físico-químicas e microbiológicas do produto, PR. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia do Leite, Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR, Brasil.

Back, D., Mattanna, P., Andrade, D. F., Simões, G. D., & Rochards, N. S. P. S. (2013). Viabilidade probiótica de queijos minas frescal com teor reduzido de lactose. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 68, 27-35.

Beltrão, F. A. S., Moura, C. V. R., Madruga, M. S., & Andrade, A. E. B. (2017). Avaliação do perfil de ácidos graxos de queijo Tipo chevrotin simbiótico. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, 72, 11-18.

Bezerra, T. K. A., Araujo, A. R. R., Nascimento, E. S., Paz, J. E. M., Gadelha, C. A., Gadelha, T. S., Pacheco, M. T. B., Queiroga, R. C. R. E., Oliveira, M. E. G., & Madruga, M. S. (2016). Proteolysis in goat “coalho”cheese supplemented with probiotic latic acid bactéria. *Food Chemistry*, 196, 359-366.

Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31 (2), 118-129.

Brasil. (1996). Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade dos produtos lácteos, O Ministério de Estado da agricultura e abastecimento e reforma agrária institui: Regulamento técnico de identidade e qualidade dos queijos. *Diário oficial da União*, Brasília, 11 de março, Seção 1.

Brasil. (2001a). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa, queijo de Coalho e queijo de Manteiga. Instrução Normativa nº30, de 26/06/2001. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 16 jul.2001, p.13-15.

Brasil. (2001b). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 02/01/2001. p.1-54.

Brasil. (2005). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de saúde, Novos Alimentos/Ingredientes. Substâncias Bioativas e Probióticos. *Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária*, 278p.

Buriti, F. C. A. (2005). Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico. Dissertação de Mestrado em Tecnologia Bioquímica – Farmacêutica, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Butel, M. J. (2014). Probiotics, gut microbiota and health. *Med. Maladies Infect.*, 44 (1), 1- 8.

Castro, R. D. (2015). Queijo Minas Artesanal fresco de produtores não cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes – MG: qualidade microbiológica e físico-química em diferentes épocas do ano. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Cavalcante, J. F. M., Andrade, N. J., Furtado, M. M., Ferreira, C. L. L. F., Pinto, C. L. O., & Elard, E. (2007). Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27, 205-214.

Chaves, K. S. (2014). Avaliação da maturação e perfil sensorial de queijos Prato probióticos tipo lanche adicionado de *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium* Bb-12. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Diniz, L. A. (2014). Parâmetros de qualidade e percepção sensorial de queijo de coalho com substituição parcial de NaCl por KCAL. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil.

Dutcosky, S. D. (2013). *Análise sensorial de alimentos* (4<sup>a</sup>. ed.) Curitiba: Champagnat.

Favretto, D. C., Pontin, B., & Moreira, T. R. (2013). Effect of the consumption of a cheese enriched with probiotic organisms (*Bifidobacterium lactis* bi-07) in improving symptoms of constipation. *Arquivos de Gastroenterologia*, 50, 196-201.

Furtado, M. M., Souza, H. S., & Munck, A. V. (1980). A fabricação de queijo Minas frescal sem o emprego de culturas lácteas. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 35 (207), 15-21.

Gaino, V. O., Voltarelli, V. P., Maciel, C., Rensis, V. B., & Vianna, P. C. B. (2012). Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-química e aceitação sensorial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, 33 (2), 3133-3142.

Goetzke, B., Nitzko, S., & Spiller, A. (2014). Consumption of organic and functional food. A matter of well-being and health? *Appetite*, 77, 94-103.

Gomes, A. M. P., & Malcata, F. X. (1999). *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10 (1), 139-157.

Gonsalves, M. M. (2009). Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo quark simbiótico. Dissertação de Mestrado em Ciência e tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

Govender, Y., Avenant, C., Verhoog, N. J., Ray, R. M., Grantham, N. J., Africander, D., & Hapgood, J. P. (2014). The Injectable-Only Contraceptive Medroxyprogesterone Acetate, Unlike Norethisterone Acetate and Progesterone, Regulates Inflammatory Genes in Endocervical Cells via the Glucocorticoid Receptor. *PLOS One*, 9 (5) e96497 .

Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., & Shah, N. P. (2010). Probiotic dairy products as functional foods. *Rev. Food Sci. Food Safety*, 9, 455- 470.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R.; Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506-514.

Ioannidis, J. P., Tarone, R., & Mclaughlin, J. K. (2011). The false-positive to false-negative ratio in epidemiologic studies. *Epidemiology*, 22 (4), 450–456.

Karimi, R., Mortazavian, A. M., & Amiri-Rigi, A. (2012). Selective enumeration of probiotic microorganisms in cheese. *Food Microbiology*, 29, 1-9.

Kumar, A., & Kumar, D. (2016). Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated Lactobacillus. *Journal of Food Science and Technology*, 53 (1), 667-675.

Lourens-Hattingh, A., & Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11 (1), 1-17.

Marques, K. A., Ferreira, R. P., Martins, A. D. O., Soares, B. G., Martins, M. L., & Martins, J. M. (2011). Características Físico-Químicas e Sensoriais de Queijo Minas Padrão Probiótico. *Revista do Instituto de Laticínios*, 66, 17-25.

Martirosyan, D. M., & Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique? *Functional Foods in Health and Disease*, 5 (6), 209-223.

Matsumoto, M., Ohishi, H., & Benno, Y. (2004). H<sup>+</sup>ATPase activity in *Bifidobacterium* with special reference to acid tolerance. *International Journal of Food Microbiology*, 93 (1), 109-113.

Matto, J., Alakomi, H. L., Vaari, A., Virkajarvi, I., & Saarela, M. (2006). Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it. *International Dairy Journal*, 16, 1029-1037.

Minervini, F., Siragusa, S., Faccia, M., Dal Bello, F., Gobbetti, M., & De Angelis, M. (2012). Manufacture of Fior di Latte cheese by incorporation of probiotic lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, 95, 508-520.

Pereda, J. A. O. (2005). *Tecnologia de Alimentos: Alimentos e origem animal*. Porto Alegre: Artemed.

Pophaly, S. D., Poonam, Singh, P., Kumar, H., Tomar, S. K., & Singh, R. (2014). Selenium enrichment of lactic acid bacteria and bifidobacteria: A functional food erspective. *Trends in Food Science & Technology*, 39, 135-145.

Reynolds, T., & Martirosyan, D. M. (2016). Nutrition by design: a review of biotechnology in functional food of plant origin. *Functional Food in Health and Disease*, 6 (2), 110-120.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondèm, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and Technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84, 197-215.

Santos, A. Q., & Hoffmann, F. L. (2010). Evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 69(1), 38-46.

Silva, M. C. D., Ramos, A. C. S., Moreno, I., & Moraes, J. O. (2010). Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 69 (2), 214-221.

Silva, P. T., Fries, L. L. M., Menezes, C. R., Silva, C. B., Soriani, H. H., Bastos, J. O., Mota, M. H., & Ribeiro, R. F. (2015). Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. *Ciência Rural*, 45 (7), 1342-1347.

Soccol, C. R., Vandenberghe, L. P. S., Spier, M. R., Medeiros, A. B. P., Yamaguishi, C. T., Lindner, J. D., Pandey, A., & Thomaz-Soccol, V. (2010). The Potential of Probiotics: A Review. *The Potential of Probiotics. Food Technology and Biotechnology*, 48 (4), 413-434.

Sofi, F., & Dinu, M. R. (2016). Nutrition and prevention of chronic-degenerative diseases. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8, 713-717.

Sousa, A. Z. B., Abrantes, M. R., Sakamoto, S. M., Silva, J. B. A., Lima, P. O., Lima, R. N., Rocha, M. O. C., & Passos, Y. D. B. (2014). Aspectos físico-químicos e microbiológicos do

queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, 81 (1), 30-35.

Vandenplas, Y., Huys, G., & Daube, G. (2015) Probiotics: an update. *J Pediatr.*, 91, 6-21, 2015.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Francisco Cesino de Medeiros Júnior – 30%

Irislene Costa Pereira – 30%

Karla Kaligia Silva Borba – 10%

Raimundo Nonato Cardoso Miranda Junior – 10%

Ricardo Targino Moreira – 10%

Esmeralda Paranhos Santos – 10%