

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
IFCE CAMPUS LIMOEIRO DO NORTE
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

SAMUEL CARNEIRO DE BARCELOS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO *Petit-Suisse*
CAPRINO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO COM POLPA DE ACEROLA
(*Malpighia emarginata* DC)

LIMOEIRO DO NORTE-CE

2017

SAMUEL CARNEIRO DE BARCELOS

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO *Petit-Suisse*
CAPRINO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO COM POLPA DE ACEROLA
(*Malpighia emarginata* DC)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, *Campus* Limoeiro do Norte como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniele Maria Alves Teixeira Sá.

Coorientador: Dr. Antônio Sílvio do Egito

LIMOEIRO DO NORTE-CE

2017

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.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI

Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- B242d Barcelos, Samuel Carneiro de.
Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo Petit-Suisse caprino potencialmente probiótico com polpa de acerola (Malpighia emarginata DC) / Samuel Carneiro de Barcelos. - 2017.
170 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) Instituto Federal do Ceará, Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Campus Limoeiro do Norte, 2017.
Orientação: Profa. Dra. Daniele Maria Alves Teixeira Sá.
Coorientação: Prof. Dr. Antônio Sílvio do Egito.
1. Bactériaautoctone. 2. Cultura láctica. 3. Queijo cremoso. 4. Vitamina C. 5. Sobrevivência gastrointestinal in vitro. I. Título.

CDD 664

SAMUEL CARNEIRO DE BARCELOS

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE QUEIJO TIPO *Petit-Suisse*
CAPRINO POTENCIALMENTE PROBIÓTICO COM POLPA DE ACEROLA
(*Malpighia emarginata* DC)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso
de Tecnologia de Alimentos do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Ceará, *Campus* Limoeiro do Norte como
requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Tecnologia de Alimentos

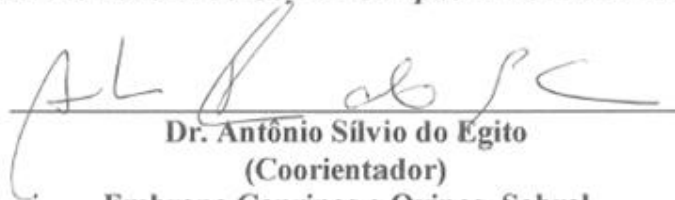
Aprovada em: 31/07/2017.

BANCA EXAMINADORA



Prof.^a Dr.^a Daniele Maria Alves Teixeira Sá
(Orientadora)

Instituto Federal do Ceará - *Campus* Limoeiro do Norte



Dr. Antônio Sílvio do Egito
(Coorientador)

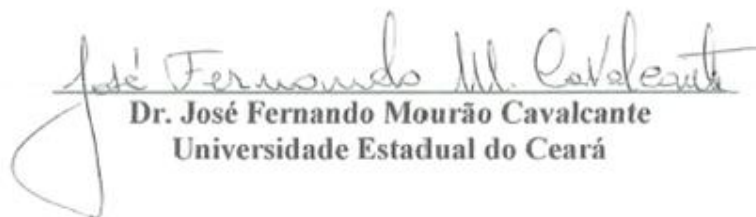
Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral



Dr.^a Karina Maria Olbrich dos Santos
Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro.



Dr.^a Virna Luiza de Farias
Instituto Federal do Ceará - *Campus* Limoeiro do Norte



Dr. José Fernando Mourão Cavalcante
Universidade Estadual do Ceará

LIMOEIRO DO NORTE – CE

2017

DEDICATÓRIA

A Deus. Aos meus pais, Francisca Angélica
Carneiro de Barcelos e Manoel Inácio de
Barcelos Neto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem ele nada seria possível!

Aos meus Pais Francisca Angélica Carneiro de Barcelos e Manoel Inácio de Barcelos Neto, aos meus irmãos Ismael Carneiro de Barcelos e Raquel Carneiro de Barcelos, e a todos meus familiares pelo apoio e paciência, por sempre acreditarem em mim. Obrigado!

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Daniele Maria Alves Teixeira Sá por ter me aceitado como seu orientando, por ter acreditado em meu trabalho. Obrigado pelos seus ensinamentos, paciência, paixão pelo trabalho, estímulos e amizade. Pelo incentivo de fazer pós-graduação. Obrigado!

Ao meu coorientador Dr. Antônio Sílvio do Egito, por ter visto em mim e no meu projeto potencial. Pela parceria e amizade que desenvolvemos! Pela sua atenção durante os experimentos e estímulos nas horas mais difíceis. Pelo incentivo de fazer pós-graduação. Obrigado!

Agradeço também à Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Alimentar, pela sua amizade, ensinamentos durante toda a iniciação científica, por sempre está disponível a ajudar. Pelo incentivo de fazer pós-graduação. Obrigado!

Aos meus amigos, José dos Santos Tabosa, Liana Maria Ferreira Silva, Antônio Diogo Silva Vieira, Alex Miranda de Araújo, Lidiane Viana, Louricelia Rodrigues de Abreu, Marcio Ponciano, João Batista Paula Ipiapina pela ajuda direta e indireta no desenvolvimento desse trabalho. Obrigado!

Obrigado aos colegas Samara Kellen de Vasconcelos Vieira, Samara de Mesquita Braga, Allan Frank, Ana Josymara Lira Silva, Francisco Pinto, Islan Cruz Barbosa, Francisco Getulho Santos Ávila, Antônia Maiami de Melo Vasconcelos, Mônica Ferreira da Silva, dentre outros. Aos demais funcionários, colegas, bolsistas e estagiários do IFCE *Campus* Sobral e da Embrapa Caprinos e Ovinos. Obrigado!

Estendo meus agradecimentos aos professores do Mestrado em Tecnologia de Alimento 2015.2 e também aos Professores do IFCE/*Campus* Sobral, em especial a Prof^a. Geórgia Maciel Dias Moraes.

Aos colegas do Mestrado turma 2015.2. Obrigado!

Em especial as amigas Edilene Ferreira da Silva e Elisabeth Mariano Batista pela a permuta de aprendizagens, companheirismos e pelos momentos de descontração, fazendo a rotina do trabalho ser mais leve e passar mais rápido.

À empresa, Embrapa Caprinos e Ovinos (CNPQ) pela parceria desenvolvida entre o IFCE/*Campus* Limoeiro do Norte e IFCE/*Campus* Sobral, pelo suporte técnico, financeiro, pessoal e administrativo durante o desenvolvimento da pesquisa.

Agradeço a Nutrição/Amway do Brasil Ltda-Ubajara-CE, em nome de Victor Cals de Oliveira, pela a doação das acerolas utilizadas na pesquisa.

A empresa Alimec Embalagens & Insumos Alimentícios pela doação das gomas utilizadas nos pré-teste.

A empresa Danisco/DuPont[®] pela doação das gomas e cultura *starter* utilizadas no presente trabalho.

Agradeço a FUNCAP pela concessão de bolsa de Mestrado. Uma grande oportunidade.

A todos os provadores participantes da análise sensorial. Obrigado!

Àqueles que no anonimato, desdobraram-se para me entender e ajudar.

“Não há nada de nobre em sermos superiores ao próximo. A verdadeira nobreza consiste em sermos superiores ao que éramos antes.”

(Esopo)

RESUMO

A procura por alimentos funcionais vêm crescendo nos últimos anos, portanto é importante desenvolver produtos com essas propriedades. Neste trabalho foi desenvolvido um queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com ação antioxidante a partir de leite de cabra, com adição da cultura de *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) em co-cultura com *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (cultura nativa, isolada a partir de leite de cabra) adicionado de polpa de acerola. Foi verificado o efeito da polpa de acerola sob a viabilidade do microrganismo probiótico. As propriedades antioxidantes da polpa de acerola e do queijo *Petit-Suisse* também foram analisadas. Foram produzidos dois tipos de queijo *Petit-Suisse* caprino, ambos utilizando *S. thermophilus* TA-40 como cultura *starter* + a cultura probiótica *L. plantarum* (CNPQ 003), com adição de polpa de acerola 10% (QPST1) e sem adição de polpa de acerola (QPST2), e foram armazenados a 4 °C. A viabilidade da cultura *starter* e do probiótico foram monitorados após fabricação e aos 14 e 28 dias de armazenamento, enquanto que análises de pH, acidez titulável, sólidos solúveis, vitamina C e atividade de água foram realizadas com 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento. Foi também determinada a composição centesimal dos queijos. O presente estudo mostrou que o queijo *Petit-Suisse* caprino, com polpa de acerola é tecnologicamente viável. Apresentou-se com boa qualidade físico-química e as populações de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 permaneceram acima de 8 Log UFC.g⁻¹ e de *S. thermophilus* superiores a 9 log UFC g⁻¹ ao longo do período de armazenamento estudado. O queijo produzido apresentou-se rico em vitamina C, com potencial antioxidante e dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação. Foi aceito sensorialmente pelos provadores com notas acima de 7 para todos os atributos testados o que corresponde a gostei na escala hedônica de 9 pontos utilizada no teste. A sobrevivência da cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 após 6 horas de ensaio de simulação gastrointestinal *in vitro* não foi influenciada pela incorporação da polpa de acerola no QPST1, com uma maior taxa de sobrevivência no início do armazenamento.

Palavras-chave: Bactéria autóctone. Cultura lática. Queijo cremoso. Vitamina C. Sobrevivência gastrointestinal *in vitro*.

ABSTRACT

The demand for functional foods has been growing up in the recent years, so it is important to develop products with these properties. A potential probiotic *Petit-Suisse* cheese with antioxidant action from goat's milk, with the addition of *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) culture in co-cultivation with *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (native culture, isolated from goat's milk) added with acerola pulp was developed in this work. The effect of acerola pulp under the viability of the probiotic microorganism was verified. The antioxidant properties of the acerola pulp and *Petit-Suisse* cheese were also analyzed. Two types of *Petit-Suisse* goat cheese were produced, both using *S. thermophilus* TA-40 as *starter* culture + probiotic culture *L. plantarum* (CNP 003), with addition of 10% acerola pulp (QPST1) and without addition of acerola pulp (QPST2), and they were stored at 4 °C. The viability of both the starter culture and the probiotic were monitored after manufacturing and at 14 and 28 days of storage, while pH, titratable acidity, soluble solids, vitamin C and water activity analyzes were performed at 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage. The centesimal composition of the cheeses was also determined. The present study showed that *Petit-Suisse* goat cheese with acerola pulp is technologically viable. It presented itself with a good physicochemical quality and the populations of *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 remained above 8 Log UFC.g⁻¹ and *S. thermophilus* higher than 9 log CFU g⁻¹ during the storage period studied. The produced cheese showed itself rich in vitamin C, with antioxidant potential and within the microbiological standards required by the legislation. It was sensorially accepted by the panelists with scores above 7 for all attributes tested which corresponds to liked in the hedonic scale of 9 points used in the test. The survival of *Lactobacillus plantarum* probiotic strain CNPC 003 after 6 hours of *in vitro* gastrointestinal simulation trial was not influenced by the incorporation of acerola pulp into QPST1, with a higher survival rate at the beginning of storage.

Keywords: Bacteria autochthonous. Lactic culture. Cream cheese. Vitamin C. Gastrointestinal survival *in vitro*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de processamento da massa-base caprina do queijo.....	48
Figura 2 - Fluxograma de processamento dos queijos <i>Petit-Suisse</i> caprino.	50
Figura 3 - Aparência geral das polpas de acerola <i>in natura</i> (A) e pasteurizada a 90 °C (± 2 °C) por 3 minutos, pelo sistema de pasteurização <i>Hot-Pack</i> (B).....	72
Figura 4 - (A) Queijo <i>Petit-Suisse</i> caprino sabor acerola QPST1 e (B) queijo <i>Petit-Suisse</i> caprino sem polpa de acerola, controle (QPST2).	78
Figura 5 - Sobrevivência das populações de <i>L. plantarum</i> CNPC 003 (média $\pm$ DP) ¹ nos QPST1* e QPST2*, com 1, 14 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração e cultura fresca. 93	
Figura 6 - Frequência das intenções de compra do queijo <i>Petit-Suisse</i> caprino com polpa de acerola (QPST1*), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento sob temperatura de refrigeração 4 °C $\pm$ 2 °C.	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Aplicabilidade da acerola na indústria alimentar e sua avaliação sensorial.	43
Tabela 2 - Tratamentos utilizados na elaboração dos queijos <i>Petit-Suisse</i> (QPS) caprinos potencialmente probiótico adicionado com polpa de acerola QPST1 e controle, sem adição da polpa de acerola QPST2.....	47
Tabela 3 - Formulação dos queijos <i>Petit-Suisse</i> potencialmente probióticos caprinos adicionados com e sem adição da polpa de acerola.	49
Tabela 4 - Valores médios (média $\pm$ DP) ¹ de acidez titulável, gordura, pH e vitamina C, do leite.....	68
Tabela 5 - Valores (média $\pm$ DP) ¹ de pH, acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis das polpas de acerola <i>in natura</i> e submetidas ao tratamento térmico (pasteurização), após 1º dia de processamento.	69
Tabela 6 - Valores das coordenadas da análise de Cor (média $\pm$ DP) ¹ das polpas de acerola <i>in natura</i> e submetidas ao tratamento térmico (pasteurização), após processamento.....	71
Tabela 7 - Valores (média $\pm$ DP) ¹ de pH, acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.....	73
Tabela 8 - Valores das coordenadas da análise de Cor (média $\pm$ DP) ¹ do tratamento QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.	76
Tabela 9 - Composição centesimal (média $\pm$ DP) ¹ das polpas de acerola <i>in natura</i> e com o tratamento térmico (pasteurização), após 1 dia de processamento.	79
Tabela 10 - Composição centesimal (média $\pm$ DP) ¹ do queijo <i>Petit-Suisse</i> , tratamento QPST1 e QPST2 armazenado em temperatura de refrigeração de 4 °C ($\pm$ 2 °C) no produto final (1 dia) e após, 14 e 28 dias de armazenamento.....	82
Tabela 11 - Valores (média $\pm$ DP) ¹ da população de <i>Lactobacillus plantarum</i> no fermento liofilizado (DVS) e atividade de água, no produto final (1 dia).	84
Tabela 12 - Contagem de microrganismos indicadores de contaminação na polpa de acerola <i>in natura</i> e na submetida ao tratamento térmico (pasteurização), após 1 ° dia de processamento.	85
Tabela 13 - Contagem de microrganismos indicadores de contaminação nos tratamentos QPST1 e QPST2 armazenados em temperatura de 4 °C $\pm$ 2 °C nos queijos <i>Petit-Suisse</i> com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.....	87

Tabela 14 - Valores (média $\pm$ DP) ¹ das populações de <i>S. thermophilus</i> e <i>L. plantarum</i> nos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.	89
Tabela 15 - Taxa de sobrevivência (TS%) (Média $\pm$ DP) ¹ das populações de <i>L. plantarum</i> CNPC 003, nos queijos <i>Petit-Suisse</i> e cultura fresca.	95
Tabela 16 - Efeito do tratamento térmico sob os compostos bioativos, vitamina C, carotenoides totais e antocianinas totais (média $\pm$ DP) ¹ na polpa de acerola <i>in natura</i> e submetido ao tratamento térmico (pasteurização), após 1º dia de processamento.	99
Tabela 17 - Comparação do teor de vitamina C (ácido ascórbico em mg.100 g ⁻¹) observado na literatura e aos obtidos nas polpas <i>in natura</i> e pasteurizada utilizadas no queijo <i>Petit-Suisse</i>	100
Tabela 18 - Efeito da incorporação de polpa de acerola no queijo <i>Petit-Suisse</i> e estabilidade dos compostos bioativos, vitamina C, carotenoides, antocianinas totais e polifenóis totais (média $\pm$ DP) ¹ , no produto final e com até 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração (4 °C $\pm$ 2 °C).	104
Tabela 19 - Efeito da incorporação de polpa de acerola no queijo <i>Petit-Suisse</i> : estabilidade da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> pelos métodos ABTS ^{•+} (TEAC) e DPPH [•] (AAT) (média $\pm$ DP) ¹ , no produto final e com até 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração (4 °C $\pm$ 2 °C).	113
Tabela 20 - Parâmetros da análise do Perfil de Textura (TPA) instrumental (média $\pm$ DP)* dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.	117
Tabela 21 - Viscosidade relativa (média $\pm$ DP)* dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de 4 °C ($\pm$ 2 °C) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.	120
Tabela 22 - Resultados do questionário de recrutamento “Perfil do provador”.	122
Tabela 23 - Aceitação sensorial do queijo <i>Petit-Suisse</i> caprino com polpa de acerola QPST1 analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento, sob temperatura de refrigeração 4 °C $\pm$ 2 °C.	124
Tabela 24 - Frequência dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados para o queijo <i>Petit-Suisse</i> com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento em relação ao número total de provadores em cada período de amostragem.	128
Tabela 25 - Resumo dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados pelos provadores para o queijo <i>Petit-Suisse</i> com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento. Comentários relativos aos atributos aparência e sabor, com apresentação do número de citações e o total de provadores (n) em cada período de amostragem. Continua na Tabela 26.	129

Tabela 26 - Continuação. Resumo dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados pelos provadores para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento. Comentários relativos aos atributos textura e cor, com apresentação do número de citações e o total de provadores (n) em cada período de amostragem. 130

LISTA DE EQUAÇÕES

Eq. 1 Carboidratos totais, por diferença	54
Eq. 2 Valor Calórico Total.....	54
Eq. 3 Açúcares não redutores, por diferença	55
Eq. 4 Taxa de sobrevivência (TS%).	60

LISTA DE ABREVIATURAS

a*	Tom ^(Hue) e/ou cor
AAT	Atividade Antioxidante Total pelo método do DPPH•
ABTS• ⁺	2,2 AZINO BIS (3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid
AnT	Antocianinas Totais
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APT	Água Peptonada Tamponada
A _w	Atividade de Água
b*	Saturação da cor
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-Hidroxi-Tolueno
c*	Pureza ^(Chroma)
CE	Ceará
CF	Cultura Fresca
CFIA	Canadian Food Inspection Agency
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
DFI	2,6-Diclorofenol Indofenol
DPPH•	Radical 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil
DVI	Inoculação de Válvula Direta
DVS	<i>Direct Vat Set</i>
EC ₅₀	Quantidade em g de queijo, necessária para reduzir em 50% do radical presente na solução de DPPH) em g.g ⁻¹ DPPH•
EPS	Exopolissacarídeos
ERA	RE Retinol Activity Equivalent
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EST	Extrato Seco Total
FAO	Food and Agriculture Organization
Formulação 1,.. 2, ..3 ... etc	(F1), ... (F2), ... (F3), ... etc
GRAS	Geralmente Consideradas Seguras
h*	Ângulo Hue
HE	Ágar Hektoen-Enteric

IA %	Índice de Aceitabilidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDA	Ingestão DIária Aceitável
IDF	International Dairy Federation
IDR	Ingestão Diária Recomendada
IOM	Institute of Medicine
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
L*	Luminosidade
LAB	Bactérias de Ácido Lático
LCTA	Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Log UFC.g ⁻¹	Logaritmo unidade formadora de colônias por grama
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MRS	De Man, Roggosa & Sharpe
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA-IN	Polpa de acerola <i>in natura</i>
PA-P	Polpa de acerola pasteurizada
PET	Polifenóis Extraíveis Totais
PG	Propil Galato
QPST1	Queijo <i>Petit-Suisse</i> potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo
QPST2	Queijo <i>Petit-Suisse</i> potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.
RJ	Rio de Janeiro
RV	Caldo Rappaport-Vassiliadis
SBA	Ágar Sulfito de Bismuto
T0	Populações de <i>Lactobacillus plantarum</i> no meio de cultura ou nos produtos, antes das simulações Gastrintestinais
TA-40	<i>Streptococcus thermophilus</i>
TBHQ	Terc-butil hidroquinona
TCLE	Termo de Consentimento Livre de Esclarecimento
TEAC	Capacidade Antioxidante Total pelo método do ABTS ^{•+}

TGI	Sobrevivência gastrintestinais simuladas <i>in vitro</i>
TI	Simulação Fase Gástrica
TII	Fase Entérica 1
TIII	Fase Entérica 2
TPA	Análisar o perfil de textura
TPA	Análise do Perfil de Textura
Tratameto 1,.. 2, ... 3 ... etc	(T1), ... (T2), ... (T3), ... etc
TS%	Taxa de Sobrevivência
TT	Caldo Tetracionato
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UHT	Ultra High Temperature
UVA	Universidade Estadual do Vale do Acaraú
UV-Visível	Luz Ultravioleta
Vitamina B1	Tiamina
Vitamina B2	Riboflavina
Vitamina B6	Piridoxina
WHO	World Health Organization
XLD	Xilose Lisina Desoxilato

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	22
2 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA	23
2.1 Leite e Produtos Lácteos Caprinos	23
2.1.1 Leite de Cabra	23
2.1.2 Queijos Caprinos	25
2.2 Queijo “Petit-Suisse”	27
2.3 Alimentos Funcionais e Probióticos	29
2.4 Probióticos-Tecnologia de Aplicação	32
2.5 Queijo “Petit-Suisse” como Veículo de Probióticos	32
2.6 Culturas Lácticas em Queijos	33
2.6.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	35
2.6.2 <i>Streptococcus thermophilus</i>	37
2.7 Antioxidantes	38
2.8 Acerola	40
2.8.1 Características da Acerola	40
2.8.2 Produtos da Acerola	43
3. OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo Geral	44
3.2 Objetivos Específicos	44
4 METODOLOGIA	45
4.1 Local da Pesquisa	45
4.2 Obtenção das Culturas Lácticas	45
4.3 Processo de Produção do Fermento Liofilizado	45
4.4 Origem da Acerola	46
4.5 Produção da Polpa de Acerola	46
4.6 Produção dos Queijos “Petit-Suisse”	46
4.6.1 Processamento da Massa-Base	46
4.6.2 Processamento dos Queijos Petit-Suisse	48
4.7 Análises Físico-Químicas dos Ingredientes e dos Queijos Petit-Suisse	50
4.7.1 Fermento Liofilizado <i>L. plantarum</i> CNPC 003	50
4.7.2 Leite Caprino Utilizado na Produção da Massa-Base	50

4.7.3 Análises Físico-Químicas das Polpas de Acerola	51
4.7.4 Análises Físico-Químicas dos Queijos Petit-Suisse	52
4.8 Análises de Composição dos Ingredientes e dos Queijos Petit-Suisse	53
4.8.1 Composição Centesimal das Polpas de Acerola	53
4.8.2 Composição Centesimal dos Queijos Petit-Suisse	55
4.9 Análises Microbiológicas dos Ingredientes e dos Queijos Petit-Suisse.....	56
4.9.1 Viabilidade do Fermento Liofilizado <i>L. plantarum</i> CNPC 003	56
4.9.2 Determinação dos Parâmetros Microbiológicos Sanitários das Polpas de Acerola	57
4.9.3 Determinação dos Parâmetros Microbiológicos Sanitários dos Queijos Petit-Suisse.....	58
4.9.4 Viabilidade das Populações de <i>L. plantarum</i> e <i>S. thermophilus</i> nos Queijos Petit-Suisse.....	58
4.9.5 Sobrevivência do Probiótico Frente às Condições Gastrintestinais Simuladas in vitro nos Queijos Petit-Suisse	59
4.10 Análises de Antioxidantes dos Ingredientes e dos Queijos Petit-Suisse	60
4.10.1 Métodos de Quantificação de Compostos Bioativos nas Polpas de Acerola	60
4.10.1.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)	61
4.10.1.2 Determinação de Carotenoides Totais	61
4.10.1.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT)	62
4.10.2. Métodos de Quantificação de Compostos Bioativos, nos Queijos Petit-Suisse	62
4.10.2.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)	62
4.10.2.2 Quantificação de Ácido Ascórbico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	63
4.10.2.3 Determinação de Carotenoides Totais	63
4.10.2.4 Teor de Antocianinas Totais (AnT)	63
4.10.2.5 Polifenóis Extraíveis Totais (PET)	64
4.10.3 Determinação da Capacidade Antioxidante in vitro nos Queijos Petit-Suisse.	64
4.10.3.1 Capacidade Antioxidante Total (TEAC) pelo método ABTS^{•+}	64
4.10.3.2 Atividade Antioxidante Total pelo Método DPPH[•]	65
4.11 Análise do Perfil de Textura (TPA) dos Queijos Petit-Suisse	66
4.12 Análise de Viscosidade Relativa	66
4.13 Análise Sensorial e de Intenção de Compra	66
4.14 Tratamento Estatístico	67

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
5.1. Análises Físico-Químicas dos Ingredientes e dos Queijos <i>Petit-Suisse</i>	68
5.1.1 Análises Físico-Químicas do Leite.....	68
5.1.2 Análises Físico-Químicas das Polpas de Acerola	69
5.2 Análises de Composição dos Ingredientes e dos Queijos <i>Petit-Suisse</i>	79
5.2.1 Composição Centesimal das Polpas de Acerola	79
5.3 Análises Microbiológicas dos Ingredientes e dos Queijos <i>Petit-Suisse</i>.....	84
5.3.1 Viabilidade do Fermento Liofilizado <i>L. plantarum</i> CNPC 003.....	84
5.3.2 Caracterização Microbiológica das Polpas de Acerola	85
5.3.3 Análises Microbiológicas dos Queijos <i>Petit-Suisse</i>.....	87
5.3.4 Viabilidade das Populações de <i>L. plantarum</i> e <i>S. thermophilus</i> nos Queijos <i>Petit-Suisse</i>.....	89
5.3.5 Sobrevivência do Probiótico Frente as Condições Gastrintestinais Simuladas <i>in vitro</i>.....	92
5.4 Análises de Antioxidantes dos Ingredientes e dos Queijos <i>Petit-Suisse</i>	99
5.4.1 Quantificação de Compostos Bioativos nas Polpas de Acerola	99
5.4.1.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C) nas Polpas de Acerola.....	99
5.4.1.2 Determinação de Carotenoides Totais nas Polpas de Acerola	100
5.4.1.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT) nas Polpas de Acerola	102
5.4.2 Quantificação de Compostos Bioativos, nos Queijos <i>Petit-Suisse</i>.....	103
5.4.2.1 Determinação de Ácido Ascórbico nos Queijos <i>Petit-Suisse</i> por Método Titulométrico e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	103
5.4.2.2 Determinação de Carotenoides Totais	107
5.4.2.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT)	110
5.4.2.4 Polifenóis Extraíveis Totais (PET)	111
5.4.3 Determinação da Capacidade Antioxidante <i>in vitro</i> nos Queijos <i>Petit-Suisse</i>.	113
5.5 Análise do Perfil de Textura (TPA)	117
5.6 Análise de viscosidade relativa	120
5.7 Análise sensorial e de intenção de compra	121
6 CONCLUSÃO.....	132
REFERÊNCIAS¹	133
APÊNDICES	164

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO “PERFIL DO PROVADOR”	164
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE DE ESCLARECIMENTO - TCLE	168
APÊNDICE C - MODELO DA FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL QUE SERÁ UTILIZADA NAS ANÁLISES DO PRESENTE TRABALHO.....	170
APÊNDICE D - CONTROLE DO pH DURANTE OS TESTES DE SOBREVIVÊNCIA DE <i>L. plantarum</i> CNPC 003 NOS QUEIJOS <i>Petit-Suisse</i> (QPST1 E QPST2) SUBMETIDOS ÀS CONDIÇÕES GÁSTRICAS E ENTÉRICAS I E II SIMULADAS <i>in vitro</i>, APÓS 1, 14 E 28 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO E CULTURA FESCA.....	171

1 INTRODUÇÃO

Os queijos, além de conservarem as características nutricionais da matéria prima, podem ser utilizados como base para a incorporação de outros ingredientes, como polpas de frutas e microrganismos probióticos, resultando na obtenção de produtos funcionais, que quando ingeridos regularmente, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Entre os queijos com características próbióticas destacam-se os frescos cremosos adicionados de polpa de frutas, como os “*cream cheese*”, “Boursin” e “*Petit-Suisse*”, que se constituem como ótimos veículos para bactérias probióticas, e têm grande aceitação pelo público infantil.

A viabilidade de bactérias probióticas na matriz alimentícia é um pré-requisito para garantir o seu efeito sobre a saúde dos hospedeiros. Tais microrganismos, além de atuarem favoravelmente no produto ao qual foram adicionados, devem atender a alguns requisitos, como sobreviver à passagem do trato gastrointestinal humano e, também, serem capazes de se desenvolverem no intestino humano.

Atualmente o mercado do setor láctico disponibiliza uma diversidade de produtos probióticos, principalmente iogurtes com grande variedade de sabores, que são consumidos até por pessoas que não apreciam o sabor do leite. O queijo *Petit-Suisse* constitui mais uma alternativa para essas pessoas, em decorrência de poder ser fabricado com ampla variedade de frutas *in natura*, polpas de frutas ou sucos, como ocorre com o iogurte e isso tem conquistado de maneira especial os consumidores, principalmente o público infantil.

Fruto tropical de grande potencial econômico e excelente valor nutricional, devido ao seu alto teor de ácido ascórbico e a presença de antocianinas, a acerola (*Malpighia emarginata* DC) se destaca no campo dos frutos funcionais. Pela habilidade desses compostos em capturar radicais livres no organismo humano, a acerola pode apresentar portanto grande potencial para ser utilizada na elaboração de lácteos com características funcionais.

O desenvolvimento de um queijo *Petit-Suisse* probiótico a base de leite de cabra (conservando as propriedades do leite caprino), e adicionado de polpa de acerola, pode constituir uma ótima opção para um novo produto lácteo funcional, para consumidores que buscam alimentos saudáveis. Nesse sentido, pode impulsionar o desenvolvimento da cadeia produtiva da caprino-cultura leiteira e cultivo da acerola, pela agregação de valor ao leite de cabra por meio de um produto diferenciado e nova aplicabilidade industrial da polpa de acerola, contribuindo para a sustentabilidade da produção nas duas cadeias.

2 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

2.1 Leite e Produtos Lácteos Caprinos

2.1.1 Leite de Cabra

Segundo definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), o leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de cabras sadias, bem alimentadas e descansadas. De alto valor nutritivo e qualidade dietética, é um alimento que apresenta elementos necessários à nutrição humana, como: açúcares, proteínas, gorduras, vitaminas e sais minerais.

Além disso, o leite caprino apresenta melhor digestibilidade que o leite de vaca apresentando, ainda, alcalinidade, capacidade tamponante, e alguns valores terapêuticos na medicina e nutrição humana (PARK et al., 2007).

A composição do leite de cabra varia de acordo com a raça, as condições ambientais, o estágio da lactação, a alimentação, os cuidados dispensados ao animal, o ciclo estral, o estado de saúde, a idade, a quantidade de leite produzida e a fisiologia individual do animal, possui em média 3,7% de gordura, 3,3% a 3,4 de proteína, 4,4% de lactose, 0,7% de cinzas, 12,4% de extrato seco total (EST), e 8,2% de extrato seco desengordurado (ESD) (DOMINGO et al., 2006; FAO, 2013), cálcio de 118 mg/100 g, com um valor calórico de 66 kcal/100 g e ainda apresenta cerca de 1,1 mg/100 g de ácido ascórbico, 45 µg/100 g de retinol e 13 µg/100 g de carotenoides (FAO, 2013).

Os leites caprinos e ovinos apresentam níveis de vitamina A mais alto do que o leite de vaca porque as cabras convertem todo β -caroteno em vitamina A no leite, o que torna o leite caprino mais branco do que o de vaca. O leite de cabra supre adequadamente a necessidade de vitamina A e niacina, e excede a de tiamina, riboflavina e pantotênico para bebês humanos (PARK, 1994; PARK et al., 2007).

O leite de cabra é um composto físico e químico complexo, trata-se, basicamente, de uma emulsão de gordura numa solução aquosa, contendo vários elementos, alguns, como a lactose e minerais, estão dissolvidos, e outros em forma coloidal, como os compostos nitrogenados (MUNDIM, 2008).

Tipicamente, o leite caprino possui uma acidez natural um pouco menor do que o leite de vaca, pH próximo de 6,45, densidade entre 1,026 a 1,042 e ponto de congelamento de aproximadamente -0,58°C (RIBEIRO; RIBEIRO, 2005).

O valor nutritivo do leite de cabra é reconhecido para a nutrição também devido a suas propriedades peculiares, como sua composição protéica e lipídica, pois embora

quantitativamente os teores de gordura e proteína do leite caprino sejam semelhantes aos do leite bovino, em termos de qualidade, diferem muito entre si (OSMARI, 2006).

O principal motivo para o consumo de leite caprino por alérgicos ao leite de vaca é a sua composição protéica. Os leites bovino e caprino são considerados superiores ao leite de soja em sua constituição de aminoácidos, pequenas moléculas constituintes das proteínas que são necessárias para o bom desenvolvimento do nosso organismo, e por possuírem variedades de aminoácidos essenciais, possuem maior valor biológico. Contudo, a mesma proteína aS1 (Alfa-caseína S1), presente no leite de ambos os ruminantes, possui uma diferença com relação a posição do isômero, razão pela qual a aS1 presente no leite bovino provoca alergia em algumas pessoas, mas a aS1 do leite de cabra não (OSMARI, 2006).

A grande quantidade de proteínas e fosfato no leite de cabra conferem maior capacidade de proteção quando comparada ao leite de vaca. Algumas propriedades físico-químicas fazem o leite de cabra possuir menores glóbulos de gordura e maior porcentagem de ácidos gordurosos de pequena e média cadeia. O leite de cabra também tem uma maior biodisponibilidade de ferro que o leite de vaca (PARK, 1994).

O uso do leite de cabra como um alimento hipoalergênico ou como substituto do leite de vaca em dietas humanas tem sido relatado em inúmeros estudos sobre pessoas que sofrem de eczema, asma, catarro crônico, enxaqueca, cólica, úlcera estomacal, disfunção epigástrica e dores abdominais devido a alergenicidade das proteínas do leite de vaca (TAITZ; ARMITAGE, 1984).

Segundo a FAO (1987), o tamanho médio dos glóbulos de gordura no leite caprino é de 2,5 a 3,5 microns, sendo que este menor tamanho facilita uma maior dispersão e uma distribuição mais homogênea da gordura. A homogeneização natural do leite de cabra é, do ponto de vista de saúde pública, mais valiosa que a homogeneização mecânica ao qual o leite de vaca é submetido.

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) cita que o efetivo de caprinos, espécie *Capra aegagrus hircus* (bodes, cabras e cabritos) no Brasil é de aproximadamente 9,61 milhões de cabeças, representando uma variação positiva de 8,6% em relação a 2014. O Nordeste detém o maior efetivo de caprinos, sendo responsável por 92,7% do total da espécie no País. Em relação a 2014, houve aumento de 9,9% nessa região, com cerca de 800 mil animais a mais.

Em 2014 o rebanho mundial era da ordem de 1.006.785.725 milhões (FAO, 2015). Analisando-se a evolução do rebanho caprino mundial nos últimos 5 anos, observa-se uma taxa de crescimento anual da ordem de 1%, apontando para pequenas mudanças deste cenário

em 2016. Dentre os países com maiores rebanhos destacam-se China, Índia, Nigéria, Paquistão e Bangladesh, respectivamente com 19%, 13%, 7%, 6,6%, e 5,6% da participação mundial. O Brasil aparece como o 22º maior rebanho mundial de caprinos, com cerca de 8.851.879 animais, de acordo com esta mesma fonte.

Bahia e Pernambuco responderam por mais de 50% do efetivo nacional, com 27,4% e 25,3%, respectivamente, seguidos por Piauí (12,8%) e Ceará (11,6%) (IBGE, 2015).

De acordo com o Boletim Eletrônico Mensal da Embrapa Gado de Leite (INDICADORES: LEITE E DERIVADOS, 2015) a produção mundial de leite de cabra em 2013 foi de 17.957.372 mil litros.

A estimativa da produção de leite caprino no Brasil em 2012, foi de 35.740.188 litros/ano, em média 97.918 litros/dia, sendo 67% da produção total anual é oriunda da agricultura familiar (IBGE, 2012).

De acordo com Bomfim et al. (2013) a produção de leite de cabra industrializado nos principais estados produtores do Brasil e sua destinação predominante dos produtos; São Paraíba, com cerca de 3.150.583 litros de leite, Pernambuco com cerca de 2.714.120 litros de leite, Rio Grande do Norte 894.249 litros de leite e Ceará 561.468 litros de leite, pasteurizados destinados a programa do governo. Enquanto o estado do Rio de Janeiro, com cerca de 2.040.000 litros de leite longa vida (UHT), leite em pó e queijos fermentação enzimática, seguido por Minas Gerais, com cerca de 630.000 litros de leite congelado / iogurte e queijos, São Paulo 582.000 litros de leite congelado / iogurte e queijos, Rio Grande do Sul 1.100.000 litros de leite UHT, leite em pó, queijos, Paraná 380.000 litros de leite congelado/ queijos e Santa Catarina 260.000 litros de leite congelado/ queijos.

Embora a produção, transformação e comercialização mundial de leite de cabra e os seus subprodutos sejam muito mais baixos do que o leite de vaca, produtos de cabra são amplamente consumido no mundo (GEROSA; SKOET, 2012; QUEIROGA et al, 2013).

2.1.2 Queijos Caprinos

Conforme dados do DIPOA, em 2005, os queijos caprinos foram o terceiro colocado entre os produtos lácteos mais produzidos no Brasil, atingindo 661 mil toneladas de queijos. Estes dados ilustram bem a importância social e econômica do produto láctico (BOURROUL, 2006). No Brasil, houve um consumo *per capita* de 3,4 quilogramas de queijo ao ano, em 2010, ante 2,6 quilogramas de 2000 a 2005, com um crescimento médio de 2,7% ao ano no período de 2000 a 2010. Em outros países, como Argentina, Canadá, Austrália e Estados

Unidos, há um consumo “*per capita*” de mais de 10 quilogramas/ano (ROHENKOHL et al., 2011; EMBRAPA GADO DE LEITE, 2008).

Há crescente interesse pela utilização do leite de cabra e seus derivados como alimento dotado de propriedades funcionais, em consonância com a atual tendência de alimentação saudável (OLALLA et al., 2009). A França e a Europa foram os líderes mundial em 2014, na transformação de leite de cabra em subprodutos, com cerca de 570 milhões de litros. Mais de 100.000 toneladas de queijo de cabra foram produzidos em 2014 na França, onde ocorre consumo da maior parte da produção. Cerca de 18% da produção de queijos de cabra são exportados. A Europa tem um consumo “*per capita*” por ano de 23 kg de queijo, em especial queijo de cabra (LES FORMAGES DE CHÉVRE, 2017).

Atualmente no Brasil, um queijo fabricado com leite de cabra, do tipo boursin, acrescido de microrganismos probióticos, chegará ao mercado consumidor, na cidade do Rio de Janeiro, em 2017. Trata-se do primeiro produto desse tipo no Brasil, e foi desenvolvido por pesquisadores da Embrapa Agroindústria de Alimentos (RJ) e da Embrapa Caprinos e Ovinos (CE), que há alguns anos vêm apostando em produtos derivados de leite caprino com probióticos. O queijo Boursin probiótico de leite caprino é um produto de coagulação mista elaborado com coalho (enzima) e adição de bactérias do tipo *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. Os testes pilotos nos queijos caprinos indicaram a sobrevivência das bactérias benéficas à saúde nas concentrações preconizadas internacionalmente. O queijo caprino Boursin é um dos produtos derivados do leite de cabra com características probióticas desenvolvido pela Embrapa. Entre outros estão o queijo Minas Frescal probiótico, queijo Coalho adicionado de lactobacilos, leite caprino probiótico fermentado com suco de uva, e bebida láctea probiótica a base de polpas de goiaba ou graviola (EMBRAPA, 2016).

Estudos relatam a eficiência do queijo Coalho, elaborado com leite de cabra, como matriz adequada para servir como um veículo para as bactérias probióticas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Outro achado importante foi que a incorporação das estirpes de ensaio não causou alterações nas características de qualidade dos produtos, mas em vez disso melhorou seus atributos sensoriais (GARCIA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012; SANTOS et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Em trabalhos com queijos caprinos cremosos potencialmente probiótico Santos et al. (2009b, 2010a,b), 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, apresentando bons resultados. 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., 2008) e queijo cremoso (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2007; BURITI et al., 2007) produzidos com leite bovino.

Rolim et al. (2015), estudaram a sobrevivência e viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 veiculadas em queijo Coalho semirrígido de cabra frente a condições gastrintestinal simuladas *in vitro* e o efeito inibitório contra *S. aureus* ATCC 25923, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. Enteritidis* UFPEDA 414 e *E. coli* UFPEDA 224. Os autores observaram que a viabilidade de *L. rhamnosus* EM1107 após 21 dias de armazenamento após as condições gastrintestinais simuladas *in vitro* foi de 6,75 log UFC/g, apresentando ótimos resultados. Além disso, o probiótico atrasou o crescimento de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* e *E. coli* em queijo de cabra durante 21 dias armazenamento refrigerado. Em resumo, o estudo demonstrou o potencial desta cepa probiótica, que pode ser utilizada como uma cultura protetora, retardando o crescimento de patógenos comumente associados a queijos de cabra.

Estão ocorrendo avanços nos segmentos da indústria de laticínios, como novos processos, inovações de produtos, produtos saudáveis, entre outros, está crescendo o grupo dos alimentos funcionais. Atualmente há um grande interesse por esses produtos, lácteos que favorecem a saúde do consumidor e por conter componentes que interferem em atividades fisiológicas e/ou metabólicas humanas.

Entretanto, existem ainda algumas dificuldades com relação à aceitação dos produtos lácteos fabricados a partir do leite de cabra, devido a características sensoriais peculiares como o sabor e o aroma. O leite caprino possui sabor e odor característicos, proporcionado pelo elevado teor de ácidos graxos de cadeia curta (capróico, caprílico e cáprico), que diminuem a aceitação sensorial por boa parcela da população não habituada ao seu consumo (ALVES et al., 2009).

2.2 Queijo “*Petit-Suisse*”

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), queijo é "o produto fresco ou maturado que se obtém 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, 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, adicionados ou não de especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes." A legislação complementa essa definição, reservando o nome queijo exclusivamente para produtos cuja base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de outra origem (BRASIL, 1996).

O queijo *Petit-Suisse* é um dos queijos macios preferidos pelos franceses, foi inventado no século 19 por Charles Gervais, um homem de negócios parisiense que fundou "les Fromageries Gervais" (As Queijarias Gervais), que se fundiram com a empresa Danone, fabricante de iogurte, em 1967. Charles Gervais desenvolveu a fabricação de queijos tipo *Petit-Suisse*, de acordo com a receita da Senhora Hérould, camponesa da região de Oise, que detinha o "segredo de fabricação destes pequenos queijos brancos". Foi a partir de sua associação com Madame Hérould, que surgiu a primeira Usina Gervais em Ferrieres-em-Bray na França, onde se encontra até hoje. O queijo *Petit-Suisse* tem uma mistura do sabor doce e salgado, e forma deliciosas combinações com frutas, mel e cereais. Este queijo é usado também como a base de diversos "desserts" (sobremesas) franceses tradicionais (QUEIJOS NO BRASIL, 2015).

O queijo *Petit-Suisse* é produzido com leite desnatado e adicionado de creme, juntamente com açúcar e frutas, de consistência cremosa, sua massa base é obtida pelo processo de coagulação mista (CARDARELLI et al., 2008).

Em geral, o queijo *Petit-Suisse* possui características semelhantes ao queijo Quark, como elasticidade, viscosidade e viscoelasticidade, as quais determinam a sua reologia e influenciam na consistência e estabilidade final (FOX et al., 2000).

A produção de queijo *Petit-Suisse* é tradicionalmente realizada nas indústrias de laticínios pelo método de centrifugação da coalhada ácida, obtendo-se a massa básica. Esta é posteriormente adicionada de sabor, embalada e comercializada sob refrigeração como queijo *Petit-Suisse*. Com o processo de ultrafiltração, o processo de fabricação do *Petit-Suisse* está se tornando mais rápido e com rendimento industrial aumentado (MORGADO; BRANDÃO, 1992). No Brasil, para a fabricação de queijo *Petit-Suisse* utiliza-se centrífuga para efetuar o processo de separação da massa, utilizada, com adição de açúcar, creme e polpa de frutas (PEREIRA, 2007). Na preparação deste queijo, a separação do soro é um passo crítico, particularmente devido ao risco microbiológico. O controle desta fase de produção é de grande importância para qualidade do produto, exigindo a aplicação de Boas de Práticas de Higiene, que podem ser limitadas em pequena escala de produção (GONÇALVES, 2009).

O queijo *Petit-Suisse* é um queijo de altíssima umidade, a ser consumido fresco, de acordo com a classificação estabelecida no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade

do Queijo *Petit-Suisse* (BRASIL, 2000a). Quando em sua elaboração tenham sido adicionados ingredientes opcionais não lácteos, até o máximo de 30% m/m, é classificada como queijo *Petit-Suisse* com adições. No caso em que os ingredientes opcionais sejam exclusivamente açúcares e/ou se adicionam substâncias aromatizantes/saborizantes, classifica-se como queijo *Petit-Suisse* com açúcar e/ou aromatizados/saborizados. O queijo *Petit-Suisse* deve ser envasado em embalagens de materiais adequados às condições de armazenamento, previstas de forma a conferir uma proteção adequada ao produto. Deve ser conservado e comercializado a temperaturas não superiores a 10 °C. De acordo com os critérios microbiológicos, o queijo *Petit-Suisse* deve cumprir com o estabelecido no Regulamento Técnico Geral para Fixação de Requisitos Microbiológicos de Queijos, para queijos de muita alta umidade com bactérias lácticas em forma viável e abundante (BRASIL, 2000a).

2.3 Alimentos Funcionais e Probióticos

O desenvolvimento de novos produtos alimentícios torna-se cada vez mais desafiador, à medida que procura-se atender à demanda dos consumidores por produtos que, concomitantemente, sejam saudáveis e atrativos. Portanto, a alimentação de indivíduos com estilo de vida saudável tende a ser um ato prazeroso e que ao mesmo tempo, visa à saúde e o bem estar. Os efeitos benéficos de determinados tipos de alimentos sobre a saúde já são conhecidos há muito tempo (KOMATSU et al., 2008).

Alimentos funcionais são por definição, alimentos que possuem determinadas substâncias ou componentes alimentares que proporcionam benefício à saúde humana e redução do risco de doenças. Além de suas funções nutricionais, como fonte de energia e de substrato para a formação de células e tecidos, contêm uma ou mais substâncias que atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando as condições de saúde pelo aumento da efetividade do sistema imune, promovendo o bem-estar das pessoas e reduzindo o risco do aparecimento precoce de alterações patológicas e doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (THAMER & PENNA, 2006).

Um alimento funcional é aquele que é consumido como parte da alimentação tradicional, mas vem demonstrar benefícios fisiológicos e/ou reduzir o risco da incidência de uma doença crônica além das funções nutricionais (GOMES, 2007).

De acordo com a Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document, (1999) Consensus Document European Commission's Concerted Action on Functional Food Science in Europe (FuFoSE), coordenado pela International *Life Science*

Institute (ILSI) na Europa, para que um alimento possa ser considerado um alimento funcional, é necessário que, além da função nutricional básica, apresente efeitos benéficos sobre uma ou mais funções do organismo humano, de maneira que seu consumo apresente efeitos benéficos relevantes para qualquer melhoria positiva no estado de saúde e bem-estar e/ou redução do risco de doença. Deve ainda apresentar benefícios à saúde através do consumo de quantidades de alimentos que normalmente são consumidos na dieta (porção diária) (FUFOSE, 1999).

Alimentos funcionais podem ser definidos ainda como aqueles alimentos que, além de contribuírem com a nutrição, contêm substâncias que podem ser consideradas biologicamente ativas, produtoras de benefícios clínicos ou da saúde (KOMATSU et al., 2008).

Um alimento funcional pode ser um alimento natural, um alimento para o qual um componente foi adicionado, ou um alimento a partir da qual um componente foi removido por tecnológico ou processos biotecnológicos (meios tecnológicos). Ele também pode ser um alimento onde o carácter de um ou mais componentes tenha sido modificado, ou um alimento em que a biodisponibilidade de um ou mais componentes possa ter sido modificado, ou qualquer combinação dessas possibilidades (FUFOSE, 1999). Esses alimentos possuem potencial para promover a saúde através de mecanismos não previstos na nutrição convencional, devendo ser salientado que esse efeito restringe-se à promoção da saúde humana e não à cura de doenças (SANDERS, 1998).

Alimentos contendo microrganismos probióticos viáveis em concentrações adequadas são considerados alimentos funcionais. Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; SANDERS, 2003).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) 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, quantidade de microrganismos viáveis que deve ser ingerida diariamente para obtenção do efeito benéfico (BRASIL, 2008), no entanto, revogada pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 2016) que no âmbito de sua aplicação, determina que a alegação de propriedade funcional ou de saúde deve ser definida pelo pesquisador (empresa) e será avaliada, caso a caso, com base nas definições e princípios estabelecidos na Resolução nº. 18, de 30 de abril de 1999, não existe mais um valor fixo para a alegação de probiótico.

Uma seleção adequada de cepas deve ser conduzida para o processamento de produtos alimentícios probióticos, visando garantir a sobrevivência dos microrganismos à passagem

pelo trato gastrointestinal, e posteriormente a manutenção da viabilidade no próprio produto, durante a produção e durante o armazenamento, conferindo as características tecnológicas típicas do produto (KOMATSU et al., 2008).

Para que os probióticos sejam utilizados em alimentos, os mesmos devem sobreviver ao processamento e durante o período de maturação e vida de prateleira do produto. A tecnologia empregada na fabricação do produto tem que dispor de bactérias suficientes, para que se mantenham viáveis em quantidades adequadas (ZACARIÁS et al, 2011). Para serem de importância fisiológica ao hospedeiro, os probióticos devem apresentar populações em concentrações de 10^6 - 10^7 UFC/g ou mL do produto e permanecerem viáveis no alimento para garantir sua ação terapêutica (HAULY, et al., 2005).

Os probióticos são capazes de atuar de três formas diferentes para conferir proteção contra patógenos (SAAD, 2006; TIRAPEGUI, 2006): Supressão ou redução do número de células viáveis ao produzir compostos com atividade antimicrobiana pela competição por nutrientes e por sítios de adesão; Alteração do metabolismo microbiano (aumentando ou diminuindo a atividade enzimática); Estimulação da imunidade do hospedeiro, aumentando a produção de anticorpos e a atividade dos macrófagos, conferindo ao indivíduo efeitos de ordem antimicrobiana, nutricional e fisiológica.

Algumas bactérias dos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e ainda algumas linhagens não patogênicas de *Escherichia coli* são utilizadas como probióticos, destacando-se principalmente os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em produtos lácteos fermentados. A conciliação de um ou mais gêneros de bactérias permite que haja maior sinergismo, potencializando o seu efeito no organismo, além de promover um ambiente para melhor desenvolvimento, onde bactérias são capazes de tornar o meio mais propício para o desenvolvimento de outras, conforme estudos de Zacarchenco (2003).

Bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium*, são as mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos para alimentos, uma vez que elas têm sido isoladas de todas as porções do trato gastrointestinal humano saudável (CHARTERIS et al., 1998; BIELECKA; BIEDRZYCKA, E; MAJKOWSKA, 2002). Dentre as bactérias do gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. animalis* subsp. *lactis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. animalis*, *B. catenulatum*, *B. pseudocatenulatum*, *B. pseudolongum* e *B. thermophilum*. Dentre as bactérias lácticas do gênero *Lactobacillus*, destacam-se *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. farciminis*, *L. kefiranoferiens*, *L. panis*, *L. brevis*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e

L. salivarius (COLLINS; THORNTON, G; SULLIVAN, 1998; HOLZAPFEL et al., 2001; LEE et al., 1999; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001).

2.4 Probióticos-Tecnologia de Aplicação

A sobrevivência e a viabilidade celular das bactérias probióticas são dependentes da espécie e da tecnologia de produção e, por isso, é comum a utilização de duas bactérias para a fermentação de um substrato: uma bactéria suporte e outra probiótica. A bactéria suporte tem a função de dar corpo ao produto pela síntese de exopolissacarídeos, e também a de promover o crescimento das bactérias probióticas, baixando o pH e estimulando seu crescimento (SAXELIN, 1999).

A tecnologia de fabricação de queijo cremoso por meio de coagulação lática é adequada para a incorporação de bactérias lácteas probióticas, por basear-se em um processo de fermentação e resultar em um produto fresco com elevada atividade de água e armazenamento em temperaturas de refrigeração por um período relativamente reduzido (HELLER et al., 2003 *apud* BURITI et al., 2008). O queijo *Petit-Suisse*, por se basear em processo de fermentação mista (lática e enzimática), também apresenta as características supracitadas, que são adequadas para a incorporação de bactérias lácteas probióticas.

Recomenda-se a combinação mais apropriada de uma “cultura *starter*” a uma bactéria probiótica específica que deve ser determinada por processo de seleção que irá avaliar o impacto das diferentes culturas *starter* sobre as propriedades sensoriais e a sobrevivência das bactérias probióticas. A preferência deve ser dada a uma cultura *starter* termofílica, visto que a maioria dos probióticos multiplica-se bem a 37 °C, e a uma cultura probiótica capaz de multiplicar-se durante a fermentação. Adicionalmente, a taxa de multiplicação da cultura *starter* deve ser moderada, permitindo a multiplicação da bactéria probiótica, e a cultura *starter* deve produzir compostos que favoreçam a multiplicação da cultura probiótica ou promover redução da tensão de oxigênio (OLIVEIRA et al., 2002).

2.5 Queijo “*Petit-Suisse*” como Veículo de Probióticos

O queijo *Petit-Suisse* tem apresentado boas condições de manutenção da viabilidade dos probióticos e características bastante peculiares e promissoras para um alimento funcional. Contudo, nos trabalhos com queijo *Petit-Suisse* probiótico e simbiótico desenvolvidos por Maruyama Cardarelli; Saad (2005), Maruyama et al. (2006), Cardarelli

(2006), a variável resposta da interferência de polpa de frutas não foi estudada. Já em estudo mais recente, Vieira (2013) avaliou o efeito da concentração de polpa de açaí a 10%, sobre a concentração presente de microrganismos probióticos e *starter* no queijo *Petit-Suisse*, apresentando excelentes resultados de sobrevivência, como também da capacidade das cepas utilizarem a polpa de fruta como fonte de nutrientes.

Estudos têm mostrado que o baixo pH dos leites fermentados pode ser inadequado para a sobrevivência de certas espécies de bactérias probióticas, e sugerem o queijo como veículo mais adequado para estas bactérias. O queijo, além de possuir maior pH que os leites fermentados, possui também uma matriz sólida, a qual pode proteger essas bactérias com maior eficiência que o ambiente fluido do leite, durante o período de estocagem e também durante o trânsito no organismo humano (KASIMOGLU; GÖNCÜOĞLU; AKGÜN, 2004; SONGISEPP et al., 2004; BERGAMINI et al., 2005).

Os queijos possuem diversas características que podem auxiliar na manutenção da viabilidade dos microrganismos probióticos. Dentre essas características, pode-se destacar o pH mais elevado em comparação aos leites fermentados, matriz sólida, alta atividade de água e a concentração relativamente elevada de gordura. Esses fatores auxiliam na manutenção da viabilidade dos microrganismos durante o armazenamento, oferecendo proteção aos probióticos na passagem pelo trato gastrointestinal dos seres humanos (KASIMOGLU; GÖNCÜOĞLU; AKGÜN, 2004; CICHOSKI et al., 2008).

A sobrevivência das bactérias probióticas em queijos frescos é maior quando comparada aos queijos maturados. Essa maior sobrevivência estaria relacionada ao menor tempo de armazenamento dos queijos frescos, ao menor teor de sal e ao maior teor de umidade e atividade de água, que não limitariam a multiplicação do probiótico (BURITI, 2005).

2.6 Culturas Lácticas em Queijos

As culturas lácticas têm sido largamente estudadas em virtude de sua aplicabilidade como culturas iniciadoras (*starters*) em diversos produtos fermentados. O uso industrial de lactobacilos como culturas iniciadoras para a indústria de alimentos depende de tecnologias de preservação necessárias para garantir a entrega de culturas estáveis em termos de atividade, viabilidade e funcionalidade (CARVALHO et al., 2003).

Tradicionalmente, o "*bulk starter*" (iniciador em massa) em forma líquida foi utilizado para inocular o leite utilizado na fabricação de queijo, iogurte, leitelho e outros produtos

fermentados. Ao longo dos últimos 10-15 anos, o uso de concentrados de células iniciais designados como culturas Direct Vat Set (DVS) ou Inoculação de Válvula Direta (DVI) tem sido cada vez mais usado, especialmente em pequenas plantas, para substituir as culturas *bulk starter* na fabricação de queijo. Note-se que os termos DVI e DVS são utilizados de forma intercambiável, embora os fornecedores particulares de cultura tenderão a usar apenas um termo (MULLAN, 2006).

Além desses concentrados celulares de alta atividade, os concentrados de células comerciais de atividade mais baixa têm sido utilizados por muitos anos para inocular leite para fabricação de kits por atacado e na fabricação de produtos de longo conjunto que requerem uma incubação prolongada. Esta contribuição, principalmente relacionada com as culturas DVS ou DVI, também irá comentar sobre o uso de concentrados na fabricação de kits por atacado. Os concentrados iniciais utilizados nas culturas DVI são preparações celulares concentradas contendo na ordem de 10^{11} - 10^{13} CFU / g, que estão disponíveis como grânulos congelados ou em forma granulada liofilizada (MULLAN, 2006).

As culturas iniciadoras modernas desenvolveram-se a partir da prática de retenção de pequenas quantidades de soro ou creme da fabricação bem sucedida de um produto fermentado no dia anterior e utilizando como inóculo ou iniciador para a produção do dia seguinte. Esta prática tem sido chamada de vários nomes, mas o termo "*back-slopping*" é usado principalmente em fabricação de salsicha fermentada (MULLAN, 2014).

As preparações de repiques (Bulk-Starter) representam várias desvantagens, como curto período de manutenção de viabilidade, baixa viabilidade econômica, em razão aos custos com transportes e a necessidades de sucessivas repicagens (PEPPLER; PERLMAN, 1979).

Além disso, Carvalho et al. (2004) relatam que os preparados liofilizados apresentam vantagens em comparação às demais técnicas de preparações, em termos de viabilidade, preservação a longo prazo, juntamente com a conveniência no manuseio, armazenamento, comercialização e aplicação. As vantagens da secagem por congelamento (liofilização) são óbvias. É um método conveniente para a preservação a longo prazo de armazenamento de uma vasta variedade de microrganismos (MALIK, 1992). A sobrevivência das culturas vai depender das condições de processamento do fermento (meio de crescimento, presença de compostos crioprotetores e as condições da liofilização) e do método de concentração celular (BRONSTEIN; ALEGRE, 1998).

Alguns agentes de criopreservação vêm sendo utilizados com segurança e eficácia (MALIK, 1976; MALIK, 1988), por exemplo leite desnatado e meso-inositol ou mel ou

glutamato ou rafinose, são usados para suspender as células a ser liofilizada a fim de protegê-las contra as injúrias provocadas pelo congelamento e secagem.

A utilização de leite como substrato durante a liofilização, se deve principalmente por esse ser um aditivo utilizado na microencapsulação de microrganismos congelados, e por esses conseguirem se proliferar em um meio semi-sintético contendo apenas lactose, alguns aminoácidos (cisteína, glicina e triptofano), vitaminas, nucleotídeos e alguns minerais (HASSINEN et al., 1951).

A importância comercial dos fermentos biológicos na indústria engloba a produção de diversos produtos lácteos como: queijo, creme de iogurte e leite. Estes produtos na indústria alimentícia, em termos de produção, permanecem atrás apenas das bebidas alcoólicas (CARVALHO et al., 2004).

Os fermentos lácteos são compostos de bactérias ácido-láticas iniciadoras ou são culturas *starters* e microrganismos secundários que também são denominados de culturas adjuntas, que são adicionadas, com a finalidade de reproduzir a microbiota láctica de queijos. As bactérias ácido-láticas iniciadoras são responsáveis pela produção de ácido durante a elaboração do queijo e contribuem para o processo de cura. Já, os microrganismos secundários geralmente estão envolvidos na definição das características sensoriais do queijo (BERESFORD et al., 2001).

As principais funções dos fermentos lácteos são prolongar a vida de prateleira e aumentar a segurança do produto lácteo devido à função de biopreservação por meio dos metabólitos produzidos, também como melhorar as propriedades sensoriais, propriedades reológicas, físicas, como viscosidade, elasticidade e nutricionais de leites fermentados. Para o funcionamento ideal dos fermentos é necessário que este apresente segurança, pureza e estabilidade em ativos fermentados (SURONO; HOSONO, 2011). Além de exercerem uma influência considerável sobre as características físico-químicas e sensoriais dos queijos, as culturas lácticas são úteis por possuírem atividade inibitória sobre microrganismos patogênicos e deteriorantes presentes (SHAH, 2000).

2.6.1 *Lactobacillus plantarum*

Os *Lactobacillus* podem ser divididos em 3 grupos, tendo por critério o produto final de sua fermentação: *Lactobacillus* termofílicos homofermentativos obrigatórios que fermentam apenas hexoses à ácido láctico (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* e *Lactobacillus helveticus*); *Lactobacillus* mesofílicos

heterofermentativos facultativos, que são capazes de fermentar outras fontes de carbono além das hexoses, produzindo ácidos orgânicos, CO₂, álcool e H₂O₂ (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus plantarum*); e *Lactobacillus mesofílicos* heterofermentativos obrigatórios, que utilizam obrigatoriamente hexoses e pentoses como fonte de carbono, fermentando hexoses a ácido láctico, ácido acético, etanol e CO₂ e pentoses a ácido láctico e ácido acético (*Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus fermentum*) (FOX et al., 2000).

As bactérias de ácido láctico (LAB), especialmente as estirpes pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, tais como as estirpes de *Lactobacillus plantarum*, são amplamente utilizadas como probióticos e culturas funcionais de arranque em produtos fermentados, devido a suas propriedades específicas de saúde, e geralmente consideradas seguras (GRAS) (GIRAFFA; CHANISHVILI; WIDYASTUTI, 2010).

Lactobacillus plantarum tem sido muito investigado devido à sua ampla capacidade de adaptação e suas numerosas aplicações. A investigação tem-se centrado principalmente nas respostas bacterianas a fatores de stresse como o choque térmico (DE ANGELIS et al., 2004), a presença de concentrações elevadas de ácido láctico (PIETERSE et al., 2005) e bile (BRON et al. 2006), bem como baixo pH e etanol (G-ALEGRÍA et al., 2004). Ainda novos tipos de compostos antimicrobianos foram descobertos em *Lactobacillus plantarum* (ácido benzoico, metilhidantoína e mevalonolactona) ativos contra fungos e algumas bactérias Gram-positivas (SUSKOVIC et al., 2010).

Dentro do gênero *Lactobacillus*, *Lactobacillus plantarum* é um membro do grupo heterofermentativo facultativa de lactobacilos. É uma espécie heterogênea e versátil, encontrada em uma variedade de nichos ambientais, incluindo leiteira, carne, peixe e muitas fermentações de vegetais ou plantas. Espécies de *L. plantarum* também foram encontradas em muitas variedades de queijo. Além disso, as linhagens de *L. plantarum* têm capacidade comprovada de sobreviver ao trânsito gástrico e colonizar o trato intestinal de seres humanos e outros mamíferos (DE VRIES et al., 2006; MATHARA et al., 2008; GEORGIEVA et al., 2009).

Várias propriedades terapêuticas ou profiláticas especiais têm sido associadas a *L. plantarum*, como a redução da incidência de diarreia em creches, dor reduzida e constipação associada à síndrome do intestino irritável, redução do inchaço, flatulência, capacidade de deslocamento de enteropatógenos de células Caco-2 e capacidade de exercer efeito positivo na imunidade em crianças com HIV (PARVEZ et al., 2006; CANDELA et al., 2008).

2.6.2 *Streptococcus thermophilus*

O *Streptococcus thermophilus* é uma bactéria Gram-positiva, facultativa, anaeróbica. Não forma esporos e é homofermentadora, encontrada no leite e produtos lácteos. É um microrganismo termofílico com temperatura ótima de crescimento variando entre 37 e 42 °C e não se desenvolvem bem em temperaturas mais baixas (18-20°C), é termotolerante (maior resistência a tratamentos aquecimento e pasteurização a 62°C durante 20-30 min.). O *Streptococcus thermophilus* é natural em muitas culturas para a produção de queijo, é usado como um fermento em muitos produtos, a temperaturas superiores a 35°C e em muitos leites fermentados (SANTOS; CANÇADO, 2009).

Streptococcus thermophilus não se implantam, mas pode ser encontrado no trato intestinal quando ingerido. Cada espécie tende a colonizar seu próprio nicho ecológico regional separado nos intestinos. Estes nichos refletem diferenças no pH, na disponibilidade nutricional, na aeração, no peristaltismo e na secreção do muco (VIEGAS, 2008).

Bactérias fermentativas, produzem ácido láctico como principal produto da fermentação, o qual acidifica o ambiente intestinal, exercendo efeito bactericida e bacteriostático, contra bactérias patogênicas, restaurando o equilíbrio da flora intestinal (FLORA et al., 2010).

Atualmente, são conhecidas 39 espécies de *Streptococcus*, das quais somente a espécie *Streptococcus thermophilus* é utilizada como cultura *starter*. O termo *starter* é empregado devido ao fato dessas bactérias iniciarem a produção de ácido no meio em que estão inseridas. A partir da fermentação da lactose, as culturas de *Streptococcus thermophilus* produzem substâncias como ácido fórmico, ácido láctico e pequenas quantidades de CO₂ (FOX et al., 2000; ZISU; SHAH, 2003).

As combinações de culturas mistas de bactérias *starter* (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis*) e de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* e bifidobacteria) utilizadas na tecnologia de produtos lácteos, compostas de bactérias *starter*, e probióticas podem resultar em estimulação, inibição ou ausência de efeitos sobre a multiplicação e a atividade metabólica dos microrganismos presentes (VINDEROLA et al., 2002). As culturas de *Streptococcus thermophilus* são empregadas diretamente ou em co-cultura com *Lactobacillus*, na produção de mussarela e queijo cheddar (HOLS et al., 2005).

O papel do *S. thermophilus* na fermentação de leite não é relacionado apenas a produção de ácido láctico, mas também a várias outras propriedades tecnológicas importantes, como o metabolismo do açúcar, utilização de galactose, atividade proteolítica e atividade de urease. Esse desempenho tecnológico diverso não é bem compreendido, mas não confere qualquer vantagem para o crescimento ou a sobrevivência da bactéria no leite (BROADBENT et al., 2003). *S. thermophilus* é de grande importância para a indústria alimentícia uma vez que é usado extensivamente para a fabricação de produtos lácteos (HOLS et al., 2005).

As principais linhagens de bactérias produtoras de ácido láctico, com capacidade de produzir exopolissacarídeos (EPS) pertencem aos gêneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*. Como algumas linhagens do gênero *Bifidobacterium* também podem produzir esses biopolímeros (RUAS-MADIEDO; REYES-GAVILÁN, 2006). Muitas cepas de *S. thermophilus* sintetizam EPS, que contribuem para a textura viscosa e desejável propriedades reológicas de produtos lácteos fermentados, iogurte em particular. Concomitantemente, Hols et al. (2005) afirmam que além dessas características a produção de polissacarídeos extracelulares pode contribuir na manutenção de propriedades de textura e evitar a sinérese em produtos com níveis reduzidos de gordura, como iogurte, *sour cream* ou queijos.

Combinações de espécies probióticas que incluem *S. thermophilus* têm sido descritos como tendo efeitos positivos em crianças jovens com diarreia, enterocolite em recém-nascidos prematuros e doença inflamatória do intestino (BIBILONI et al, 2005; BIN-NUN et al, 2005; SHAMIR et al., 2005; DELORME, 2008). Pesquisas demonstraram que o *S. thermophilus* melhorou a eficácia de produtos probióticos, produzidos em co-cultura com *Bifidobacteria*, na prevenção da diarreia por rotavírus (SAAVEDRA, et al., 1994; BIN-NUN et al, 2005; DELORME, 2008).

2.7 Antioxidantes

Dentre os compostos que apresentam propriedades funcionais em alimentos, tem grande destaque os antioxidantes, que ajudam a proteger o organismo humano contra os danos oxidativos associados a um aumento da incidência de câncer e outras doenças degenerativas (SCALBERT; WILLIAMSOM, 2000).

O termo antioxidante multiconceitual (possui vários conceitos), mas de forma geral, é definido como uma família heterogênea de moléculas naturais ou sintéticas, que presentes em

concentrações baixas, em relação às biomoléculas que supostamente protegeriam, podem prevenir ou reduzir a extensão do dano oxidativo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Tem-se atribuídos efeitos nocivos ao organismo humano a utilização de antioxidantes sintéticos, desde então, o seu uso passou a ser regulamentado e fiscalizado na maioria dos países. Nessa situação, nos últimos anos, com base nos resultados de diversas pesquisas, o “Joint Expert Committee on Food Additives” (JECFA) da “Food and Agriculture Organization” (FAO) e World Health Organization (WHO), altera a recomendação da ingestão diária aceitável (IDA) das substâncias: Propil Galato (PG), Terc-butil hidroquinona (TBHQ), Butil-hidroxi-anisol (BHA) e Butil-hidroxi-tolueno (BHT) (WÜRTZEN, 1990).

Devido aos efeitos antagônicos à saúde associados aos antioxidantes sintéticos, pesquisadores tem se mobilizado a estudar/buscar por antioxidantes provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (DURAN; PADILLA, 1993).

Chipault et al. (1952) foram uns dos pioneiros a realizarem pesquisas para investigar a atividade antioxidante de várias especiarias, ingredientes utilizados em alimentos desde os primórdios da história, não só aqueles utilizados para promover, melhorar e/ou para destacar as características sensoriais dos alimentos, mas também, para preservá-los.

Pesquisas têm encontrado a presença de várias substâncias que apresentam a capacidade antioxidante em vegetais, exemplo: carotenoides, ácido ascórbico e tocoferóis, além dos compostos fenólicos. Essas substâncias presentes no organismo humano atuam prevenindo danos oxidativos, causados por radicais livres (radical hidroxil ($\cdot\text{HO}$)) (GUTTERIDGE, 1995), oxigênio singlete (O_2^1) (EPE, 1991) entre outros, que são responsáveis por muitas doenças, incluindo arteroesclerose, doenças cardiovasculares, catarata, diabetes, asma, hepatite, lesão no fígado, artrite, envelhecimento, doenças de imunodeficiência e câncer em seres humanos (BIRCH et al., 2001; SLUIS et al., 2001; TOMÁS-BARBERÁN et al., 2001; VINSON et al., 2001; ZHENG; WANG, 2001; YILDIRIM; MAVI; KARA, 2001; LEE; MITCHELL; SHIBAMOTO, 2000).

A atuação dos antioxidantes nos organismos vivos pode ocorrer por meio de diferentes mecanismos de prevenção, podendo ser pelo método da captura de radicais livres, pela complexação de íons metálicos, pela inibição de enzimas que poderão gerar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio ou pela decomposição de peróxidos (VASCONCELOS et al., 2006).

Os organismos vivos são capazes de produzir substâncias antioxidantes, que podem regenerar ou prevenir danos oxidativos contra os radicais livres. Mas essas substâncias

também podem ser adquiridas pelo consumo de alimentos e bebidas, capazes de sequestrarem os radicais livres (ALVES et al., 2010). O Brasil é um grande produtor mundial de frutas, e possui abundante diversidade, entretanto algumas frutas ainda não são utilizadas comercialmente no enriquecimento de produtos alimentícios. A utilização das frutas regionais de sabores característicos na produção de produtos alimentícios ricos em antioxidantes apresenta-se como alternativa bastante viável para um melhor aproveitamento. Dentre as frutas com potencial para serem processadas e utilizadas na fabricação de alimentos e bebidas com potencial função “antioxidante”, contra a ação dos radicais livres no organismo humano está o fruto da aceroleira, a acerola (*Malpighia emarginata* DC), que é rica fonte de vitamina C, e outros compostos igualmente reconhecidos pela capacidade antioxidante, entre eles se destacam as antocianinas.

Uma grande variedade de métodos analíticos têm sido desenvolvido com a finalidade de mensurar a atividade antioxidante em alimentos (BELLIK; IGUER-OUADAB et al., 2015). A composição da matriz alimentar onde os antioxidantes serão incorporados e carregados podem melhorar ou impedir a liberação e estabilidade destes compostos durante a digestão e assim, a sua eficácia (PINEDA-VADILLO et al., 2016)

De acordo com Pineda-Vadillo et al. (2016) os produtos lácteos são excelentes alimentos para serem fortificados com antioxidantes: possuem propriedades nutricionais naturais excelentes, são aceitos em todo o mundo por todas as faixas etárias, podem ser consumidos diariamente e existem sob uma grande variedade de formas e estruturas.

Assim, as metodologias de avaliação de antioxidantes devem levar em consideração a matriz de veiculação dos antioxidantes. No entanto, cada método tem vantagens e desvantagens, e por isso é essencial utilizar uma combinação de metodologias para avaliar a atividade antioxidante (BELLIK; IGUER-OUADAB, 2015).

2.8 Acerola

2.8.1 Características da Acerola

A acerola, o fruto da aceroleira, é uma drupa, carnosa, variando na forma, tamanho e peso. Nela, o epicarpo (casca externa) é uma película fina; o mesocarpo ou polpa representa 70 a 80% do peso total do fruto e o endocarpo é constituído por três caroços unidos, com textura pergaminácea, que dão ao fruto o aspecto trilobado. Cada caroço pode conter no seu interior uma semente, com 3 a 5 mm de comprimento, de forma ovóide, com dois cotilédones (ALMEIDA; LOPES; OLIVEIRA, 2002).

A acerola (*Malpighia emarginata* DC), fruto delicado e originário das Antilhas, tem grande importância nutricional por ser fonte natural de vitamina C. No entanto, além desta vitamina, outros compostos bioativos, como os polifenóis, fazem parte da composição deste fruto. Estes compostos, por possuírem propriedade antioxidante, atuam minimizando os danos oxidativos causados ao organismo pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, prevenindo doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e arteroesclerose, entre outras (JACOB; BURRI, 1996).

Dependendo do estágio de maturação e fertilização do solo, a acerola pode apresentar coloração verde suave, amarelo-alaranjado ou vermelho escuro brilhante. Após ser coletado da planta, o fruto “*in natura*” possui curto período de vida de prateleira, dois a três dias, caso estocado a temperatura ambiente (VENDRAMINI; TRUGO, 2000).

A acerola é um fruto climatérico, com um elevado pico da taxa respiratória (900 mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹), mas com uma baixa taxa no pico de produção de etileno (3 µL C₂H₄ kg⁻¹h⁻¹), o que está de acordo com sua alta perecibilidade (CARRINGTON; KING, 2002).

A qualidade sensorial e a composição química da acerola podem ser afetadas severamente em função da época da colheita, período de armazenamento, condições ambientais e estágio de maturação, além dos fatores genéticos, influenciando desde a cor do fruto ao teor de vitamina C (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; KONRAD; HERNANDEZ; GENEROSO, 2002). O teor de vitamina C e outras características atribuídas à qualidade da acerola, como coloração, peso e tamanho dos frutos, teor de sólidos solúveis e pH do suco, além de serem afetadas pela desuniformidade genética dos pomares, sofrem influência de vários outros fatores, como precipitações pluviais, temperatura, altitude, adubação, irrigação e a ocorrência de pragas e doenças (NOGUEIRA et al., 2002).

Têm sido observadas grandes variações nas características das acerolas estudadas em diferentes regiões (SEMENSATO; PEREIRA, 2000). De acordo com Cerezal-Mezquita e García-Vigoa (2000), a acerola, além de ser reconhecida pelo teor em vitamina C, é também uma excelente fonte de bioflavonóides, proporcionando uma elevada atividade antioxidante.

De acordo com Vendramini e Trugo, (2000), a acerola apresenta diferentes índices de ácido ascórbico (provitamina C) em diferentes estágios de maturidade do fruto, imaturo (verde), intermediário (amarelo), maduro (vermelho), 2.164, 1.065 e 1.074 mg. 100 g⁻¹ de ácido ascórbico, respectivamente, caindo os índices de ácido ascórbico pela metade, no fruto maduro. Estudos de outros autores citam que a acerola madura apresenta valores médios de ácido ascórbico de, 1.437,78 (PIMENTEL et al., 2001) e 1.620 mg. 100 g⁻¹ (SOARES et al., 2001).

De acordo com a FAO (2008) e INCAP (2007), os componentes da polpa de acerola (100 g^{-1} de polpa), são encontrados como se segue: carboidratos (4,84 g), proteínas (0,78 g), lipídios (0,49 g), fósforo (11 mg), cálcio (12 mg), riboflavina (0,06 mg), tiamina (0,02 mg), umidade (90,55 g) e fibra alimentar total (2,95 g).

Merece destaque, também, o teor de compostos com ação antioxidante presente nos resíduos do processamento da acerola, pois estudos têm revelado que as cascas e as sementes de certos frutos exibem atividade antioxidante mais elevada do que a polpa, e que o perfil dos fitoquímicos antioxidantes é diferenciado nestas partes do vegetal (GUO et al., 2003; AJILA; BHAT; PRASADA-RAO, 2007).

A acerola possui vários fitoquímicos, além da vitamina C, muitos deles com importância fisiológica, como as antocianinas e os carotenoides. As antocianinas encontram-se frequentemente em frutos e têm despertado interesse entre os cientistas por apresentarem propriedade antioxidante. A atividade dos carotenoides (provitamina A) é conhecida há muito tempo e a estes compostos também tem sido atribuída propriedade antioxidante em consequência de sua habilidade em desativar/sequestrar radicais livres (SILVA, 2008).

Segundo Folegatti e Matsuura (2003) e Araujo (2005), a acerola além de apresentar uma excelente fonte de vitamina C, também apresenta fonte de provitamina A, vitaminas do complexo B como tiamina (B1), riboflavina (B2), piridoxina (B6) e niacina, e tem em sua composição os minerais, ferro, cálcio, fósforo e sódio.

De acordo com os autores Marino (1986) e Mendonça; Medeiros (2011), a acerola vem sendo indicada para o tratamento de escorbuto, como preventivo e curativo, e como coadjuvante no tratamento de anorexias de várias causas, restrições dietoterápicas prolongadas, infecções de longa duração, gripes, resfriados, lesões hepáticas, afecções pancreáticas e pulmonares, dispepsia, vômitos insidiosos, úlceras do trato digestivo, nas alterações do mecanismo de coagulação sanguínea, nas hemorragias capilares nasais e gengivais, estados de intoxicação por antibióticos, auxilia no tratamento de doenças do fígado, tratamento de pessoas com câncer, além de evitar a perda de apetite e dores musculares.

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de acerola, destacando-se a região Nordeste com uma produção de aproximadamente 22.500 toneladas de frutos (UNIDADES DE PRODUTOS PARA FRUTICULTURA, 2006). No ano de 2011 o Brasil se estabeleceu como o terceiro maior produtor mundial de frutas, com uma produção superior a 74 milhões de frutas, ficando atrás apenas da China e Índia (FAO, 2011).

2.8.2 Produtos da Acerola

A acerola pode ser consumida *in natura*, mas também pode sofrer diversos processamentos tecnológicos para ser consumida e aplicada em alimentos como ingredientes. Diversos autores têm citado diferentes formas de consumo e aplicação da acerola, como na forma de sucos, compotas e geléias, bem como no enriquecimento de sucos e de alimentos dietéticos e nutracêuticos, como comprimidos ou cápsulas usadas como suplemento alimentar, chás, bebidas para esportistas, barras nutritivas e iogurtes, dentre outros (CARPENTIERI-PÍPOLO et al., 2002; MATSUURA; ROLIM, 2002; MATTA; CABRAL; SILVA, 2004). Destacando-se a grande aceitação dos alimentos quando adicionados de acerola, conforme verificado na Tabela 1.

Tabela 1 - Aplicabilidade da acerola na indústria alimentar e sua avaliação sensorial.

Produto	Avaliação sensorial do produto	Autor
Petit-Suisse adicionado de polpas de frutas regionais; sabor acerola	Índice de Aceitabilidade de 83,88 %	Lima e Albuquerque (2007)
Shake á base de pó de acerola verde, aveia, linhaça e leite	Impressão global acima 7, e intenção de compra acima de 3,7	Gomes (2011)
Iogurte com polpa de acerola	Aceitabilidade entre 80 e 96%	Schmidt et al. (2012)
Geleia mista com acerola e goiaba	Obteve escores > 7, exeto para os parâmetros aparência e docura, com escores < 2	Conceição et al. (2012)
Geleia elaborada com polpa e suco de acerola	A amostra formulada com suco de acerola e açúcar, obtiveram as maiores medias globais	Caetano; Daiuto; Vieites (2012)
Geleia de acerola e maracujá	Obteve escores ≤ 7,7, exeto para os parâmetros acidez e docura, com escores ≤ 2,3	Caldas et al. (2012)
Catchup de acerola	Mais de 80% dos provadores atribuíram notas entre 7 (“gostei moderadamente”) e 9 (“gostei muitíssimo”)	Araújo et al. (2013)
Néctar de Acerola com adição de probiótico	-	Antunes et al. (2013)
Fermentado de acerola	A equipe sensorial preferiu os fermentados de acerola suaves aos secos	Segtowick et al. (2013)
Geleia de pimenta com acerola	Bons resultados sensoriais, com 68 % dos provadores afirmaram gostar extremamente/moderadamente	Araújo et al. (2014a)
Cerveja artesanal com acerola e abacaxi	Apresentaram resultado de aceitação global ≤ 6,2	Pinto et al. (2015)
Blend de jenipapo e acerola	-	Silva et al. (2015)
Sorvete com polpa de acerola	Boa aceitação global, entre 7,01 a 7,69 e boa intenção de compra, de 3,34 a 4,06, para as diferentes formulações	Vieira; Aguiar; Teixeira-Sa (2016)

(-) Produto não foi avaliado sensorialmente.

Fonte: Autor, (2017).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Desenvolver e caracterizar um queijo *Petit-Suisse* probiótico com ação antioxidante elaborado de leite de cabra, com adição da cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) em co-cultura com *Lactobacillus plantarum* (CNPc 003, cultura nativa, isolada a partir de leite de cabra), adicionado de polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC).

3.2 Objetivos Específicos

- Obter um fermento láctico liofilizado com a cultura de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003;
- Formular um queijo caprino potencialmente funcional adicionado de polpa de acerola; e cepa potencialmente probiótica (cultura nativa) viável sobre a matriz alimentícia com até 28 dias de armazenamento sob refrigeração, com aceitação sensorial;
- Verificar o efeito da polpa de acerola sob a viabilidade do microrganismo potencialmente probiótico (aspectos funcionais e patogênicos) dos queijos durante o armazenamento sob refrigeração;
- Estudar as propriedades antioxidantes *in vitro* da polpa de acerola durante o processamento e período de armazenamento do queijo *Petit-Suisse*;
- Acompanhar a sobrevivência dos probióticos ao trato gastrointestinal simulado *in vitro* na matriz do queijo durante 28 dias de armazenamento sob refrigeração;
- Caracterizar através de análises físico-químicas as polpas de acerola e os queijos formulados;
- Analisar o perfil de textura (TPA) instrumental do queijo durante o período de armazenamento refrigerado;
- Avaliar os queijos quanto a sua aceitação e comparar a aceitação dos queijos pelos provadores aos 3º, 14º e 28º dias de armazenamento refrigerado.

4 METODOLOGIA

4.1 Local da Pesquisa

O experimento foi realizado no Laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos (LCTA) da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizado na estrada Sobral/Groaíras Km 04, Sobral-CE, onde foram desenvolvidos o fermento liofilizado, os queijos e realizadas as avaliações microbiológicas. No Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) *Campus* Sobral (localizado na Av. Dr. Guarani, 317 - Derby Clube) Sobral - CE, foram realizadas as análises físico-químicas, composição centesimal, quantificação de compostos bioativos e capacidade antioxidante *in vitro* nos queijos e polpas de acerola em estudo.

4.2 Obtenção das Culturas Láticas

A cepa de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 potencialmente probiótica, foi obtida da coleção de microrganismos da Embrapa Caprinos e Ovinos, isolada de leites de cabra, da raça Anglo Nubiana, tendo sido essa cepa escolhida por ter apresentado em estudos anteriores inocuidade e promissoras propriedades probióticas e tecnológicas. A cultura de *Streptococcus thermophilus* TA-40 foi obtida por doação da Danisco/DuPont®.

4.3 Processo de Produção do Fermento Liofilizado

A cepa de *L. plantarum* CNPC 003 foi inoculada em tubos de ensaio contendo 10 mL de De Man, Roggosa & Sharpe - MRS caldo (MRS - Oxoid®, Basigstoke, Reino Unido). Em seguida os tubos foram incubados em estufa bacteriológica (Fanem, estufa de cultura 502) a 37 °C/24h (1° ativação).

Um novo cultivo foi realizado com transferência de 100 µL do conteúdo dos tubos incubados (1° ativação) para tubos falcon contendo 10 mL de MRS caldo (Oxoid®) e foram incubados em estufa a 37 °C/20 h (2° ativação do fermento).

Sequencialmente o material foi centrifugado a 12.857 x g/15min em centrífuga (Eppendorf, 5810 R) refrigerada (4 °C) e o *pellet* obtido foi lavado com 10 mL de solução salina a 0,85% e centrifugado sob as mesmas condições anteriores. O *pellet* foi inoculado em 100 mL de leite de cabra desnatado 0,5% (preparações fermentadas em leite), previamente esterilizado a 110 °C/15 segundos e incubado a 37 °C/24h. Posteriormente o leite fermentado

(10%) foi utilizado para o cultivo da bactéria em 1 L de leite de cabra desnatado 0,5% e incubado sob as mesmas condições descritas anteriormente.

As preparações fermentadas em leite foram submetidas ao congelamento, liofilizados por meio de um liofilizador de bancada (LIOTOP, L101) e posteriormente armazenado em frasco reagente de vidro (Schott, Duran) a -20 °C e ao abrigo de luz.

4.4 Origem da Acerola

As acerolas foram doadas da fazenda de cultivo orgânico Nutrilite/Amway do Brasil-Ltda, localizada no município de Ubajara-CE. A empresa localiza-se nas coordenadas de latitude: 3°51'15"S e longitude: 40°55'15"W. O município apresenta altitude de 847 m, com temperatura média de 20 °C.

Os frutos maduros foram cuidadosamente colhidos, previamente congelados e transportadas para o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) *Campus Sobral*, sob temperatura não superior a -15 °C.

4.5 Produção da Polpa de Acerola

A polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) foi produzida a partir dos frutos *in natura* após descongelamento. Inicialmente os frutos foram convenientemente descongelados sob temperatura de refrigeração de 4 °C, 24 horas antes do processamento e lavados, sanitizados em solução de hipoclorito de sódio a 50 ppm (v/v) por 15 minutos. Em seguida, as acerolas foram processadas em centrífuga de sucos (Mondial Juicer CF-01). A polpa foi pasteurizada com o açúcar na proporção de 52,35%/47,64% a 90 °C (± 2 °C) por 3 minutos em banho-Maria, pelo sistema de pasteurização *Hot-Pack* seguida de refriamento a 4 °C, antes de ser incorporada ao queijo.

4.6 Produção dos Queijos “Petit-Suisse”

4.6.1 Processamento da Massa-Base

Foi utilizada a metodologia descrita por Vieira et al. (2014), com modificações. O leite de cabra cru foi submetido ao tratamento térmico. A combinação de tempo e temperatura utilizada no tratamento térmico do leite para a produção da massa-base do queijo “Petit-

Suisse” foi de 85 °C (± 2 °C) por 15 minutos, seguida de resfriamento a (4 °C ± 2 °C) e armazenamento refrigerado na mesma temperatura até o momento do processamento.

No processamento da massa-base, o leite foi aquecido até 42 °C (± 2 °C). Em seguida foi adicionado, para cada 10 L de leite, 5 mL de cloreto de cálcio a 50% (Docina Nutrição Ltda), 0,3 g da cultura *starter* de *S. thermophilus* TA-40 (DuPont®) e 20 g da cultura probiótica de *L. plantarum* CNPC 003 (cultura nativa) (Tabela 2), procedendo-se com a homogeneização da mistura após a adição de cada ingrediente. O leite foi mantido em repouso por 45 a 60 minutos ou até atingir pH 6,3. Após esse período foi adicionado coalho, 0,1% de solução de coalho diluído (7% v/v), preparado a prarte do coagulante liquido HA-LA® (Chr-Hansen), seguido de nova homogeneização.

Tabela 2 - Tratamentos utilizados na elaboração dos queijos *Petit-Suisse* (QPS) caprinos potencialmente probiótico adicionado com polpa de acerola QPST1 e controle, sem adição da polpa de acerola QPST2.

Queijos <i>Petit-Suisse</i> *	<i>S. Thermophilus</i> ¹	<i>L. plantarum</i> ²	Polpa de acerola ³
QPST1	+	+	+
QPST2	+	+	-

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* TA-40 Yo-Mix™ Yogurt Cultures (DuPont®, Dangé, França);

(²) Cultura probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (cultura nativa, isolada de leites de cabra, da raça Anglo Nubiana);

(³) Produzidas a partir de acerolas *In Natura* (Nutralite: Produtos para Nutrição/Amway do Brasil Ltda-Ubajara) (*Malpighia emarginata* DC);

(+) = presença da cultura e, adição da polpa de acerola;

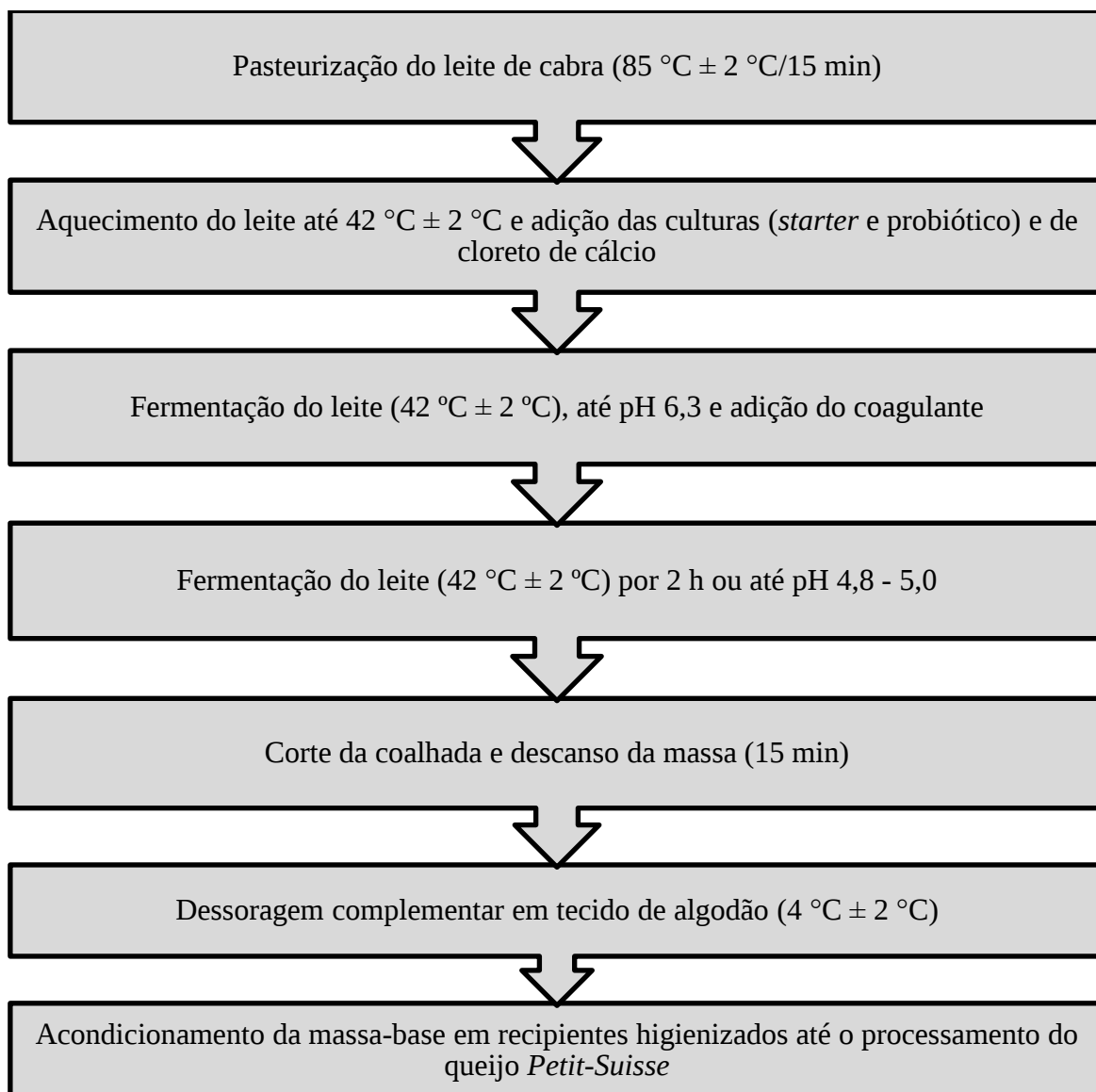
(-) = sem adição da polpa de acerola.

Fonte: Autor, (2017).

Quando o pH atingiu 4,8 - 5,0, foram realizados cortes (horizontais e verticais) da coalhada com liras previamente higienizadas, obtendo-se cubos de aproximadamente 3 cm², seguido de descanso por 15 minutos para separação parcial do soro e precipitação da massa.

Posteriormente foi realizada a dessoragem em sacos de tecidos de algodão previamente esterilizados durante período de 16 horas a temperatura de 4 °C (± 2 °C). Após a dessoragem, a massa-base foi armazenada em recipiente fechado sob refrigeração de 4 °C (± 2 °C) até o preparo das formulações dos queijos *Petit-Suisse*. As etapas de fabricação da massa-base dos queijos *Petit-Suisse* caprino podem ser observadas na Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma de processamento da massa-base caprina do queijo.



Fonte: Autor, (2017).

4.6.2 Processamento dos Queijos *Petit-Suisse*

O processamento do queijo *Petit-Suisse* probiótico adicionado de polpa de acerola, foi realizado a partir da massa-base preparada com leite de cabra, descrita no item 4.6.1, com adição da cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) DVS (*Direct-Vat-Set*, direto ao leite) em co-cultura com a probiótica *Lactobacillus plantarum* (CNPQ 003, cultura nativa), denominado de tratamento T1 = QPST1.

Com a finalidade de comparar os parâmetros do queijo *Petit-Suisse* probiótico adicionado de polpa de acerola e avaliar a atividade antioxidante dos queijos (*in vitro*) e a sobrevivência (*in vitro*) do probiótico incorporados na matriz dos queijos, verificando o efeito

da polpa de acerola sob a viabilidade do microrganismo, foi elaborado o queijo branco, denominado de tratamento T2 = QPST2, elaborado com cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) em co-cultura probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003, controle, sem adição da polpa de acerola, conforme mostra a Tabela 2. O experimento foi conduzido com três repetições.

Para adição dos ingredientes à massa-base, a polpa pasteurizada ainda quente recebeu a adição das gomas xantana, guar e carragena, seguida de homogeneização, para a formulação do tratamento QPST1. Para o QPST2, a massa-base recebeu a adição das gomas xantana, guar e carragena, homogeneizadas com o açúcar. A Tabela 3 mostra as proporções dos ingredientes usados nas formulações dos queijos *Petit-Suisse* probiótico caprinos.

Tabela 3 - Formulação dos queijos *Petit-Suisse* potencialmente probióticos caprinos adicionados com e sem adição da polpa de acerola.

Ingredientes (g/100 g)	Queijos*	
	QPST1	QPST2
Massa-base ¹	80,50	90,50
Açúcar cristal ²	9,1	9,1
Polpa de acerola ³	10,0	-
Goma xantana (Grindsted® Xanthan 80) ⁴	0,1	0,1
Goma guar (Grindsted® Guar 250) ⁴	0,2	0,2
Goma carragena (Grindsted® Carrageenan CY 500) ⁴	0,1	0,1
Total	100	100

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Produzida de leite de cabra proveniente um rebanho misto das raças Anglo Nubiana e Sanem da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará, Brasil;

(²) Açúcar karajá;

(³) Produzidas de acerolas *In Natura* (Nutrilite: Produtos para Nutrição/Amway do Brasil Ltda Ubajara) (*Malpighia emarginata* DC);

(⁴) DuPont®, Cotia, Brasil;

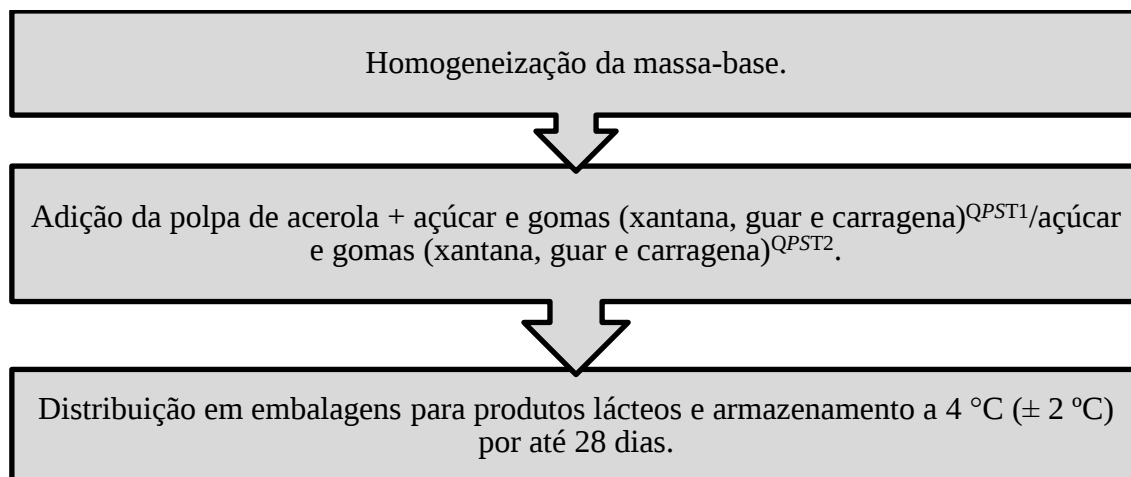
(-) = sem adição.

Fonte: Autor, (2017).

Para a incorporação dos ingredientes a massa-base foi misturada em liquidificador (Philco-PH700 PR 2) até total homogeneização. Procedeu-se então à mistura da polpa, açúcar e gomas, seguido de nova homogeneização. Por fim, foram acondicionados em embalagens plásticas de polietileno (Pote H-070-Alimec Embalagens e Insumos Alimentícios), previamente higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm (v/v) e secas em estufa (Quimis) a 70 °C. Os potes plásticos foram selados com tampa aluminizada, utilizando-se uma seladora e envasadora (Delgo 3100), e em seguida foram armazenados sob

refrigeração a 4 °C ($\pm$ 2 °C). As etapas de fabricação do queijo *Petit-Suisse* caprino sabor acerola e controle são mostradas na Figura 2.

Figura 2 - Fluxograma de processamento dos queijos *Petit-Suisse* caprino.



Fonte: Autor, (2017).

4.7 Análises Físico-Químicas dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

4.7.1 Fermento Liofilizado *L. plantarum* CNPC 003

- Atividade de água (aw) a 25 °C foi determinada em aparelho Aqualab-3TE, Decagon devices, Pullman USA.

4.7.2 Leite Caprino Utilizado na Produção da Massa-Base

Foram realizadas em triplicata as seguintes análises físico-químicas do leite:

- pH, em medidor de pH modelo (Jenway - 3510 pH meter) que foi previamente calibrado com soluções tampão de pH 7 e pH 4, foi inserido o eletrodo diretamente nas amostras refrigeradas;
- Acidez titulável, por meio de titulação simples com solução de hidróxido de sódio 0,1 N (NaOH) e solução de fenolftaleína 1% como indicador (IAL, 2008). A acidez titulável foi expressa em mg de ácido láctico.g⁻¹;
- O ácido Ascórbico foi determinado pelo Método de Tillmans, de acordo com Strohecker e Henning (1967), onde 30 g de leite foram homogeneizadas com

ácido oxálico (0,05%) e após, foi transferido para um balão volumétrico de 50 mL e completado o seu volume com o mesmo diluente, posteriormente foi filtrado com papel filtro (Qualy). Após a filtração alíquotas de 5 mL foram coletadas e diluídas com 45 mL de água destilada em erlenmyer e titulado com solução de Tillmans (0,02%) (DFI) refrigerada, até a coloração rósea claro permanente. Os resultados foram expressos em ácido ascórbico (mg.100 g^{-1});

- Gordura pelo método de Gerber, utilizando ácido sulfúrico e álcool isoamílico, seguida de centrifugação (ITR Instrumentos para Laboratório, 8BPF) e posterior leitura do percentual de gordura na escala graduada do lactobutirômetro (IAL, 2008).

4.7.3 Análises Físico-Químicas das Polpas de Acerola

As polpas de acerola *in natura* e pasteurizada foram analisadas em triplicata e submetidas às seguintes análises físico-químicas, no dia do processamento (dia 1).

- Atividade de água (a_w) a 25 °C em aparelho (Aqualab-3TE, Decagon devices, Pullman USA);
- pH, em medidor de pH modelo Jenway - 3510 pH meter;
- Acidez titulável das polpas foram determinadas em ácido málico, utilizando (1 g) da amostra e diluídas com 50 mL de água destilada. Procedendo com a titulação, acrescido de 2 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% seguido por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N e neutralizados até o ponto de equivalência (até leve coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos) e em seguida leitura do resultado, de acordo com o IAL (2008);
- A determinação da cor nas polpas de acerola foi realizada por meio de colorímetro digital portátil (Delta color-Colorímetro 2) e a leitura feita indiretamente sobre a superfície da amostra, a partir da emissão de um feixe de luz da lente do colorímetro, medido por reflectância, sob um adaptador, com superfície de vidro, encaixado no potinho de borracha, onde se encontra a amostra (± 30 g). Os resultados foram expressos nas coordenadas CIE/LAB que incluem as variáveis L^* , a^* , b^* , c^* e h^* .

- Sólidos solúveis, foram utilizadas alíquotas de polpa sobre a superfície do refratômetro e, foram realizados as leituras em refratômetro portátil (Kruss, HRN 32, Hamburg) e os resultados expressos em °Brix a 20 °C.

4.7.4 Análises Físico-Químicas dos Queijos Petit-Suisse

As amostras dos queijos (QPST1 e QPST2) foram submetidas às seguintes análises físico-químicas, no dia seguinte ao processamento (dia 1) e aos 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerados (4 °C $\pm$ 2 °C). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

- Atividade de água (aw) a 25 °C em aparelho (Aqualab-3TE, Decagon devices, Pullman USA);
- pH, em medidor de pH modelo Jenway - 3510 pH meter;
- Acidez titulável, determinada pela extração dos ácidos graxos livres solúveis da amostra (10 g) em água livre de gás carbônico (CO₂) a 40 °C, até total dissolução e transferência quantitativa para balão volumétrico de 100 mL e aferido o volume. Procedendo com a titulação de uma alíquota de 50 mL, acrescido de 10 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1%, seguido por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1 N e neutralizados até o ponto de equivalência (até leve coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos) e em seguida leitura do resultado, de acordo com a Instrução Normativa nº 68 (BRASIL, 2006). A acidez titulável foi expressa em mg de ácido láctico.g⁻¹;
- A determinação da cor nos queijos foi realizada em colorímetro digital portátil (Delta color-Colorimetro 2) utilizando aproximadamente 30 g de amostra. Conforme descrito no Item: 4.7.3, para as polpas de acerola;
- Para a análise de sólidos solúveis nos queijos, pesou-se 10 g de cada queijo e, diluídas em água livre de gás carbônico (CO₂) a 40 °C, até total dissolução e transferência quantitativa para balão volumétrico de 100 mL e aferido o volume. A partir dessa diluição, foram adicionados alíquotas sobre a superfície do refratômetro e, foram realizados as leituras em refratômetro portátil (Kruss, HRN 32, Hamburg) e os resultados foram multiplicados pelo fator de diluição [(1:9) = 10 x o resultado visualizado na escala do refratômetro] expressos em

°Brix a 20 °C.

4.8 Análises de Composição dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

4.8.1 Composição Centesimal das Polpas de Acerola

As polpas de acerola *in natura* e pasteurizada foram submetidas às seguintes análises de composição centesimal, após o processamento. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

- O teor de umidade foi determinado em estufa a 105 °C (Heraeus). Pesou-se 3 g das polpas em cadinhos previamente tarado com areia, em estufa a 105 °C por uma hora. Posteriormente foi adicionado em estufa a 105 °C/6 h, e efetuado a sua pesagem até peso constante, de acordo com as normas do IAL (2008);
- O teor de lipídios foi determinado seguindo a metodologia de Bligh e Dyer (1959), adaptada por IAL (2008). Para isso, foram pesadas 10 g da amostra homogeneizada e transferida para um béquer, com adição posterior de 10 mL de clorofórmio P.A (Dinâmica) e 20 mL de metanol (Dinâmica), em seguida foi adicionado novamente 10 mL de clorofórmio e 10 mL de água e, deixou-se em repouso por 15 minutos sob agitação (agitador mecânico), em capela química. Findando a agitação o material foi filtrado com auxílio de um funil de vidro com papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro P.A (Dinâmica), em um funil de separação. Após completa separação a camada de clorofórmio foi recolhida em becker, previamente tarado. Por fim o becker foi transferido para uma estufa a 105 °C (Heraeus) por 1h, as operações de pesagem foram repetidas até peso constante;
- O teor de cinzas foi determinado por incineração de 3 g das amostras em cadinho previamente tarado em mufla (Quimis, Q-318m24) à 550°C por 1 h. Posteriormente foi adicionado as amostras à 550°C em forno mufla, por 12 h (IAL, 2008);
- O teor de proteína, foi determinado por meio do método de micro-Kjeldahl, utilizando a metodologia do ácido bórico, usando o fator de conversão 6,25 (IAL, 2008);

- Carboidratos totais por diferença, calculado pela diferença para se obter 100% da composição total, incluindo fibras, de acordo com Equação 1 abaixo.

$$\text{Carboidratos (\%)} = 100 - (\text{umidade} + \text{cinzas} + \text{proteínas} + \text{lipídeos})$$

Eq. 1 Carboidratos totais, por diferença

- Valor Calórico Total, expresso em Kcal ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) foi calculado pela soma dos resultados das multiplicações dos valores encontrados de proteína, lipídios e carboidratos, pelos seus respectivos fatores de conversão de Atwater (4, 9 e 4 kcal), segundo Equação 2 abaixo:

$$\text{VCT}^{(\text{Kcal})} = (\text{P} \times 4) + (\text{C} \times 4) + (\text{L} \times 9)$$

Onde:

($\text{VCT}^{(\text{Kcal})}$): Valor calórico total em Kcal;

(P): Proteína;

(C): Carboidratos;

(L): Lipídeos.

Eq. 2 Valor Calórico Total

- Açúcares totais foram determinados por titulação com solução de Fehling A e B. Para tanto foram pesados 5 g da amostra e dissolvida com água destilada, com adição de 2 mL de ácido clorídrico P.A (Dinâmica) e levado ao banho-maria por 60 minutos a 65 °C, posteriormente após esfriamento, adicionou-se 2 mL de ferrocianeto de potássio (15%) e 2 mL de sulfato de zinco (30%), em seguida foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água destilada, e posteriormente filtrado em papel de filtro, sendo recolhido o filtrado e colocado em bureta e titulado contra as soluções de Fehling A e B (5 mL da solução de Fehling A e B mais 40 mL de água destilada) sob ebulição, com adição de uma gota da solução indicadora de azul de metileno a 1%, quando ficou levemente azulado, por fim continuando a titulação, sob ebulição até o ponto de viragem, coloração vermelho intenso, vermelho tijolo (BRASIL, 1981);

- Açúcares redutores foram determinados por titulação com solução de Fehling A e B. Para isso foram pesados 5 g da amostra e dissolvida com água destilada a 60 °C, com adição posterior de 2 mL de ferrocianeto de potássio (15%) e 2 mL de sulfato de zinco (30%), em seguida foi transferido para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água destilada, e posteriormente filtrado em papel de filtro, por fim foi recolhido o filtrado e colocar em bureta e titulado contra as soluções de Fehling A e B (5 mL da solução de Fehling A e B mais 40 mL de água destilada) sob ebulição, com adição de uma gota da solução indicadora de azul de metileno a 1%, quando ficou levemente azulado, por fim continuando a titulação, sob ebulição até o ponto de viragem, coloração vermelho intenso, vermelho tijolo (BRASIL, 1981);
- Açúcares não redutores foram determinados de acordo com BRASIL (1981), por diferença dos resultados obtidos para as determinações dos açúcares totais e redutores (realizadas como supracitado), multiplicado pelo fator de conversão da glicose em sacarose, segundo Equação 3 abaixo:

$$\% \text{GNRS} = (\% \text{GTG} - \% \text{GRG}) \times 0,95$$

Onde:

- GNRS = glicídios não redutores em glicose
- GTG = glicídios totais em glicose
- GRG = glicídios redutores em glicose
- 0,95 = fator de conversão da glicose para sacarose

Eq. 3 Açúcares não redutores, por diferença

4.8.2 Composição Centesimal dos Queijos Petit-Suisse

As amostras dos queijos, foram submetidas às seguintes análises de composição, no dia seguinte ao processamento (1 dia) e aos 14 e 28 dias de armazenamento refrigerados (4 °C ± 2 °C). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

- Teor de umidade foi determinado em estufa a 105 °C (Heraeus), pesou-se 3 g do queijo em cadinho previamente tarado em mufla (Quimis, Q-318m24) e em

seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.8.1, de acordo com as normas do IAL (2008);

- Gordura foi realizada pelo método butirométrico de Gerber, por digestão da matéria orgânica (3 g) por meio de ácido sulfúrico (10 mL) com auxílio de álcool amílico (1 mL), responsável pela separação da gordura, em seguida, procedeu-se agitação manual dos butirômetros e centrifugação (ITR Instrumentos para Laboratório, 8BPF), em seguida realizou-se a leitura do percentual de gordura na escala graduada do butirômetro (BRASIL, 2006);
- Teor de cinzas em forno mufla (Quimis, Q-318m24) e procedeu-se como descrito no Item: 4.8.1, de acordo com as normas do IAL (2008).
- Teor de proteína, por meio da análise do método de micro-Kjeldahl, utilizando a metodologia do ácido bórico usando o fator de conversão 6,38 (IAL, 2008);
- Carboidratos totais por diferença, foi calculado pela diferença para se obter 100% da composição total, incluindo fibras, de acordo com equação descrita no Item: 4.8.1;
- Valor Calórico Total, expresso em Kcal ($\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) foi calculado como descrito no Item: 4.8.1, para as polpas de acerola;
- Açúcares totais foram determinados de acordo com BRASIL (1981), por titulação com solução de Fehling A e B. Para isso foram pesados 5 g da amostra e em seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.8.1;
- Açúcares redutores foram determinados de acordo com BRASIL (1981), por titulação com solução de Fehling A e B. Para isso foram pesados 5 g da amostra e em seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.8.1;
- Açúcares não redutores foram determinados de acordo com BRASIL (1981), procedendo-se como descrito no Item: 4.8.1.

4.9 Análises Microbiológicas dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

4.9.1 Viabilidade do Fermento Liofilizado *L. plantarum* CNPC 003

Para avaliar a viabilidade do fermento liofilizado, foram retiradas porções de 1 g, reconstituídos em 9 ml de água destilada esterilizada, seguido de homogeneização em vortex, e de repouso por 30 minutos. Diluições decimais seriadas foram preparadas utilizando a 1^o diluição do fermento, seguida de semeadura de 1 mL de inóculo em profundidade (*pour plate*)

em meio ágar MRS (MRS, Oxoid, Basigstoke, Reino Unido) como recomendação do International Dairy Federation (1995), acidificado a pH 5,4 com ácido acético glacial 1M. Procedendo-se com a adição do ágar (45 °C), aproximadamente 20 mL por placa de Petri estéril, com posterior homogeneização e solidificação do ágar e com a incubação das placas em aerobiose a 37 °C/48h em estufa bacteriológica (Fanem, estufa de cultura 502). Posteriormente foram realizadas as contagens das colônias características de *Lp*-CNPC 003 por meio de um condador de colônias (Phoenix Luferco, CP 608).

4.9.2 Determinação dos Parâmetros Microbiológicos Sanitários das Polpas de Acerola

As polpas de acerola *in natura* e pasteurizada foram submetidas às seguintes análises microbiológicas, no primeiro dia.

Porções de 10 g das polpas de acerola que foram, homogeneizadas com 90 mL de água peptonada tamponada (APT-HIMEDIA) 0,1% (diluição 10^{-1}), utilizando-se um homogeneizador Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França) por 160 segundos.

Para a determinação de coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus DNA*-se positivo, foram realizadas de acordo com o kit de placas de Petrifilm™ (3M Microbiology, Sr. Paul, MN, EUA), com incubação a 45 e 35-37 °C por 24 horas para os 2 primeiros, 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 determinação de bolores e leveduras por *spread-plate* nas polpas de acerolas (pasteurizada e *in natura*), foi realizada diluições decimais como descrito acima. Alíquotas de 100 µL de cada diluição das amostras foram transferidas, respectivamente para placas de Petri contendo ágar batata glicose 2% acidificado a pH 3,5 por adição de solução de ácido tartárico a 10% (15 mL/L), com incubação em aerobiose a 25 °C (± 1 °C), por 5 a 7 dias. Posteriormente, foi efetuado contagens das colônias características de bolores e leveduras (BRASIL, 2003).

Foi realizada a pesquisa do patógeno, *Salmonella* sp, no dia seguinte ao processamento, de acordo com a legislação brasileira para frutas, produtos de frutas e similares (ANVISA, 2001). Porções de 25g das polpas foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada tamponada normal APT (HIMEDIA), utilizando-se um Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França) por 180 segundos e logo após incubadas a 37 °C durante 24 horas, para a etapa de pré-enriquecimento. Após a etapa de pré-enriquecimento seguiu-se para a fase de enriquecimento, com transferência de alíquotas de 0,1 mL e 1 mL das diluições pré-

enriquecidas, para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (HIMEDIA) e 10 mL de caldo Tetrationato (TT) (HIMEDIA), respectivamente, e incubadas a 42 °C (RV) e a 37 °C (TT) por 24 horas. Alçadas das culturas de (RV) e (TT) foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar Sulfito de Bismuto (SBA) (HIMEDIA), Ágar Hektoen-Enteric (HE) (HIMEDIA) e Xilose Lisina Desoxilato (XLD) (HIMEDIA) a 37 °C durante 24 horas. Quando necessário, as colônias típicas de *Salmonella* sp. foram submetidas aos testes bioquímicos e testes sorológicos, que foram realizados de acordo com Silva et al., (2007).

4.9.3 Determinação dos Parâmetros Microbiológicos Sanitários dos Queijos Petit-Suisse

Para a determinação de coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus DNA-se* positivo, bolores e leveduras, foram realizadas as análises de acordo com o kit de placas de Petrifilm™ (3M Microbiology, Sr. Paul, MN, EUA), com incubação a 45 e 35-37 °C por 24 horas para os 2 primeiros e a 25 °C por 5 dias para bolores e leveduras, 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).

A pesquisa do patógeno, *Salmonella* sp, foi realizada no dia seguinte ao processamento (dia 1) e 28 dias de armazenamento refrigerado (4 °C ± 2 °C), de acordo com a legislação brasileira para o queijo de muita alta umidade, com bactérias lácticas abundantes e viáveis (ANVISA, 2001). Foi realizado de acordo com Silva et al. (2007), como descrito anteriormente no item 5.9.2.

4.9.4 Viabilidade das Populações de *L. plantarum* e *S. thermophilus* nos Queijos Petit-Suisse

Decorrido os tempos de armazenamento, porções de 10 g dos queijos foram retiradas, homogeneizadas com 90 mL de água peptonada tamponada (APT-HIMEDIA) 0,1% (diluição 10⁻¹), utilizando-se um homogeneizador Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França) por 160 segundos. Diluições decimais subsequentes foram preparadas utilizando o mesmo diluente.

Para avaliar a viabilidade das cepas de *L. plantarum* no queijo, foram realizadas diluições decimais dos queijos em APT (0,1%) (10⁻⁶ a 10⁻⁸) seguida de semeadura em profundidade (*pour plate*) em ágar MRS (MRS, Oxoid, Basigstoke, Reino Unido) como recomendação do International Dairy Federation (1995) acidificado a pH 5,4 com ácido acético glacial 1 M. Procedendo-se com a adição do Ágar (45 °C), aproximadamente 20 mL

por placa de Petri estéreis, com posterior homogeneização e solidificação do Ágar e com a incubação das placas em aerobiose a 37 °C/48h. Posteriormente foram realizadas as contagens das colônias características de *Lp*-CNPC 003.

Para a contagem de *S. thermophilus* (DuPont®) por “pour plate”, procedeu-se como descrito acima, utilizando-se ágar M17 (Oxoid®, Basigstoke, Reino Unido) suplementado de solução de lactose (Synth) a 10% (50 mL/L), com incubação em aerobiose a 37 °C/48h, nas mesmas diluições supracitadas, de acordo com Richter; Vedamuthu (2001). Posteriormente foram realizadas as contagens das colônias características de *S. thermophilus*.

4.9.5 Sobrevivência do Probiótico Frente às Condições Gastrintestinais Simuladas *in vitro* nos Queijos Petit-Suisse

A avaliação da sobrevivência de *L. plantarum* CNPC 003 como cultura fresca e na matriz alimentícia dos queijos *Petit-Suisse* de cabra, submetido a condições gastrintestinais simuladas *in vitro*, foram realizados de acordo como descrito por Buriti; Castro; Saad, (2010), com modificações. Para isso decorrido os tempos de armazenamento (1°, 14° e 28° dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C), porções de 25 g dos queijo *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) foram homogeneizados com 225 mL de solução salina NaCl 0,85% (m/v), utilizando-se Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França), por 150 segundos.

Para à simulação da fase gástrica (TI), foram preparados em frascos shott (Duran) estéreis contendo 10 mL das diluições dos queijos (Supracitadas) e seus pH ajustados entre 2,00 a 2,50 com solução de HCl 1 N. Em seguida foram adicionados soluções de pepsina e lipase, padronizadas para que as amostras apresentem concentrações de 3 g/L e 0,9 mg/L, respectivamente. Após, os frascos shot contendo as amostras foram incubados a 37 °C, em banho de água (Banho Metabólico Dubnoff TE-053, Tecnal, Brasil) com agitação constante (150 rpm durante 2 horas). Alíquotas das amostras foram coletadas e submetida ao plaqueamento das populações de *L. plantarum* [conforme descrito no item 5.9.4, com exceção, que foram incubados a 37 °C por 72 horas, correspondendo a “0 horas” do teste.

Em seguida após duas horas de incubação deu se inicio à fase entérica 1 (TII) com o ajuste do pH das soluções acertados para (4,50 a 5,50), com a padronização através da adição da solução alcalina estéril de NaOH 1N + PO₄H₂Na/L, em seguida as amostras receberam solução de bile (bile bovina) e pancreatina, padronizadas para que as amostras apresentem concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram novamente incubadas a 37 °C por 2 horas. Alíquotas das amostras foram coletadas e realizadas diluições decimais em

solução salina (0,85%) (exploratório) seguida de semeadura em profundidade (*pour plate*) em ágar MRS (MRS, Oxoid, Basigstoke, Reino Unido) como recomendação do IDF (1995) acidificado a pH 5,4 com ácido acético glacial 1 M. Procedendo-se com a adição do Ágar (45 °C), aproximadamente 20 mL por placa de Petri estéreis, com posterior homogeneização e solidificação do ágar e com a incubação da placa em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid®) a 37 °C/72 horas, correspondendo a “2 horas” do teste. Posteriormente foram realizadas as contagens das colônias características de *Lp*-CNPC 003.

Por fim, na fase final, entérica 1 (TII), o pH das amostras foram ajustadas entre 6,50 a 7,50, com solução alcalina, bile e pancreatina, padronizadas para que as amostras apresentassem concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. Alíquotas das amostras foram coletadas e submetida ao plaqueamento das populações de *L. plantarum*, como descrito anteriormente, correspondendo a “4 horas” do teste.

As amostras foram incubadas novamente a 37 °C por mais 2 horas, sob agitação constante, que correspondeu à fase entérica 2 (TIII). Alíquotas das amostras foram coletadas e submetida ao plaqueamento das populações de *L. plantarum* como descrito anteriormente, correspondendo a “6 horas” do teste.

As taxas de sobrevivência (TS%) foram calculadas de acordo com Wang et al, (2009), para a cepa de *L. plantarum* após simulação gástrica e entérica, de acordo com a Equação 4.

$$TS\% = \frac{\text{Log UFC } N1}{\text{Log UFC } N0} \times 100$$

Onde:

N1 = valor total das populações de *L. plantarum* após simulação gástrica (TI) e/ou entérica (TIII);

N0 = valor total das populações de *L. plantarum* no meio de cultura ou nos produtos, antes das simulações gastrintestinais (T0).

Eq. 4 Taxa de sobrevivência (TS%).

4.10 Análises de Antioxidantes dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

4.10.1 Metodos de Quantificação de Compostos Bioativos nas Polpas de Acerola

Com o intuito de comparar as perdas de compostos bioativos durante o processamento das amostras, os resultados (obtidos em base úmida), foram convertidos em base seca, a partir

da determinação de umidade das amostras de polpas de acerola (pasteurizada e *in natura*), de acordo com o IAL (2008).

4.10.1.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)

O ácido ascórbico foi determinado pelo Método de Tillmans, que baseia-se na redução do corante sal sódico de 2,6-diclorofenol indofenol (DFI) por uma solução ácida de vitamina C, até a coloração rósea claro permanente, de acordo com Strohecker; Henning (1967). Onde, 0,5 g das polpas (1º dia), foram homogeneizadas com ácido oxálico (0,05%) e após, foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL e completado o seu volume com o mesmo diluente, posteriormente foram filtrados com papel filtro (Qualy). Findando o período da filtração alíquotas de 5 mL foram coletadas e diluídas com 45 mL de água destilada em erlenmyer e por fim titulados com solução de Tillmans (0,02%) (DFI) refrigerada, até a coloração rósea claro permanente. O resultado foi expressos em ácido ascórbico ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$).

4.10.1.2 Determinação de Carotenóides Totais

Os carotenóides totais foram determinados de acordo com a metodologia descrita pela FAO (1997). A determinação foi realizada como se segue: foi pesada 5 g das polpas (1º dia), previamente homogeneizadas com bastão de vidro, e foram extraídas e trituradas com uma mistura de acetona P.A. (refrigerada a $4^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$) e celite (CAS 61790-53-2 - Dinâmica) simultaneamente, usando um almofariz com pistilo até obter-se um resíduo de amostra incolor. Posteriormente foram filtrados a vácuo e combinadas com éter de petróleo em funil de separação. Findando com adição de alíquotas de água destilada ($\pm 10 \text{ mL}$), foi repetindo esse processo por 3 vezes. A fase superior foi então recolhida e purificada com Sulfato de Sódio Anidro P.A. (Dinâmica). Por fim, os extratos foram preparados até um volume conhecido (50 e/ou 100 mL) com éter de petróleo. O teor total de carotenóides foi determinado registrando a absorbância a 450 nm por meio de espectrofotômetro UV-Visível (HACH, DR 6000). Foi adotado o coeficiente de absorção ($A_{1\%}^{1\text{cm}}$) de 2592, corresponde ao pigmento β -Caroteno em solvente Éter de petróleo. Os carotenóides totais foram expressos em $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ (Caroteno) de polpa de fruta.

4.10.1.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT)

Teor de antocianinas totais foi realizada segundo método descrito por Teixeira et al. (2008), com adaptações. Para o preparo dos extratos foi tomado porções de 5 g das polpas (1° dia), previamente homogeneizadas com bastão de viro, e misturadas com 80 mL de solvente extrator Etanol-Água (70:30) e em seguida adicionado de HCl P.A (Dinâmica) suficiente para ajustar o pH do meio para 2,0. O material foi então deixado em repouso por 24 horas sob refrigeração a 4 °C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), ao abrigo da luz, para extração. Após a extração o material foi prensado manualmente em filtro de tecido (Tecido não tecido - TNT) e o filtrado transferido para balão volumétrico de 100 mL, tendo seu volume aferido com o solvente extrator, formando assim o extrato concentrado. Os extratos concentrados foram centrifugados a $7.2446,4 \times \text{g}/10$ minutos a 4 °C em centrifuga (Eppendorf, 5804 R). Posteriormente o sobrenadante foi filtrado em papel filtro (Qualy). Findando a filtração os extratos foram purificados, extraíndo-se (três extrações sucessivas) o conteúdo de clorofila com auxílio de 10 mL de solvente extrator Éter Etílico:Éter de petróleo (1/1). Foi quantificado o teor das antocianinas pelo método do pH Único, adotando-se o coeficiente de extinção médio ($E^{1\%}_{1\text{cm}}$) para diversas antocianinas, de 982 (Fuleki & Francis, 1968). Por fim, foi transferido (um volume conhecido) dos extratos concentrados para balões de 10 mL, com o volume completado com solução Etanol 95% - HCl 1,5N (85/15), formando o extrato diluído, apartir desse, as absorvências foram registradas a 535 nm em espectrofotômetro UV-Visível (HACH, DR 6000) previamente zerado com o branco (Solução Etanol-HCL 1,5N (85:15)). O teor de antocianinas totais foi expresso em $\text{mg.}100 \text{ g}^{-1}$ de polpa de fruta.

4.10.2. Métodos de Quantificação de Compostos Bioativos, nos Queijos Petit-Suisse

4.10.2.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C)

O ácido Ascórbico foi determinado pelo Método de Tillmans, de acordo com Strohecker; Henning (1967). Onde, decorrido os tempos de armazenamento (1°, 7°, 14°, 21° e 28° dias), porções de 5 g dos queijos, foram homogeneizadas com ácido oxálico (0,05%) e em seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.10.1.1. Os resultados foram expressos em ácido ascórbico ($\text{mg.}100 \text{ g}^{-1}$).

4.10.2.2 Quantificação de Ácido Ascórbico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A análise de ácido ascórbico foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Rosa et al. (2007), como se segue: As amostras foram pesadas em balança analítica, extraídas com ácido sulfúrico suprapuro[®] 0,05 M em ultrassom por 10 minutos, levadas a volume conhecido, filtradas em unidade filtrante descartável de Teflon[®] hidrofílico e colocadas em frasco âmbar com tampa de rosca e septo de silicone.

A solução de ácido sulfúrico suprapuro[®] 0,05 M utilizada como solução extratora foi também escolhida como fase móvel. A coluna BIORAD Aminex[®] HPX87H foi escolhida como fase estacionária do sistema cromatográfico e o cromatógrafo líquido foi um modelo Shimadzu[®] 10A.

A vazão da fase móvel foi de 0,8 mL/minuto, volume de injeção de 20 µL e o comprimento de onda, 242,6 nm.

4.10.2.3 Determinação de Carotenoides Totais

Os carotenoides totais foram determinados de acordo com a metodologia descrita pela FAO (1997). O procedimento foi executado como se segue: Decorrido os tempos de armazenamento (1°, 14° e 28° dias), porções de 10 g dos queijos *Petit-Suisse*, foram previamente homogeneizada por trituração em liquidificador e em seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.10.1.2. Os carotenoides totais foram expressos em µg.g⁻¹ (β-Caroteno) de queijo.

4.10.2.4 Teor de Antocianinas Totais (AnT)

O teor de antocianinas totais foi determinado segundo método descrito por Teixeira et al. (2008), com adaptações. Decorrido os tempos de armazenamento (1°, 14° e 28° dias), foi preparado os extratos tomado porções de 15 g do queijo QPST1 e 30 g do queijo QPST2, previamente homogeneizada por trituração em liquidificador e em seguida procedeu-se como descrito no Item: 4.10.1.3. O teor de antocianinas totais foi expresso em mg.100 g⁻¹ de queijo.

4.10.2.5 Polifenóis Extraíveis Totais (PET)

A determinação dos Polifenóis extraíveis totais (PET), equivalentes em Ácido Gálico, foi realizada segundo método descrito por Larrauri et al. (1997); Obanda; Owuor (1997), com adaptações. Decorrido os tempos de armazenamento (1º, 14º e 28º dias), foram preparados os extratos dos queijos *Petit-Suisse*, tomado porções de 25 g do queijo *Petit-Suisse* T1, com incorporação de polpa de acerola (QPST1) e 30 g do queijo *Petit-Suisse* T2, sem incorporação de polpa de acerola, queijo branco (QPST2), previamente homogeneizadas com bastão de vidro, e misturadas com 40 mL de metanol a 50% e deixadas em repouso por 60 minutos, seguido de centrifugação a 4.527,90 x g/15 minutos a 4 °C em centrífuga (eppendorf, 5804 R), Em seguida, foram transferidos os sobrenadantes para balões volumétricos de 100 mL. O resíduo dessa centrifugação foi extraído com acetona 70% por 60 minutos, novamente centrifugado sobre as mesmas condições anteriores e o sobrenadante da segunda extração foi transferido para o mesmo balão onde estava o sobrenadante da primeira extração e em seguida esse balão foi aferido com água destilada. A curva padrão foi preparada a partir da solução padrão de ácido gálico (Acros Organics) variando sua concentração de 10 a 60 µg/mL, com adição de 1 mL do padrão, 1 mL de reativo de Folin Ciocalteau (1:3) (Dinamica), 2 mL de Carbonato de Sódio (20%) (Dinâmica) e 2 mL de água destilada. Foi utilizado como branco 1 mL de água destilada, em substituição à amostra, para calibrar o espectrofotômetro UV-Visível (HACH, DR 6000). Na determinação dos PET's alíquotas de 1 mL de cada extrato, diluído, quando necessário, foram misturadas como descrito anteriormente para a preparação da curva padrão, e as absorbâncias foram registradas a 700 nm em espectrofotômetro UV-Visível. A concentração de Polifenóis Extraíveis Totais foi expressa em mg.100 g⁻¹ de queijo, equivalente a Ácido Gálico.

4.10.3 Determinação da Capacidade Antioxidante in vitro nos Queijos Petit-Suisse

4.10.3.1 Capacidade Antioxidante Total (TEAC) pelo método ABTS^{•+}

A capacidade Antioxidante Total, equivalente ao Trolox (TEAC), foi determinada pelo método ABTS^{•+} (2,2 AZINO BIS (3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid) (Sigma) segundo método descrito por Rufino et al. (2007a), com adaptações. Foram utilizados os mesmos extratos do QPST1 preparados para a determinação dos “Polifenóis extraíveis totais (PET)”, vide item 4.10.2.5, para o QPST2 foi utilizado 40 g para a preparação dos extratos, como descrito no item anterior (item 4.10.2.5). A solução de ABTS^{•+} foi preparada misturando 5

mL de solução estoque de ABTS a 7 mM, com 88 µL de solução de persulfato de potássio a 140 mM e depois foi incubada a temperatura ambiente ao abrigo da luz por 16 h. Após esse período a solução ABTS^{•+} foi diluída com metanol P.A (Dinâmica) até se alcançar uma absorvência entre 0,700 a 734 nm. A curva padrão foi preparada a parte da solução padrão de trolox (2 mM) (Sigma) variando sua concentração final entre 100 a 2000 µM, usando álcool etílico P.A (Dinâmica) como branco para calibrar o espectrofotômetro. Para a determinação da TEAC alíquotas de 30 µL de cada diluição do extrato (três diluições independentes), foram misturadas à 3,0 mL da solução de ABTS^{•+} e as absorbâncias foram registradas a 734 nm após 6 minutos em espectrofotômetro UV-Visível (HACH, DR 6000). O cálculo do TEAC foi realizado a partir das equações das retas obtidas para as amostras e da equação da reta obtida através da curva padrão, a partir da solução padrão de trolox. O valor TEAC foi expresso em µM de Trolox/g de queijo.

4.10.3.2 Atividade Antioxidante Total pelo Método DPPH[•]

A capacidade de capturar o radical 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil (DPPH[•]) (Sigma) foi realizada segundo método descrito por Rufino et al. (2007b), com adaptações. Foram utilizados os mesmos extratos do QPST1 preparados para a determinação dos “*Polifenóis extraíveis totais (PET)*”, vide item 4.10.2.5, para o QPST2 foi utilizado 40 g para a preparação dos extratos, como descrito no item anterior (item 4.10.2.5). Para a determinação da Atividade antioxidante total (AAT) alíquotas de 100 µL de cada diluição dos extratos dos queijos (três diluições independentes), foram misturados à 3,9 mL de solução de DPPH[•] 0,06 µM e monitoradas a cada minuto em espectrofotômetro UV-Visível (HACH, DR 6000) em comprimento de onda igual a 515 nm, até a estabilidade da redução das absorbâncias. Foi utilizada uma curva de calibração para calcular a EC₅₀, ou seja, a concentração do antioxidante necessária para neutralizar 50% dos radicais DPPH, nas condições experimentais. A partir da solução inicial de DPPH[•] (60 µM), foram preparados balões volumétricos de 10 mL com soluções variando a concentração de 10 µM a 50 µM, para o preparo da curva padrão. O cálculo do EC₅₀ foi realizado a partir das equações das retas obtidas para as amostras e da equação da reta obtida através da curva de calibração do radical DPPH.

A atividade antioxidante total foi expressa em EC₅₀ em g/g DPPH[•].

4.11 Análise do Perfil de Textura (TPA) dos Queijos *Petit-Suisse*

O perfil da textura foi determinado através de teste de dupla penetração TPA (Análise do Perfil de Textura) instrumental das amostras contidas em embalagens plásticas de polipropileno (12 amostras de cada queijo em cada período de armazenamento, com peso de $50 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$). A análise foi realizada imediatamente após a retirada das amostras da refrigeração a temperatura de $(12 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C})$, utilizando-se um “probe” (P/36) de 36 mm de diâmetro, em analisador de textura TA-XT2 (Stable Micro System, Haslemere, Inglaterra). Os dados foram coletados através do programa “Texture Expert for Windows” (Stable Micro Systems). Foram analisados os atributos primários firmeza, coesividade, adesividade e elasticidade e o atributo secundário gomosidade. Para isso foram atribuídos os seguintes parâmetros: amostras de queijo *Petit-Suisse* com altura de 2 cm e diâmetro de 6,5 cm, distância de 10 mm e velocidades de pré-testes, teste e pós-testes de 1, 1 e 2 mm/s, respectivamente.

Foram avaliadas 3 tempos de armazenamento (3°, 14° e 28° dias) dos queijos *Petit-Suisse*, estocados sob refrigeração a $4 \text{ }^{\circ}\text{C} (\pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$.

4.12 Análise de Viscosidade Relativa

Realizou-se a análise de viscosidade relativa por meio de um viscosímetro rotativo, microprocessador modelo 8868M21 (Quimis). Utilizou-se 250 mL de cada amostra, que permaneceram sob agitação com temperatura de $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e rotor (Spindle-SP 3) a 2 rotações por minutos (rpm) controlada para cada amostra até o resultado da viscosidade aparecer no visor do equipamento, com % de confiança próximo a 50%. O resultado da viscosidade relativa foi dada em mPa.s (Milipascal segundo).

Foram avaliadas 3 tempos de armazenamento (3°, 14° e 28° dias) dos queijos *Petit-Suisse*, estocados sob refrigeração a $4 \text{ }^{\circ}\text{C} (\pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C})$.

4.13 Análise Sensorial e de Intenção de Compra

A análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana - Sobral, Brasil (CAAE: 0073.0.039.00-1), da Universidade Estadual do Vale do Acaraú (UVA), Sobral-CE. A análise sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) *Campus* Sobral.

A etapa de recrutamento foi realizada com voluntários saudáveis, entre estudantes e funcionários do IFCE. Foram recrutados para cada dia de avaliação uma média de 120 provadores não treinados, totalizando 360 provadores, nos três tempos avaliados, utilizando um questionário de recrutamento “Perfil do Provador” (Apêndice A).

Após o preenchimento do questionário os provadores que passaram pelos critérios de inclusão/exclusão foram encaminhados para a análise sensorial, mediante assinatura do termo de consentimento livre de esclarecimento-TCLE (Apêndice B).

A análise sensorial foi conduzida segundo o delineamento de blocos casualizados completos. Foi empregado o teste de aceitabilidade, utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 1 (desgostei extremamente) e 9 (gostei extremamente), (MEILGARD; CIVILLE; CARR, 2007). Os provadores avaliaram os atributos: aparência, cor, sabor, textura e aceitação global.

Foi realizado, também, um estudo de intenção de compra do produto, utilizando-se o mesmo formulário, através de uma escala contendo 5 alternativas: onde 5 (certamente compraria) e 1 (certamente não compraria) (Apêndice C). Ao mesmo tempo, na mesma ficha de análise sensorial foi incluído um item de comentários para que os provadores expresassem a sua opinião quanto ao produto.

Foram avaliados três tempos de armazenamento (3°, 14° e 28° dias) dos queijos *Petit-Suisse*, estocados sob refrigeração a 4°C (± 2 °C). As amostras de queijo *Petit-Suisse* (aproximadamente 20 g) foram servidas em embalagens plásticas de polietileno, fechadas com tampa aluminizadas, descartáveis. Os provadores receberam uma amostra codificada, caneta e ficha para avaliação.

4.14 Tratamento Estatístico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema fatorial 2 x 5 (NETO, 2003), constituído da adição do probiótico (sem nível de variação) durante a produção dos queijos, da adição da polpa de acerola (dois nível de variação) e de 5 tempos (1, 7, 14, 21 e 28 dias após o processamento) (cinco níveis de variação), com 3 repetições.

Os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk, adotando-se um valor de α de 0,05 a fim de serem verificados os pressupostos de normalidade e homogeneidade, respectivamente. Exceto para os dados das polpas de acerola e a CLAE no QPST1, que foram utilizados o teste t de Student. Foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para as

variáveis de análise sensorial, enquanto que para as demais foram utilizados a Análise de Variância (ANOVA), a comparação entre os pares de médias foram realizadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

O software estatístico utilizado para as análises foi o programa estatístico Action 2.9 (suplemento do Excel).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análises Físico-Químicas dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

5.1.1 Análises Físico-Químicas do Leite

A Tabela 4 apresenta os valores médios das análises físico-químicas do leite de cabra empregado na produção dos queijos *Petit-Suisse* desse trabalho.

Tabela 4 - Valores médios (média $\pm$ DP)¹ de acidez titulável, gordura, pH e vitamina C, do leite.

Parâmetros	Leite*
Acidez titulável (mg de ácido láctico.g ⁻¹)	0,15 $\pm$ 0,00
Gordura (%)	3,00 $\pm$ 0,00
pH	6,46 $\pm$ 0,08
Vitamina C (mg.100 g ⁻¹)	0,95 $\pm$ 0,00

(*) Leite de cabra proveniente de um rebanho misto das raças Anglo Nubiana e Sanem da Embrapa Caprinos e Ovinos, Sobral, Ceará, Brasil.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes).

Fonte: Autor, (2017).

De acordo com Walstra (2001) o leite tem pH normal em torno de 6,7 e é muito dependente da temperatura, diminuindo seu valor com o aumento da temperatura. O pH do leite de cabra apresenta uma ligeira inferioridade em comparação ao leite de vaca, oscilando entre 6,30 e 6,60. O pH do leite caprino utilizado na produção dos queijos *Petit-Suisse* caprinos QPST1 e QPST2 está dentro do limite estabelecido pelo autor supracitado, conforme pode ser visto na Tabela 4.

A acidez do leite de cabra utilizado para a produção dos queijos *Petit-Suisse* está de acordo com o estabelecido na legislação brasileira, que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra, estabelece os valores de 0,13 a 0,18 % ou 13 a 18 °D (Dornic). O leite utilizado na produção dos queijos apresentaram 0,15 mg de ácido láctico.g⁻¹, correspondente a 18 °D (Dornic) (BRASIL, 2000C), como mostra na Tabela 4.

A legislação Brasileira, (BRASIL, 2000c) (não estabelece um percentual (%) de gordura para o leite caprino, mas) classifica esse como Leite de Cabra Integral quando não houver qualquer alteração do teor de gordura contido na matéria-prima; leite de cabra padronizado quando o teor de gordura, expresso em % (m/m), for acertado para 3%; leite de cabra semi-desnatado: quando o teor de gordura, expresso em % m/m, for acertado para o intervalo entre 0,6 e 2,9 %; leite de cabra desnatado quando o teor de gordura, expresso em % m/m, não superar o limite máximo de 0,5%.

O leite caprino utilizado pode ser classificado segundo a legislação como leite de cabra padronizado a 3 %, apesar que o leite utilizado na produção dos queijos *Petit-Suisses* não ter sido padronizado para esse teor de gordura (Tabela 4). Ainda, de acordo com FAO (2013) o leite de cabra (100 g de leite) apresenta gordura total de 3,9 %, um pouco superior a obtida no leite de cabra utilizado na presente pesquisa.

A FAO (2013) reporta valores de vitamina C para o leite caprino em média de 1,1 mg de ácido ascórbico (mg/100 g de leite), valores esses reportados semelhantes ao encontrado pelo presente estudo (Tabela 4).

5.1.2 Análises Físico-Químicas das Polpas de Acerola

A Tabela 5 mostra os valores de pH, acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis (°Brix) das polpas de acerola.

Tabela 5 - Valores (média $\pm$ DP)¹ de pH, acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis das polpas de acerola *in natura* e submetidas ao tratamento térmico (pasteurização), após 1º dia de processamento.

Parâmetros	Polpas de acerola	
	PA-IN ²	PA-P (90 °C/3 min) ³
pH	3,14 ^A $\pm$ 0,08	3,22 ^B $\pm$ 0,09
Acidez titulável (% de Ácido málico.g⁻¹)	1,57 ^A $\pm$ 0,24	1,52 ^A $\pm$ 0,25
Atividade de água	0,986 ^A $\pm$ 0,00	0,994 ^B $\pm$ 0,00
Sólidos solúveis (°Brix)	8,83 ^A $\pm$ 1,60	8,97 ^A $\pm$ 1,53

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes);

(²) Polpa de acerola *in natura*; (³) Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre as diferentes polpas de acerola.

Fonte: Autor, (2017).

A polpa de acerola *in natura* (PA-IN) e a polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*) (PA-P) apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) para

os valores de pH e atividade de água (Tabela 5), enquanto a acidez titulável e sólidos solúveis não diferiram significativamente ($p > 0,05$). Os resultados apresentados inferem que o tratamento térmico empregado alterou as características físico-químicas da polpa. Resultados semelhantes foram obtidos por Lima et al. (2012) onde observaram que as polpas pasteurizadas de acerola apresentaram aumento nos valores médios de pH entre 3,22 e 3,27, respectivamente para a polpa de acerola *in natura* e pasteurizada. Os mesmos autores acharam valores de acidez titulável que variaram entre 1,21 % e 1,24 % de ácido cítrico, respectivamente para a polpa de acerola (*Malpighia emarginata* DC) *in natura* e pasteurizada. Observa-se que apesar da diferença estatística ($p < 0,05$) observada no presente trabalho, para o pH das polpas esse parâmetro é aceitável para essas amostras, o mesmo pode ser atribuído ao parâmetro atividade de água.

A Instrução Normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000b; BRASIL, 2016) que aprova o Regulamento Técnico Geral para fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade para polpa de fruta, estabelece as características e composição da polpa ou purê de acerola, preconizando teores mínimos de sólidos solúveis em °Brix, a 20 °C de 5,5 °Brix, pH mínimo de 2,80 e acidez total mínima de 0,80%, estando desse modo as polpas de acerola (Tabela 5) em consonância com a legislação vigente.

As polpas de acerola estudadas (PA-IN e PA-P) podem ser consideradas como um alimento muito ácido, de acordo com Franco e Landgraf (2005), que classificam alimentos muito ácidos, como aqueles que apresentam $pH < 4,0$. As PA-IN e PA-P do presente trabalho apresentaram pH de 3,14 e 3,22, respectivamente (Tabela 5), garantindo assim a segurança do ponto de vista microbiológico, visto que a elevada atividade de água das polpas de acerola PA-IN e PA-P (A_w 0,986 e 0,994) a tornariam um alimento susceptível a contaminação microbiológica de uma gama de microrganismos. Entretanto pH's muito ácidos são favoráveis ao crescimento de bolores e leveduras, de acordo com Franco e Landgraf (2005). Os valores da atividade de água das polpas estudadas estão de acordo com os achados por Lima (2010), que obteve teores de A_w 0,963 e 0,976 respectivamente para as polpas de acerola *in natura* e pasteurizadas.

Os valores de sólidos solúveis de ambas as polpas estudadas apresentam-se superiores ao mínimo preconizado (5,5 °Brix) pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 2000b) para polpa de frutas, apresentando teores de 8,83 e 8,97 °Brix, respectivamente para as polpas PA-IN e PA-P, como mostra a Tabela 5, teores esses que chegam a representar quase o dobro do valor preconizado pela legislação. Estes valores são superiores aos encontrados por Lima (2010) que obteve teores respectivos de 6,43 e 7,70 °Brix. Brunini et al. (2004) que

detectaram valores inferiores ao do presente trabalho, de 5,67 a 8,22 °Brix, em polpas de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo.

As polpas de acerola PA-IN e PA-P apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) para a análise de cor, para a coordenada colorimétrica L^* e a^* (Tabela 6).

A luminosidade (L^*) representa o brilho das polpas de acerola, numa escala que varia de 0 (preto) a 100 (branco). Por meio dessa escala, e pelos valores de luminosidades, apresentados na Tabela 6, cujos valores diferiram significativamente ($p < 0,05$), é possível verificar que ambas possuem baixa luminosidade, ou seja, apresentam valores próximos ao preto, possuindo coloração mais intensa da cor vermelha. A PA-P apresentou coloração mais amarela, em virtude do tratamento térmico aplicado, que contribuiu para degradação de pigmentos carotenoides e antocianinas. De acordo com Matsuura (2002), o aumento do valor da coordenada L^* pode ser devido a destruição térmica dos carotenoides, aumentando assim a luminosidade, proporcionando uma cor mais clara na polpa de acerola *in natura*.

Tabela 6 - Valores das coordenadas da análise de Cor (média $\pm$ DP)¹ das polpas de acerola *in natura* e submetidas ao tratamento térmico (pasteurização), após processamento.

Parâmetros	Cor	
	Polpas de acerola*	
	PA-IN ²	PA-P (90 °C/3 min) ³
Luminosidade (L^*)	36,89 ^A $\pm$ 1,05	44,78 ^B $\pm$ 5,41
Tom ^(Hue) e/ou cor (a^*)	9,62 ^A $\pm$ 1,82	8,55 ^B $\pm$ 0,07
Saturação da cor (b^*)	5,39 ^A $\pm$ 2,46	13,92 ^A $\pm$ 2,29
Pureza ^(Chroma) (c^*)	11,28 ^A $\pm$ 0,92	16,34 ^A $\pm$ 1,99
Ângulo Hue (h^*)	29,34 ^A $\pm$ 14,94	58,17 ^A $\pm$ 4,06

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de seis determinações (Média de 3 ensaios independentes);

(²) Polpa de acerola *in natura*; (³) Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre as diferentes polpas de acerola.

Fonte: Autor, (2017).

A coordenada colorimétrica a^* representa a intensidade da cor que varia de vermelho a verde. Os valores obtidos para as polpas de acerola para a coordenada a^* (Tabela 6) mostram que a intensidade da cor vermelha está mais presente na polpa *in natura* (a intensidade da cor vermelha é mensurada pelos valores positivos, desse modo, quanto maiores os seus valores, mais vermelho será a polpa), enquanto a PA-P apresentou cor vermelha menos intensa, podendo ser atribuído ao tratamento térmico.

O valor da coordenada colorimétrica b^* corresponde à intensidade de cor que varia do amarelo (b^* positivo) ao azul (b^* negativo). Ambas as amostras de polpas de acerola

apresentaram valores positivos, tendendo para a cor amarela, entretanto apesar de as polpas não terem apresentado diferença significativa ($p > 0,05$), a PA-IN apresentou menores valor de b^* .

Os valores do Chroma (c^*) e ângulo Hue (h^*) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as polpas. A intensidade da cor (c^*) e amarelecimento (h^*) das polpas de acerola mostram que houve uma perda de coloração na PA-P e de intensidade da cor, tornando a mais amarelada, pois quanto maior esses valores, maior será a perda da cor vermelha. Na Figura 3 mostra a aparência geral das polpas de acerola *in natura* e após pasteurização a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 3 minutos, pelo sistema de pasteurização *Hot-Pack*, destacando-se a coloração mais intensa (vermelha) da polpa *in natura* (A), frente a perda da coloração na polpa de acerola, após pasteurização (B).

Figura 3 - Aparência geral das polpas de acerola *in natura* (A) e pasteurizada a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 3 minutos, pelo sistema de pasteurização *Hot-Pack* (B).



Fonte: Autor, (2017).

5.1.3 Análises Físico-Químicas dos Queijos Petit-Suisse

A Tabela 7 apresenta os valores de pH e acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis dos queijos *Petit-Suisse*, com polpa de acerola (QPST1) e controle (QPST2), sem polpa de acerola durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C).

Tabela 7 - Valores (média $\pm$ DP)¹ de pH, acidez titulável, atividade de água e sólidos solúveis dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.

Parâmetros	Período (Dias)	Queijos*	
		QPST1	QPST2
pH	1	3,86 ^A _a $\pm$ 0,07	3,98 ^A _{ab} $\pm$ 0,05
	7	3,83 ^A _a $\pm$ 0,03	3,91 ^A _b $\pm$ 0,06
	14	3,90 ^A _a $\pm$ 0,06	4,01 ^A _{ab} $\pm$ 0,09
	21	3,95 ^A _a $\pm$ 0,12	4,07 ^A _a $\pm$ 0,14
	28	3,91 ^A _a $\pm$ 0,12	3,98 ^A _{ab} $\pm$ 0,09
Acidez titulável (mg de ácido láctico.g ⁻¹)	1	0,62 ^A _a $\pm$ 0,04	0,60 ^A _a $\pm$ 0,05
	7	0,61 ^A _a $\pm$ 0,05	0,60 ^A _a $\pm$ 0,07
	14	0,60 ^A _a $\pm$ 0,04	0,58 ^A _a $\pm$ 0,05
	21	0,60 ^A _a $\pm$ 0,04	0,59 ^A _a $\pm$ 0,04
	28	0,60 ^A _a $\pm$ 0,05	0,59 ^A _a $\pm$ 0,05
Atividade de água	1	0,983 ^A _a $\pm$ 0,01	0,981 ^A _a $\pm$ 0,00
	7	0,977 ^A _a $\pm$ 0,00	0,986 ^B _a $\pm$ 0,01
	14	0,979 ^A _a $\pm$ 0,00	0,982 ^A _a $\pm$ 0,00
	21	0,983 ^A _a $\pm$ 0,00	0,985 ^A _a $\pm$ 0,00
	28	0,978 ^A _a $\pm$ 0,01	0,986 ^B _a $\pm$ 0,01
Sólidos solúveis (°Brix)	1	15,67 ^A _a $\pm$ 2,35	13,33 ^A _a $\pm$ 1,80
	7	15,00 ^A _a $\pm$ 2,60	13,11 ^A _a $\pm$ 2,15
	14	15,00 ^A _a $\pm$ 2,60	12,67 ^A _a $\pm$ 1,80
	21	16,00 ^A _a $\pm$ 3,00	13,33 ^A _a $\pm$ 1,80
	28	15,00 ^A _a $\pm$ 2,60	12,67 ^A _a $\pm$ 1,80

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

Para o QPST1 os valores de pH mantiveram-se estáveis ao longo do armazenamento ($p > 0,05$), apresentando estabilidade, não apresentando pós-acidificação. Enquanto o queijo *Petit-Suisse* T2, revelou um leve, porém significativo aumento ($p < 0,05$), entre o 1° e 14° dias de armazenamento, mas reestabelecendo os valores de pH após 21 dias de

armazenamento. No entanto, não observou-se diferença significativa ($p > 0,05$) nos valores de pH entre os queijos *Petit-Suisse* QPST1 e QPST2, porém foram observados valores menores de pH para o QPST1, durante todo o período de armazenamento (Tabela 7). Essa diferença pode ser atribuída a presença da polpa de acerola (10%). Esse mesmo comportamento também pode ser observado para os valores de acidez titulável e de sólidos solúveis que não diferiram significativamente ($p > 0,05$) entre os queijos *Petit-Suisse*, exceto para os valores de atividade de água, que diferiram entre os queijos *Petit-Suisse* no 7º e 28º dia de armazenamento estudado (Tabela 7).

Esse comportamento também foi observado por Pereira et al. (2016b) ao investigar o efeito da adição de diferentes antioxidantes (ácido ascórbico, glicose oxidase, cisteína e extrato de jabuticaba) sobre as propriedades reológicas e sensoriais do queijo *Petit-Suisse* probiótico. Os autores também não observaram a influência dos antioxidantes nas características físico-químicas nos queijos *Petit-Suisse*.

O pH de ambos os queijos *Petit-Suisse* avaliados neste trabalho, se apresentaram abaixo de 4,5, que é considerado eficaz contra a proliferação de microrganismos patogênicos, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (FRANCO; LANDGRAF, 1996 *apud* BURITI, 2005).

Os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) apresentaram valores de pH inferiores aos queijos *Petit-Suisse* estudados por Vieira (2013), controle (sem adição de probiótico), probiótico e simbiótico, caprinos com polpa de açaí, Pereira (2007), com polpa de morango e Cardadelli (2006), com polpa de morango de (4,19 a 4,47), (4,45 a 4,84) e (4,29 a 4,68), respectivamente para todos os tratamentos estudados. Mas os autores supracitados obtiveram resultados semelhantes entre seus trabalhos.

Valores de pH inferiores aos queijos *Petit-suisse* estudados nos tratamentos QPST1 e QPST2 ainda foram relatados por Prudêncio et al. (2008) em seu estudo com queijo *Petit-Suisse*, utilizando tratamento com 70% de retentado de soro e 100% de leite, ambos com a incorporação de extratos brutos liofilizados de antocianinas da casca de uvas Cabernet Sauvignon e extrato de betalainha de beterraba (*B. vulgaris* L.), que obtiveram valores de 4,55 e 4,57.

Maruyama et al. (2006) estudaram a influência de diferentes combinações de gomas em queijo *Petit-Suisse* de morango e obtiveram valores de pH antagônicos ao do presente estudo, para ambos os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2), apresentando valores de pH de 4,41 a 4,74 durante 21 dias de armazenamento, para as três formulações estudadas.

A acidez titulável de ambos os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) (Tabela 7) manteve-se estável durante o período de armazenamento estudado, não apresentando diferença significativa ($p > 0,05$) durante todo o período de armazenamento. Os queijos *Petit-Suisse* não apresentaram acidez titulável significativamente diferentes ($p > 0,05$), como se observa na Tabela 7.

Os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) também apresentaram valores de acidez titulável superiores aos queijos *Petit-Suisse* estudados por Vieira (2013), com polpa de açaí e Cardadelli (2006), com polpa de morango de (0,57 a 0,73) e (0,64 a 0,82) em mg de ácido láctico.g⁻¹, respectivamente, para todos os tratamentos estudados. Mas os autores supracitados obtiveram resultados semelhantes entre eles.

A atividade de água (A_w) foi o único parâmetro físico-químico que apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os queijos *Petit-Suisses* (QPST1 e QPST2), apenas para o 7° e 28° dia de armazenamento estudado, podendo inferir assim, que a incorporação da polpa de acerola não afetou os parâmetros físico-químicos.

Ambos os queijos *Petit-Suisse* apresentaram estabilidade da atividade de água durante todo o período de armazenamento estudado ($p > 0,05$).

Os valores de A_w obtidos para os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2), assemelharam-se aos valores obtidos por Buriti, (2005) para as formulações 1 (*Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus paracasei*), 2 (*Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus paracasei* + inulina) e 3 (*Streptococcus thermophilus*) do queijo fresco cremoso, apresentando valores de 0,977, 0,976 e 0,978, respectivamente.

O QPST1 sempre apresentou os maiores teores de sólidos solúveis, durante todo o período de armazenamento estudado, essa diferença está associada a incorporação da polpa de acerola, no QPST1 (Tabela 7).

A Tabela 8 apresenta as coordenadas da análise de Cor dos queijos *Petit-Suisse*, com polpa de acerola (QPST1) e controle QPST2 (sem polpa de acerola) durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C).

Tabela 8 - Valores das coordenadas da análise de Cor (média $\pm$ DP)¹ do tratamento QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.

Parâmetros	Período (Dias)	Cor	
		Queijos*	
		QPST1	QPST2
Luminosidade (L*)	1	49,74 ^A _a $\pm$ 15,35	48,49 ^A _a $\pm$ 11,23
	7	66,38 ^A _b $\pm$ 23,70	66,23 ^A _b $\pm$ 18,96
	14	56,83 ^A _{ab} $\pm$ 10,02	67,58 ^A _a $\pm$ 17,38
	21	46,93 ^A _a $\pm$ 3,63	50,40 ^A _a $\pm$ 7,71
	28	59,79 ^A _{ab} $\pm$ 11,00	55,95 ^A _{ab} $\pm$ 6,54
Tom ^(Hue) e/ou cor (a*)	1	-0,26 ^A _a $\pm$ 0,55	-1,83 ^B _b $\pm$ 0,88
	7	-0,63 ^A _a $\pm$ 1,60	-3,21 ^B _a $\pm$ 1,47
	14	-0,25 ^A _a $\pm$ 0,53	-3,45 ^B _a $\pm$ 1,43
	21	-0,45 ^A _a $\pm$ 0,43	-2,05 ^B _b $\pm$ 0,51
	28	-1,22 ^A _a $\pm$ 0,96	-2,47 ^B _{ab} $\pm$ 0,41
Saturação da cor (b*)	1	7,56 ^A _{ab} $\pm$ 6,31	4,41 ^A _a $\pm$ 2,37
	7	10,67 ^A _a $\pm$ 5,64	7,35 ^A _a $\pm$ 2,77
	14	9,97 ^A _{ab} $\pm$ 4,60	7,78 ^A _a $\pm$ 3,15
	21	6,45 ^A _b $\pm$ 1,23	5,04 ^A _a $\pm$ 1,66
	28	10,93 ^A _a $\pm$ 4,50	6,34 ^B _a $\pm$ 1,45
Pureza ^(Chroma) (c*)	1	7,60 ^A _{ab} $\pm$ 6,29	4,77 ^A _a $\pm$ 2,52
	7	10,80 ^A _b $\pm$ 5,63	7,98 ^A _a $\pm$ 3,18
	14	10,03 ^A _{ab} $\pm$ 4,60	8,51 ^A _a $\pm$ 3,46
	21	6,48 ^A _{ab} $\pm$ 1,24	5,44 ^A _a $\pm$ 1,72
	28	11,01 ^A _b $\pm$ 4,56	6,87 ^B _a $\pm$ 1,43
Ângulo Hue (h*)	1	93,86 ^A _a $\pm$ 6,01	113,34 ^B _a $\pm$ 1,67
	7	96,18 ^A _a $\pm$ 8,62	113,30 ^B _a $\pm$ 2,10
	14	93,36 ^A _a $\pm$ 5,87	113,85 ^B _a $\pm$ 0,97
	21	93,89 ^A _a $\pm$ 3,47	112,65 ^B _a $\pm$ 2,43
	28	95,40 ^A _a $\pm$ 3,66	111,63 ^B _a $\pm$ 1,65

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de seis determinações (Média de 3 ensaios independentes).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

Os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) não diferiram significativamente ($p > 0,05$) para a análise de cor, para a coordenada colorimétrica L* (Tabela 8). A luminosidade (L*)

representa o brilho dos queijos, numa escala que varia de 0 (preto) ao 100 (branco). Por meio dessa escala, e pelos valores de luminosidade apresentados na Tabela 8, é possível dizer que apesar da incorporação da polpa de acerola no QPST1, ambos os queijos *Petit-Suisse* apresentaram a mesma luminosidade, mostrando valores mais próximos ao branco, que para a cor preto. Foi observado variação significativa para a coordenada colorimétrica L^* durante todo o período de armazenamento estudado para ambos os queijos.

A coordenada colorimétrica a^* mostra a intensidade da cor que varia de vermelho a cor verde. Os valores obtidos para os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) para a coordenada a^* (Tabela 8) diferiram significativamente ($p < 0,05$) durante todo o período de armazenamento estudado. A intensidade da cor vermelha está mais presente no QPST1, devido à incorporação da polpa de acerola (10%), visto que a intensidade da cor vermelha é mensurada pelos valores positivos, desse modo, quanto maiores os seus valores, mais vermelho será a coloração dos queijos. O queijo *Petit-Suisse* T2, controle, sem adição da polpa de acerola, apresentou cor vermelha menos intensa.

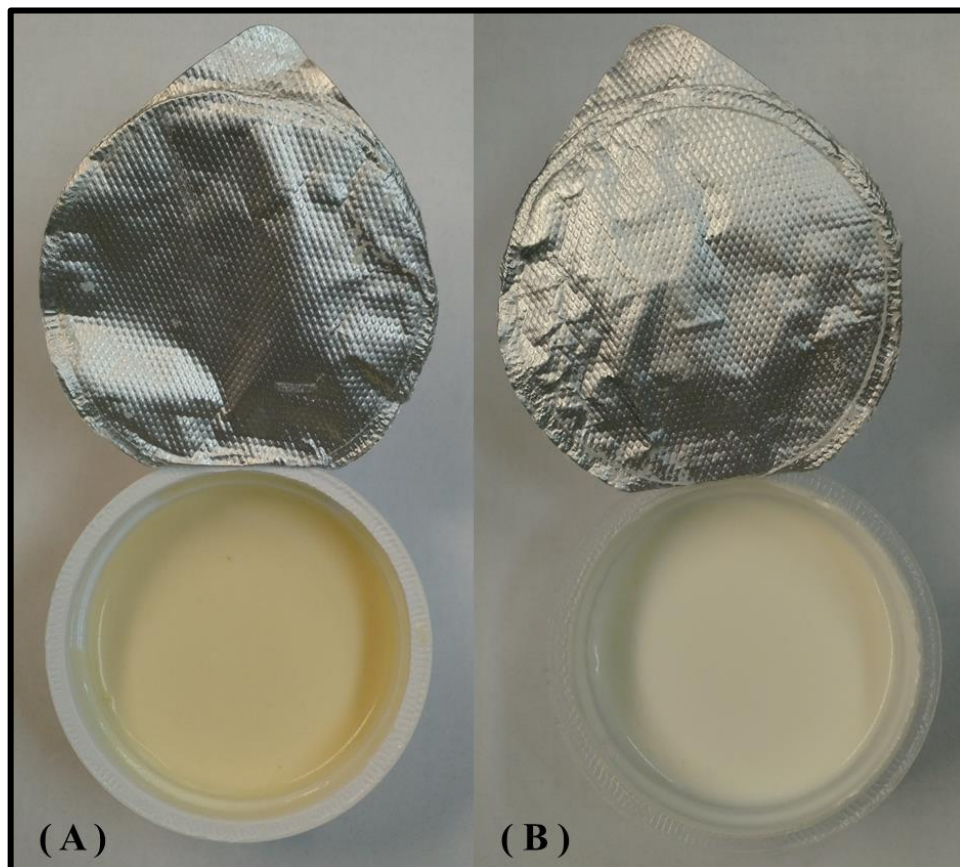
Os valores da coordenada colorimétrica b^* correspondem à intensidade de cores que variam do amarelo (b^* positivo) ou do azul (b^* negativo). Ambos os queijos apresentaram valores positivos, tendendo assim a cor amarela. Os queijos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) apenas no 28º dia de armazenamento (Tabela 8). Também foi observada variação significativa para a coordenada colorimétrica b^* durante todo o período de armazenamento estudado para ambos os queijos *Petit-Suisse*.

Os valores do Chroma (c^*) e ângulo Hue (h^*) apresentaram comportamento distintos. Os valores do Chroma (c^*) diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) (Tabela 8), apenas no 28º dia de armazenamento, diferentemente do ângulo Hue (h^*), que diferiu significativamente ($p < 0,05$) entre os QPST1 e QPST2 em todos os períodos de armazenamento estudado.

Foi observada variação significativa ($p < 0,05$) para os valores do Chroma (c^*) durante todo o período de armazenamento estudado apenas para o QPST1, já para os valores do ângulo Hue (h^*) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) para o período de estocagem de ambos os queijos *Petit-Suisse* estudados. A intensidade da cor (c^*) e amarelecimento (tornar-se amarelo ou amarelar-se) (h^*) dos queijos *Petit-Suisse*, mostram que o QPST1 possui uma coloração mais vermelha, quanto ao QPST2 uma coloração mais amarelada, pois quanto maior esses valores (Tabela 8), maior será a perda da cor vermelha. Na Figura 4 encontra-se a imagem do queijo *Petit-Suisse* caprino sabor acerola, QPST1 e

controle QPST2, verificasse que após a incorporação de polpa de acerola o QPST1 apresentou uma coloração mais alaranja, enquanto o QPST2 uma coloração branca opaca.

Figura 4 - (A) Queijo *Petit-Suisse* caprino sabor acerola QPST1 e (B) queijo *Petit-Suisse* caprino sem polpa de acerola, controle (QPST2).



Fonte: Autor, (2017).

5.2 Análises de Composição dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

5.2.1 Composição Centesimal das Polpas de Acerola

A composição centesimal das polpas de acerola (PA-IN e PA-P) estão apresentadas na Tabela 9. Verificou-se que a composição centesimal da PA-P não foi afetada significativamente ($p > 0,05$) pelo tratamento térmico (pasteurização), exceto para o teor de lipídio ($p < 0,05$).

Tabela 9 - Composição centesimal (média $\pm$ DP)¹ das polpas de acerola *in natura* e com o tratamento térmico (pasteurização), após 1 dia de processamento.

Constituintes	Composição centesimal (%) ²	
	Polpas de acerola*	
	PA-IN ³	PA-P ⁴
Umidade	91,53 ^A $\pm$ 1,40	91,70 ^A $\pm$ 1,36
Lipídio	0,45 ^A $\pm$ 0,10	0,33 ^B $\pm$ 0,12
Cinzas	0,45 ^A $\pm$ 0,02	0,45 ^A $\pm$ 0,03
Proteína	1,11 ^A $\pm$ 0,38	1,09 ^A $\pm$ 0,34
Carboidrato Total⁵	6,51 ^A $\pm$ 1,14	6,52 ^A $\pm$ 1,18
Açúcares Totais	4,70 ^A $\pm$ 1,04	4,50 ^A $\pm$ 0,96
Açúcares redutores	4,76 ^A $\pm$ 1,01	4,45 ^A $\pm$ 0,90
Açúcar não redutor	0,18 ^A $\pm$ 0,09	0,15 ^A $\pm$ 0,04
Valor calórico total em Kcal (g.100 g⁻¹)	34,34 ^A $\pm$ 5,62	33,06 ^A $\pm$ 5,17

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes);

(²) Resultados expressos em base úmida (% = g.100 g⁻¹); (³) Polpa de acerola *in natura*; (⁴) Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*); (⁵) Carboidrato por diferença.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre as diferentes polpas de acerola.

Fonte: Autor, (2017).

A Instrução normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000 (Brasil, 2000b) não preconiza valores de umidade para a polpa de acerola, entretanto esta estabelece como parâmetro os sólidos totais, que devem apresentar valor mínimo de 6,50 g.100g⁻¹, inferindo assim, que ambas as polpas de acerola (PA-IN e PA-P) estão de acordo com as exigências da legislação para esse componente.

Brunini et al. (2004) detectaram valores de umidade de 73,05 a 84,78% em polpas de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo, diferindo dos teores apresentados pelo presente trabalho. United States Department of Agriculture (USDA, 2016) informa valores de referência de umidade para polpa de acerola de 91,41%, valores esses análogos aos obtidos para ambas as polpas do presente trabalho.

USDA (2016) informa valores de referência para lipídio de $0,30 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$, valor esse semelhante para a PA-P do presente trabalho.

Freitas et al. (2006) relatam valores de cinzas de $0,40 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ para a acerola imatura (verde), intermediária (amarela) e madura (vermelha), teor esse semelhante a ambas as polpas de acerola aqui estudadas.

Araujo et al. (2014b) encontraram teores de proteínas para acerola, em percentagem de matéria de seca, de 13,16%, valores esses semelhantes às PA-IN e PA-P aqui estudadas. Entretanto, USDA (2016) informa valores de referência para proteína de 0,40%, para a polpa de acerola, valor esse antagônico a ambas as polpas aqui estudadas (Tabela 9). Freitas et al. (2006) relatam valores de proteínas de 1,2, 0,9 e 0,9 $\text{g.}100 \text{ g}^{-1}$ para a acerola imatura (verde), intermediária (amarela) e madura (vermelha), respectivamente, valores esses semelhantes a ambas as polpas de acerola aqui estudadas.

Os valores de carboidrato total, açúcares totais, açúcares redutores e açúcares não redutores ficaram constantes após o tratamento térmico ($p > 0,05$). Esses compostos estão relacionados diretamente ao alto teor de sólidos solúveis apresentados pelas polpas, cuja variação também não foi observado para os sólidos solúveis totais entre as polpas de acerola (PA-IN e PA-P). Chitarra e Chitarra (2005) afirmam que existe uma relação direta entre os sólidos solúveis e a concentração de açúcares solúveis totais, caracterizando as polpas produzidas do ponto de vista tecnológico como uma ótima matéria prima para a produção de vinhos, sucos, geléias, doces em massa, etc., pois possuem elevados teores de açúcares. A Instrução normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000, Brasil 2000b e Brasil (2016) preconiza que a polpa de acerola deve conter um mínimo de açúcares totais naturais de 4,00 e máximo de $9,50 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$, logo ambas as polpas aqui estudadas se apresentam dentro desse limite.

Lima (2010) obteve valores inferiores ao do presente estudo para açúcares totais e redutores para a polpa de acerola pasteurizada, de 3,68 e 4,68, respectivamente, mas obteve resultados análogos ao do presente trabalho para a sua a polpa de acerola não-pasteurizada, obtendo teores de 3,39% e 4,47% para açúcares totais e redutores, respectivamente. USDA (2016) reporta valores de 7,69% de carboidrato total, por diferença, valor próximo ao encontrado no presente estudo (Tabela 9).

Valor Calórico Total VET, expresso em $\text{Kcal g.}100 \text{ g}^{-1}$ não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) entre as polpas de acerola produzidas (Tabela 9). USDA (2016) reporta valor calórico total semelhante as polpas aqui estudadas, de $32 \text{ Kcal g.}100 \text{ g}^{-1}$.

5.2.2 Composição Centesimal dos Queijos Petit-Suisse

A Tabela 10 apresenta a composição do QPST1 e QPST2 durante armazenamento refrigerado a 4 °C (± 2 °C) por 28 dias. Observa-se que não existe diferença significativa para todos os constituintes da composição centesimal ($p > 0,05$) dos QPST1 e QPST2 durante o período de armazenamento estudado.

Tabela 10 - Composição centesimal (média $\pm$ DP)¹ do queijo *Petit-Suisse*, tratamento QPST1 e QPST2 armazenado em temperatura de refrigeração de 4 °C ($\pm$ 2 °C) no produto final (1 dia) e após, 14 e 28 dias de armazenamento.

Constituintes	Período (Dias)	Composição centesimal (%) ²	
		Queijos*	
		QPST1	QPST2
Umidade	1	74,19 ^{A_a} $\pm$ 0,97	72,10 ^{A_a} $\pm$ 1,88
	14	73,84 ^{A_a} $\pm$ 1,29	71,45 ^{A_a} $\pm$ 2,43
	28	73,68 ^{A_a} $\pm$ 1,30	71,33 ^{A_a} $\pm$ 2,16
Gordura	1	6,50 ^{A_a} $\pm$ 1,15	6,83 ^{A_a} $\pm$ 0,90
	14	6,67 ^{A_a} $\pm$ 1,39	7,00 ^{A_a} $\pm$ 1,15
	28	6,78 ^{A_a} $\pm$ 1,56	7,17 ^{A_a} $\pm$ 1,39
Cinzas	1	0,76 ^{A_a} $\pm$ 0,03	0,74 ^{A_a} $\pm$ 0,09
	14	0,76 ^{A_a} $\pm$ 0,03	0,80 ^{A_a} $\pm$ 0,07
	28	0,77 ^{A_a} $\pm$ 0,02	0,77 ^{A_a} $\pm$ 0,64
Proteína	1	7,67 ^{A_a} $\pm$ 1,42	8,05 ^{A_a} $\pm$ 1,39
	14	7,87 ^{A_a} $\pm$ 1,50	7,98 ^{A_a} $\pm$ 1,37
	28	7,83 ^{A_a} $\pm$ 1,49	8,05 ^{A_a} $\pm$ 1,36
Carboidrato Total ³	1	10,88 ^{A_a} $\pm$ 1,73	12,27 ^{A_a} $\pm$ 0,73
	14	10,86 ^{A_a} $\pm$ 1,69	12,77 ^{B_a} $\pm$ 0,38
	28	10,95 ^{A_a} $\pm$ 1,77	12,68 ^{A_a} $\pm$ 0,86
Açúcares Totais	1	7,74 ^{A_a} $\pm$ 1,25	7,59 ^{A_a} $\pm$ 0,42
	14	7,96 ^{A_a} $\pm$ 1,10	7,88 ^{A_a} $\pm$ 0,65
	28	7,84 ^{A_a} $\pm$ 0,87	7,74 ^{A_a} $\pm$ 0,52
Açúcares redutores	1	3,90 ^{A_a} $\pm$ 0,45	1,58 ^{A_a} $\pm$ 0,13
	14	4,02 ^{A_a} $\pm$ 0,40	1,46 ^{A_a} $\pm$ 0,11
	28	4,16 ^{A_a} $\pm$ 0,53	1,48 ^{A_a} $\pm$ 0,21
Açúcar não redutor	1	3,51 ^{A_a} $\pm$ 1,07	5,77 ^{B_a} $\pm$ 0,47
	14	3,74 ^{A_a} $\pm$ 0,92	6,14 ^{B_a} $\pm$ 0,63
	28	3,49 ^{A_a} $\pm$ 0,99	6,07 ^{B_a} $\pm$ 0,56
Valor calórico total em Kcal (g.100 g ⁻¹)	1	132,71 ^{A_a} $\pm$ 9,37	142,81 ^{A_a} $\pm$ 11,90
	14	132,93 ^{A_a} $\pm$ 11,87	146,00 ^{A_a} $\pm$ 15,51
	28	136,58 ^{A_a} $\pm$ 13,72	147,43 ^{A_a} $\pm$ 15,51

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes);

(²) Resultados expressos em base úmida (% = g.100 g⁻¹); (³) Carboidrato por diferença.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% (p < 0,05) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% (p < 0,05) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

Foi observado apenas diferença significativa (p < 0,05) para carboidrato total, no 7º dia de processamento e para açúcar não redutor, nos dias 1, 14 e 28 de armazenamento refrigerado. Essa diferença é atribuída a incorporação da polpa de acerola no QPST1,

principalmente no parâmetro de composição centesimal açúcar não redutor, no qual o QPST1 apresentou valores inferiores ao QPST2.

De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos (BRASIL, 1996) ambos os queijos *Petit-Suisse* com polpa de acerola, e sem polpa de acerola desenvolvido no presente trabalho, podem ser classificados como queijos de muita alta umidade (> 55,0%), como mostra a Tabela 10.

A legislação brasileira (BRASIL, 1996) classifica os queijos por meio do seu conteúdo de gordura em extra gordo quando contenham o mínimo de 60% (Gordos), quando contém entre 45,0 e 59,9% (Semigordo), entre 25,0 e 44,9% (Magros), entre 10,0 e 24,9% (Desnatados): quando contém menos de 10,0%.

O QPST1 e o QPST2 obteve 6,78% e 7,17% de gordura, respectivamente (Tabela 10), sendo classificado com a denominação de “queijo desnatado”.

A Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000, (BRASIL, 2000a) aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo tipo *Petit-Suisse*, que preconiza, que este queijo deve conter no mínimo 6% de proteínas lácteas, o QPST1 e o QPST2 apresentaram 7,67 a 7,83% e 8,05 a 8,05% de proteínas, respectivamente com 1 e 28 dias de armazenamento (Tabela 10), estando de acordo com a legislação vigente.

A composição centesimal dos queijos *Petit-Suisse* QPST1 e QPST2 (Tabela 10) estão de acordo aos obtidos por Prudencio et al. (2008) em seu estudo com queijo *Petit-Suisse*, com a utilização de tratamento com 70% de retentado de soro e 100% de leite, ambos com a incorporação de extratos brutos liofilizados de antocianinas de casca de uvas Cabernet Sauvignon e extrato de betalainha de beterraba (*B. vulgaris* L.), obtendo os seguintes teores de umidade (75,53 e 76,22%), cinzas (0,73 e 0,72%), proteína (6,22 e 6,717%), lipídeos (4,60 e 4,30%) e carboidratos totais (12,90 e 12,08%).

Vieira (2013) que pesquisou o queijo *Petit-Suisse*, controle (sem adição de probiótico), probiótico e simbiótico de cabra, com polpa de açaí, obteve os seguintes valores para umidade (68,52, 70,96 e 62,88%), cinzas (0,744, 0,724 e 0,713%), proteína (9,96, 9,53 e 9,34%), lipídeos (4,17, 3,50 e 3,50%), carboidratos totais (16,61, 15,28 e 23,56%) e valor energético total (143,81 130,74, 139,46%), respectivamente, sendo lipídeos, carboidratos totais superiores aos achados para o queijo *Petit-Suisse* do presente trabalho.

5.3 Análises Microbiológicas dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

5.3.1 Viabilidade do Fermento Liofilizado *L. plantarum* CNPC 003

A viabilidade do fermento láctico de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (DVS) apresentou ótimo resultado, com populações superiores a 8 Log UFC.g⁻¹ (Tabela 11). Populações semelhantes foram encontradas por Carmo (2006) em estudo da produção de cultura DVS de *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 em soro de queijo Minas frescal, controle e submetidos ao choque térmico e choque ácido, sem adição de crioprotetores, antes de serem secas em liofilizador, de 8,91, 8,26 e 8,28 Log UFC.g⁻¹, respectivamente. Já em estudo recente, Guerin et al. (2017) obtiveram resultados análogos ao presente trabalho na secagem por *spray drying* de *Lactobacillus rhamnosus* GG, com concentrações de células bacterianas nos fermentos na faixa de 7,8 e 8,9 log UFC/g.

Tabela 11 - Valores (média ± DP)¹ da população de *Lactobacillus plantarum* no fermento liofilizado (DVS) e atividade de água, no produto final (1 dia).

Período (dia)	Fermento liofilizado (DVS) de <i>Lactobacillus plantarum</i> *	
	População (Log UFC.g ⁻¹) ^{1/a}	Atividade de água(A _w) ^{1/b}
1 [#]	8,34 ± 0,01	0,059 ± 0,01

(*) Cultura probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 (cultura nativa, isolada a partir de leite de cabra, da raça Anglo Nubiana); ([#]) Primeiro dia após a liofilização; (¹) Média ± Desvio Padrão, valores referem-se a média de (duas)^a determinações; (três)^b determinações (Média de 1 ensaio).

Fonte: Autor, (2017).

A determinação da atividade de água, (A_w) foi realizada como medida de parâmetro de estabilidade do fermento. Esse parâmetro é muito importante para o desenvolvimento de fermentos liofilizados.

Um fermento liofilizado deve apresentar um valor de atividade de água ≤ 0,3, para evitar multiplicação (atividades metabólicas) de qualquer microrganismo, segundo Franco e Landgraf (2005). Portanto o fermento liofilizado produzido encontra-se abaixo dos limites de multiplicação (Tabela 11). A estabilidade promovida pela atividade de água vai ser somada a estabilidade promovida pelo armazenamento do fermento sob baixas temperaturas em “freezer”, mantendo as células do fermento vivas e íntegras, porém, inativas e com vida de prateleira que permita o uso por um período de tempo prolongado.

As preparações fermentadas em leite e liofilizadas na base láctea favoreceram a manutenção da viabilidade do *Lactobacillus plantarum* CNPC 003. Apesar que Champagne et al. (1996) afirmem, em seu trabalho, que para as culturas liofilizadas possuem mais

viabilidade durante o armazenamento essas devem ser submetidas a microencapsulação ou imobilizada em polímeros.

Os resultados do fermento do presente trabalho foram superiores, em média 1 log UFC.g⁻¹, aos encontrados por Champagne et al. (1996) ao avaliarem *L. rhamnosus* R011 liofilizados com adição de polímeros gelatina, maltodextrinas e goma xantana armazenados a -20 °C, durante 12 meses.

5.3.2 Caracterização Microbiológica das Polpas de Acerola

A Tabela 12 apresenta as contagens de microrganismos indicadores de contaminação na polpa de acerola *in natura* e pasteurizada.

Para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Bolors e Leveduras a legislação Brasileira (BRASIL, 2001), não estabelece padrão microbiológico em polpas de frutas, ficando subtendido que devem ser inócuas desses microrganismos. Mas estabelece ausência *Salmonella* sp. na porção de 25 g de polpa de fruta, como também estabelece limite máximo de 10² UFC/g para Coliformes a 45 °C/g. As polpas de acerola *in natura* e pasteurizada estão de acordo com os padrões microbiológicos preconizados pela legislação vigente, Brasil (2001), apresentando ausência de contaminação (< 1 Log UFC.g⁻¹) (Tabela 12).

Tabela 12 - Contagem de microrganismos indicadores de contaminação na polpa de acerola *in natura* e na submetida ao tratamento térmico (pasteurização), após 1 ° dia de processamento.

Parâmetros Microbiológicos	(Log UFC.g ⁻¹)	
	Polpas de acerola	
	PA-IN ¹	PA-P ²
	Média ± DP*	Média ± DP*
Coliformes 45 °C	<1 ± 0,00	<1 ± 0,00
<i>Escherichia coli</i>	<1 ± 0,00	<1 ± 0,00
Bolors	2,65 ± 0,40	<1 ± 0,00
Leveduras	2,53 ± 0,49	<1 ± 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1 ± 0,00	<1 ± 0,00
<i>Salmonella</i> sp. (em 25g)	Ausência	Ausência

(¹) Polpa de acerola *in natura*; (²) Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*);

(*) Média ± Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes).

Fonte: Autor, (2017).

A ausência de contaminação nas polpas estudadas está relacionada com a qualidade do produto (matéria prima) e a eficiência das Boas Práticas de Fabricação (BPFs), que garantem que o produto final seja seguro para consumo.

A polpa de acerola *in natura* (PA-IN) apresentou baixa contaminação de bolores e leveduras de 2,65 e 2,53 Log UFC.g⁻¹, respectivamente, enquanto a polpa pasteurizada (PA-P) não apresentou contagem para esses microrganismos, ficando evidente que a pasteurização a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*) foi eficiente na eliminação desses microrganismos.

A presença de bolores e leveduras na polpa PA-IN é natural, que seja advinda do cultivo no campo, onde as acerolas estão expostas a presença desses microrganismos, ressalta-se ainda que as acerolas doadas pela empresa Nutrilite/Amway, são cultivadas em regime orgânico (Biodinâmica), e que não foi utilizado nenhum tipo de conservante na polpa, dificultando, assim, o controle desses microrganismos na polpa PA-IN.

No caso das polpas, a legislação vigente Brasil (2001) não estabelece um padrão para bolores e leveduras. Visto essa deficiência da legislação vigente Brasil (2001) e apenas para fins de comparação, a Resolução CNNPA nº 12, de 30 de março de 1978 (BRASIL 1978), preconiza características microbiológicas para polpas de frutas, entre elas, preconizam máximo 10³.g⁻¹ de bolores e leveduras, estando dessa forma a polpa PA-IN de acordo as exigências.

A polpa utilizada para produzir os queijos foi a polpa pasteurizada a 90 °C (± 2 °C) por 3 minutos, pelo sistema de pasteurização *Hot-Pack* para não ter influência de outros microrganismos.

5.3.3 Análises Microbiológicas dos Queijos Petit-Suisse

Na Tabela 13 encontram-se as populações de microrganismos indicadores de contaminação por coliformes a 45 °C, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. para os queijos *Petit-Suisse* caprinos QPST1 e QPST2 durante o armazenamento sob refrigeração a 4 °C (± 2 °C) por até 28 dias.

Tabela 13 - Contagem de microrganismos indicadores de contaminação nos tratamentos QPST1 e QPST2 armazenados em temperatura de 4 °C ± 2 °C nos queijos *Petit-Suisse* com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.

Parâmetros Microbiológicos	Período (Dias)	(Log UFC.g ⁻¹)	
		Queijos*	
		QPST1	QPST2
		Média $\pm$ DP ¹	Média $\pm$ DP ¹
Coliformes 45 °C	1	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	14	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	28	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
<i>Escherichia coli</i>	1	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	14	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	28	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
Bolores e Leveduras	1	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	14	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	28	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	14	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
	28	<1 $\pm$ 0,00	<1 $\pm$ 0,00
<i>Salmonella</i> sp. (em 25g)	1	Ausência	Ausência
	28	Ausência	Ausência

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes).
Fonte: Autor, (2017).

A Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000, (BRASIL, 2000a) aprova o regulamento técnico para fixação de Identidade e Qualidade de queijo tipo *Petit-Suisse*, preconiza que o queijo *Petit-Suisse* deve cumprir com o estabelecido no Regulamento Técnico Geral para Fixação de Requisitos Microbiológicos de Queijos, para queijos de muita alta umidade com bactérias lácticas em forma viável e abundante, Brasil (2001).

De acordo com Brasil (2001) os queijos *Petit-Suisse* potencialmente probióticos aqui estudados (Tabela 13) pertencem ao grupo de queijos de muito alta umidade > 55%, com bactérias lácticas abundantes e viáveis.

Não foram detectados contaminantes nos queijos *Petit-Suisse* potencialmente probiótico, com polpa de acerola (QPST1) e controle, sem adição de polpa de acerola (QPST2), armazenados a 4 °C ($\pm$ 2 °C) por até 28 dias, não apresentaram contaminação no nível de detecção das análises, apresentando ausência de contaminação (<1 Log UFC.g⁻¹) para *Staphylococcus* DNase positiva, *Escherichia coli*. Coliformes 45 °C e Bolores e Leveduras.

Para *Salmonella* sp. em 25 g não foram detectadas colônias típicas nos tratamentos QPST1 e QPST2 armazenados em temperatura de refrigeração de 4 °C ($\pm$ 2 °C) por até 28 dias, também estando de acordo com a legislação, apresentando ausência na alíquota analisada (Tabela 13).

A ausência de contaminação no QPST1 e QPST2 potencialmente probióticos, armazenados a 4 °C ($\pm$ 2 °C) por até 28 dias, aqui estudados pode estar relacionada com a qualidade dos produtos, visto que estavam mantidos em condições ideais de armazenamento, também como pela implantação de boas práticas de manejo do rebanho leiteiro da Embrapa Caprinos e Ovinos, a higiene rigorosa em todas as etapas de produção do queijo, fica garantida a qualidade microbiológica do produto final e preservação da saúde do consumidor. A ausência de contaminação nos queijos *Petit-Suisse* também está relacionada com a qualidade das polpas de acerola produzida.

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) garantem que o produto final seja seguro para consumo, pelo consumidor e reduzem os possíveis riscos de contaminação por microrganismos deterioradores, favorecendo a viabilidade da cultura probiótica durante a vida de prateleira do produto (BENEVIDES; EGITO, 2007)

A ausência de contaminação nos queijos *Petit-Suisse* (Tabela 13) favorece a predominância e o desenvolvimento da cultura láctica probiótica no produto. Para isso é de fundamental importância o emprego de tratamento térmico adequado ao processamento.

5.3.4 Viabilidade das Populações de *L. plantarum* e *S. thermophilus* nos Queijos Petit-Suisse

As populações de *L. plantarum* CNPC 003 adicionadas ao queijo *Petit-Suisse*, com incorporação de polpa de acerola (QPST1), e controle (QPST2), foram mantidas estáveis ($p > 0,05$) e acima de 8 Log UFC.g⁻¹ ao longo do período de armazenamento estudado (Tabela 14).

Tabela 14 - Valores (média $\pm$ DP)¹ das populações de *S. thermophilus* e *L. plantarum* nos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de (4 °C $\pm$ 2 °C) do produto final com 1, 14 e 28 dias de armazenamento.

Microrganismos	Período em (dias)	Populações dos microrganismos (Log UFC.g ⁻¹)	
		Queijos*	
		QPST1	QPST2
<i>S. thermophilus</i>	1	9,59 ^{A_a} $\pm$ 0,22	9,67 ^{A_a} $\pm$ 0,10
	14	9,61 ^{A_a} $\pm$ 0,14	9,44 ^{A_a} $\pm$ 0,08
	28	9,34 ^{A_b} $\pm$ 0,12	9,47 ^{A_a} $\pm$ 0,14
<i>L. plantarum</i>	1	8,18 ^{A_a} $\pm$ 0,18	8,16 ^{A_a} $\pm$ 0,30
	14	8,03 ^{A_a} $\pm$ 0,33	8,14 ^{A_a} $\pm$ 0,29
	28	8,04 ^{A_a} $\pm$ 0,20	8,08 ^{A_a} $\pm$ 0,29

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de duas determinações (Média de 3 ensaios independentes).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

Os resultados demonstram que no queijo *Petit-Suisse* desenvolvido com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo (QPST1), a polpa de acerola não afetou a viabilidade do microrganismo probiótico (*L. plantarum* CNPC 003) ao longo do período de armazenamento estudado (Tabela 14).

Para ter a eficácia de um alimento probiótico, o número dessas bactérias deve estar viável, ativo e abundante até o final do prazo de validade do produto. Em alimentos como os leites fermentados o processamento e o armazenamento sob refrigeração são fundamentais para esta viabilidade (SAAD, 2006; ZHAO et al., 2008).

A legislação brasileira (BRASIL, 2008) revogada, preconizava que, para um alimento probiótico exercer seus potenciais efeitos benéficos à saúde do consumidor, deverá conter uma quantidade mínima de 8 a 9 Log UFC/dia, no entanto a legislação brasileira vigente

Brasil (2016) no âmbito de sua aplicação, determina que a alegação de propriedade funcional ou de saúde deve ser definida pelo pesquisador (empresa) e será avaliada, caso a caso, com base nas definições e princípios estabelecidos na Resolução n. 18, de 30 de abril de 1999. Portanto, como a legislação brasileira não estabelece quantidade mínima (Log UFC/dia) para ser considerado um alimento probiótico, recorreu-se a padrões internacionais.

Internacionalmente, considera-se que o alimento probiótico deve conter uma quantidade mínima de células viáveis, entre 10^6 - 10^8 UFC/g ou 10^8 - 10^{10} UFC/dia (CHAMPAGNE et al., 2011; TRIPATHI; GIRI, 2014). Estabelecendo-se a porção de 50 g para os queijos *Petit-Suisse*, que corresponde a duas colheres de sopa do produto, porção essa sugerida pela Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, (BRASIL, 2003), que aprova o Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional, os queijos *Petit-Suisse* caprinos, com incorporação de polpa de acerola (QPST1) e controle, sem adição de polpa de acerola (QPST2), apresentaram respectivamente com 28 dias de prateleira $5,5 \times 10^9$ e $5,9 \times 10^9$ UFC/dia, em consonância com os padrões internacionais.

Ainda internacionalmente, mais recentemente a Canadian Food Inspection Agency (CFIA, 2016) estabeleceu níveis mínimos de probiótico em produtos, preconizando que uma porção (declarada na embalagem do produto) deve conter no mínimo de $1,0 \times 10^9$ UFC das cepas declaradas como probióticas. Ambos os queijos *Petit-Suisse* atendem a legislação supracitada.

Portanto, os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2), produzidos com a cepa de *S. thermophilus* TA-40 em co-cultura com *L. plantarum* CNPC 003 atenderam aos padrões internacionais para alimentos probióticos durante todo o período de estocagem, caracterizando os queijos *Petit-Suisse* produzidos como um produto láctico potencialmente probiótico.

No presente trabalho, as populações da cepa *L. plantarum* CNPC 003 em ambos os queijos *Petit-Suisse* (Tabela 14) foram superiores às reportadas por Pereira et al. (2016a), que em estudo do estresse oxidativo de probióticos, em queijo *Petit-Suisse*, obtiveram populações muito inferiores de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis* com 28º dias de armazenamento, em matriz de queijo *Petit-Suisse*, sem adição de agente antioxidante (F1) e, com a incorporação de ácido ascórbico (F2), Glucose Oxidase + Glucose (F3), Cisteína (F4), (industrializadas) e extrato de Jabuticaba (F5) (Extracto de jabuticaba obtido por extração supercrítica a 60 °C utilizando 80% de dióxido de carbono e 20% de água, 300 bar de pressão), respectivamente nas concentrações de 250,00 (62,32 + 4,35), 280,00, 5000,00 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) adicionados na massa-base do queijo *quark*, apresentando 6, 6, 4, 6 e 7 Log UFC. g^{-1}

de *Lactobacillus acidophilus* e ≥ 6 a $\leq 6,5$ Log UFC/g⁻¹ de *Bifidobacterium lactis* com 28° dias de armazenamento, respectivamente, para as formulações (1, 2, 3, 4 e 5).

O trabalho do autor supracitado apresentou resultado semelhante ao do presente trabalho, visto que a incorporação de polpas/extratos antioxidantes não levaram a diminuição do microrganismo probiótico estudado.

Pereira (2010) obteve populações de *Lactobacillus acidophilus*, inferior as populações obtidas para ambos os tratamentos do presente trabalho, conforme pode ser visto na Tabela 14, entre ≥ 7 a $\leq 7,5$ Log UFC/g para as formulações com *Lactobacillus acidophilus*, em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* (F2) e *Lactobacillus acidophilus* + *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* (F4) e semelhantes às populações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* para a formulação (F3), com *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* e (F4) $\geq 8,5$ Log UFC/g⁻¹ em seu estudo com queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico sabor morango.

Cardarelli (2006) obteve populações de *Lactobacillus acidophilus* (6,49 a 6,99 Log UFC.g⁻¹) e *Bifidobacterium lactis* 7,40 a 7,69 Log UFC.g⁻¹) para as formulações (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8) em seu estudo com queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico sabor morango, populações essas bastante inferiores as obtidas para a cepa de *L. plantarum* CNPC 003 em ambos os tratamentos aqui estudado, durante todo o período de armazenamento estudado.

As populações médias de *S. thermophilus* durante o armazenamento refrigerado dos produtos apresentam-se na Tabela 14. A viabilidade do *S. thermophilus* manteve-se estável para ambos os queijos *Petit-Suisse*, apesar de que para o QPST1, foi registrado um ligeiro, mas significativo ($p < 0,05$) aumento de suas populações com 28 dias de armazenamento.

As populações de *S. thermophilus* entre os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) para todo o período de armazenamento estudado (Tabela 14).

Resultados semelhantes foram observados por Cardarelli et al. (2008), que ao estudarem queijos *Petit-Suisse* probióticos e simbióticos, utilizando culturas de *S. thermophilus* TA40 em co-cultura com *L. acidophilus* Lac4 e/ou *Bifidobacterium lactis* BL04, não verificaram diferença significativa entre as populações de *S. thermophilus*, que foram superiores a 9,56 log UFC.g⁻¹.

As populações de *S. thermophilus* obtidas nos queijos *Petit-Suisse* do presente trabalho mantiveram-se superiores a 9,34 e 9,47 Log UFC.g⁻¹ para os tratamentos QPST1 e QPST2 durante toda a vida de prateleira estudada (Tabela 14). Estes valores estão de acordo com os

achados por Buriti (2005), Cardarelli (2006) e Pereira (2007) para *S. thermophilus*, apresentando populações no queijo fresco cremoso para as três formulações de (9,59, 9,72, 9,67) (BURITI, 2005), *Petit-Suisse* simbiótico apresentando populações *L. acidophilus* Lac4 para as sete formulações, apresentando valores entre (9,61 a 9,87) (CARDARELLI, 2006) e *Petit-Suisse* apresentando populações de microrganismos para os quatros tratamentos (9,23, 9,46, 9,44, 9,49) (PEREIRA, 2007), para as populações com 28 dias de armazenamento. Entretanto, valores divergentes aos encontrados pelo presente trabalho para as populações de *S. thermophilus*, foram obtidos por Vieira (2013) no estudo da viabilidade de *S. thermophilus* no queijo *Petit-Suisse* probiótico e simbiótico, que obtendo populações de 8,81 e 8,44 Log UFC.g⁻¹, respectivamente, mais análogos as populações de *S. thermophilus* obtidas para a massa-base (Queijo *Quark*), de 9,58 Log UFC.g⁻¹.

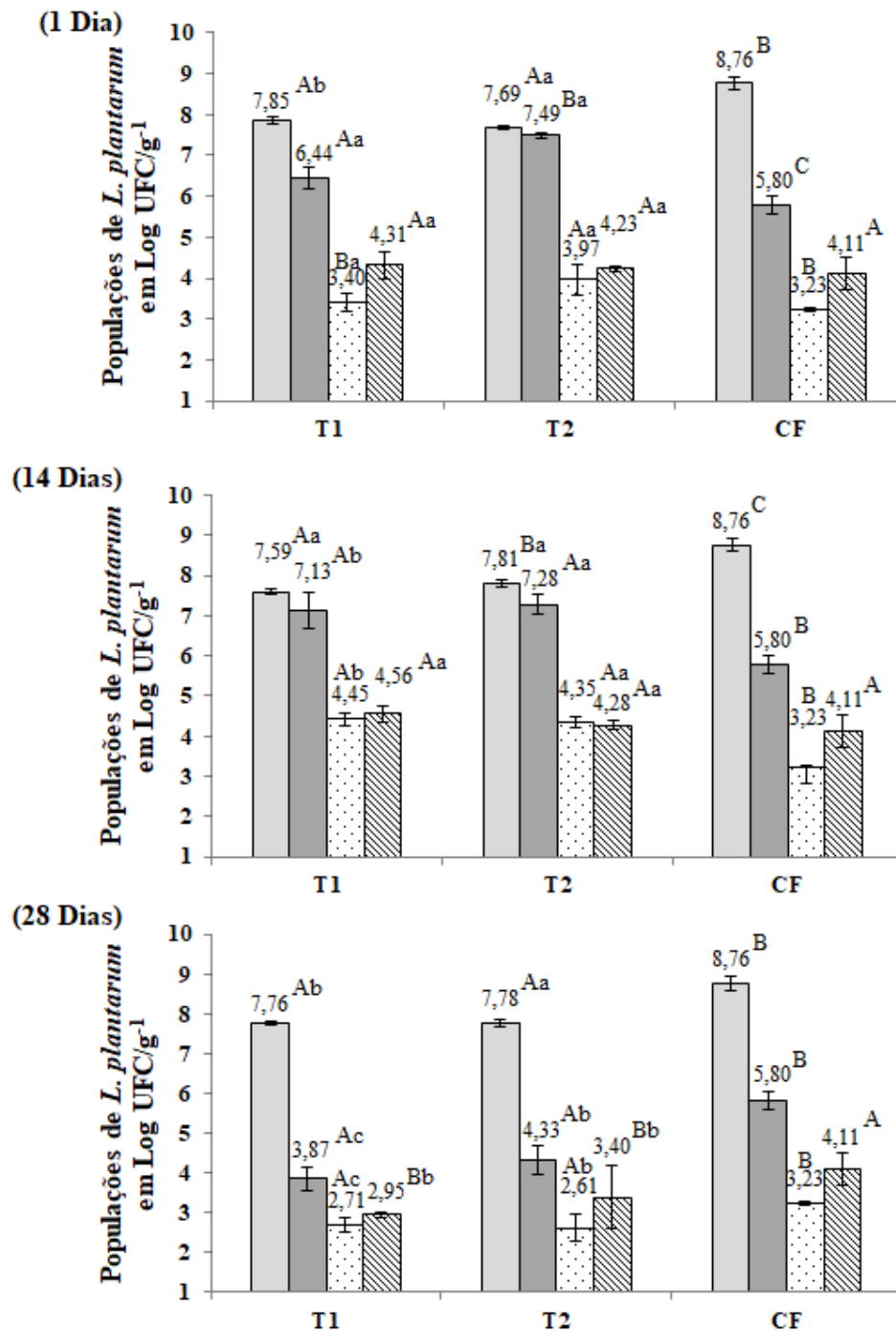
No presente trabalho, as populações da cepa *S. thermophilus* em ambos os queijos *Petit-Suisse* (Tabela 14) foram superiores às reportadas por Pereira et al. (2016a), que obtiveram valores de 5 e ($\geq 7,8$ a $\leq 8,3$) Log UFC.g⁻¹, respectivamente para as formulações 3 e (2, 3, 4 e 5), com 28 dias de armazenamento.

Entretanto, por não ter a capacidade de colonizar o intestino, *S. thermophilus* não é considerado um microrganismo probiótico, mas tem a capacidade de liberar lactase no intestino delgado, favorecendo a digestão desse açúcar (DROUAULT, ANBA; CORTIER, 2002; SANDERS, 2003).

5.3.5 Sobrevivência do Probiótico Frente as Condições Gastrintestinais Simuladas *in vitro*

As populações de *L. plantarum* CNPC 003 nos queijos *Petit-Suisse* caprinos (QPST1 e QPST2) e cultura fresca (CF) submetidos às condições gástricas, entéricas I e II simuladas *in vitro*, ao longo do armazenamento sob refrigeração com até 28 dias, são apresentados na Figuras 5 e Taxa de Sobrevivência (TS%) na Tabela 15. O controle do pH durante os teste de sobrevivência se encontra no Apêndice D.

Figura 5 - Sobrevivência das populações de *L. plantarum* CNPC 003 (média $\pm$ DP)¹ nos QPST1* e QPST2*, com 1, 14 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração e cultura fresca.



(□) Antes do ensaio de sobrevivência gastrointestinal *in vitro*; (■) Durante o ensaio, com simulação das condições gástrica, após 2 horas; (▨) Durante o ensaio, com simulação das condições entéricas I, após 4 horas; (▩) Durante o ensaio, com simulação das condições entéricas II após 6 horas de ensaio.

A,B - letras maiúsculas distintas indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre a cultura fresca (CF) e os queijos *Petit-Suisse* QPST1 e QPST2 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*.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de duas determinações, $n = 3$ (Média de 1 ensaio independente); (*) Vide Tabela 1 e 2 para a descrição dos queijos.

Fonte: Autor, (2017).

As populações do *L. plantarum* CNPC 003 no tempo “0” (T0 - populações iniciais de *L. plantarum* nos queijos *Petit-Suisse* e cultura fresca, antes do início do teste) foram estáveis durante todo o período de armazenamento para os QPST1 e QPST2, e semelhantes estatisticamente ($p > 0,05$) entre si, exceto para o 14º dia de armazenamento do QPST1, onde as populações apresentaram um declínio significativo ($p < 0,05$) (Figura 5). As populações da cultura fresca (CF) de *L. plantarum* mantiveram-se superiores a 8,5 Log UFC.g⁻¹, para essa mesma fase, antes do início do teste, e superiores significativamente ($p < 0,05$) a ambas as populações de *L. plantarum* para os QPST1 e QPST2.

Após a fase gástrica (após 2 horas de ensaio), foi observado um declínio na população de *L. plantarum* de um mínimo de 1,2 ciclos logarítmicos, em comparação com o T0 para o queijo QPST1, com incorporação de polpa de acerola, com um 1 dia de armazenamento refrigerado, diferindo significativamente ($p < 0,05$) das populações apresentadas para o QPST2 na mesma fase. O mesmo não foi observado para o QPST2, sem incorporação de polpa de acerola, no qual foi observado um pequeno declínio na população do *L. plantarum* de um mínimo de 0,21 ciclos logarítmico, como mostra a Figura 5.

Entretanto, foi observada uma ambientação do *L. plantarum*, adaptação à matriz do queijo *Petit-Suisse* contendo polpa de acerola (10%), após 14 dias de armazenamento em todas as fases do teste de simulação gastrointestinal *in vitro*. Após a simulação da fase gástrica, com 14 dias de armazenamento, os QPST1 e QPST2 não diferiram significativamente ($p > 0,05$) quanto às Taxas de Sobrevivência (TS%) das populações de *L. plantarum* que apresentaram percentuais respectivos de 93,98 e 93,23% de TS% para essa mesma fase (Tabela 15), mas ainda apresentando um declínio na população de *L. plantarum* de 0,45 e 0,53 ciclos logarítmicos, respectivamente para os QPST1 e QPST2, em comparação com o T0.

Tabela 15 - Taxa de sobrevivência (TS%) (Média $\pm$ DP)¹ das populações de *L. plantarum* CNPC 003, nos queijos *Petit-Suisse* e cultura fresca.

Queijos*	Tempo (dias)	Fase gástrica	Fase entérica I	Fase entérica II
QPST1	1	82,53 ^{B_a} $\pm$ 3,63	43,26 ^{C_a} $\pm$ 2,93	54,91 ^{A_a} $\pm$ 3,65
	14	93,98 ^{A_b} $\pm$ 5,22	58,70 ^{A_b} $\pm$ 1,91	60,05 ^{A_a} $\pm$ 2,03
	28	49,87 ^{D_c} $\pm$ 3,67	34,93 ^{D_c} $\pm$ 2,28	38,01 ^{C_b} $\pm$ 0,99
QPST2	1	97,16 ^{A_a} $\pm$ 1,83	51,58 ^{B_a} $\pm$ 4,86	55,03 ^{A_a} $\pm$ 0,93
	14	93,23 ^{A_a} $\pm$ 3,61	55,74 ^{AB_a} $\pm$ 2,04	54,79 ^{A_a} $\pm$ 1,69
	28	55,88 ^{D_b} $\pm$ 4,72	33,56 ^{D_b} $\pm$ 4,50	43,65 ^{BC_b} $\pm$ 9,90
CF	-	66,17 ^C $\pm$ 1,66	36,88 ^D $\pm$ 0,78	46,86 ^B $\pm$ 4,59

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de duas determinações, n = 3 (Média de 1 ensaio independente).

^{A,B,C,D} 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 e cultura fresca.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativa ($P < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

A fase gástrica foi a fase que observou-se as maiores TS% nas populações de *L. plantarum* em ambos os queijos *Petit-Suisse* durante todo o teste, mostrando que a cultura potencialmente probiótica apresenta maior resistência à acidez gástrica. Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo tem sido reportados por diversos autores, onde a capacidade de superar o baixo pH e as enzimas do suco gástrico tem sido mais associada a lactobacilos, que as bifidobactérias (DUNNE et al., 2001; LO CURTO et al., 2011).

Diferentemente ao observado para o 14º dia de armazenamento, no 28º dia de armazenamento para ambos os queijos *Petit-Suisse* caprinos foi observado um declínio superior nas populações de *L. plantarum* de um mínimo de 3,95 e 3,45 ciclos logarítmicos após simulação da fase gástrica, em comparação com o T0, mas não foi observada diferença significativamente ($p > 0,05$) nas populações dos QPST1 e QPST2 para essa mesma fase.

O tempo de armazenamento influenciou significativamente ($p < 0,05$) as populações de *L. plantarum* após a fase gástrica para ambos os queijos *Petit-Suisse* caprinos, no entanto o QPST1 apresentou diferença significativa para todos os tempos avaliados, enquanto o QPST2 apresentou diferença significativa apenas no 28º dia de armazenamento.

As populações de *L. plantarum* após a fase gástrica, para ambos os queijos *Petit-Suisse* caprinos (QPST1 e QPST2) foram sempre superiores às populações da CF, para todos os períodos de tempo avaliado (1, 14 e 28 dias de armazenamento). A CF foi a que apresentou as maiores reduções das populações de *L. plantarum* após a fase gástrica, com no mínimo de

3 ciclos logarítmico, como mostra a Figura 5, mostrando que ambos os queijos *Petit-Suisse* apresentaram efeito protetor sobre o probiótico para essa mesma fase.

Após a fase entérica I (após 4 horas de ensaio), foram observados os maiores declínios do teste de sobrevivência gastrointestinal *in vitro*, nas TS% das populações de *L. plantarum* nos QPST1, QPST2 e CF para todos os dias avaliados (Tabela 15), exceto para o QPST2, que com 14 dias de armazenamento apresentou TS% das populações de *L. plantarum* inferiores na fase entérica II (após 6 horas de ensaio). Após a exposição à bile e a pancreatina (fase entérica I) foi observado um declínio nas populações do *L. plantarum* de um mínimo de 2,5 ciclos logarítmicos, em comparação com o T0 (Figura 5), para ambos os queijos *Petit-Suisse*, com 1 e 14 dias de armazenamento. Um declínio superior foi observado nas populações do *L. plantarum* em comparação com o T0, para ambos os queijos *Petit-Suisse* com 28 dias de armazenamento, com declínio de um mínimo de 5 ciclos logarítmicos. Declínio superior aos queijos foi observado para a cultura fresca (fase entérica I), de um mínimo de 5,5 ciclos logarítmicos.

O mesmo comportamento observado na fase gástrica foi observado para a fase entérica I, onde o tempo de armazenamento influenciou significativamente ($p < 0,05$) nas populações de *L. plantarum* em ambos os queijos *Petit-Suisse* caprinos, onde o QPST1 apresentou diferença significativa para todos os tempos avaliados, enquanto o QPST2 apresentou diferença significativa apenas no 28º dias de armazenamento. Os queijos *Petit-Suisse* QPST1 e QPST2 diferiram significativamente ($p < 0,05$) nas populações de *L. plantarum* após a fase entérica I, com um dia de armazenamento, o mesmo não ocorreu para os tempos 14 e 28 dias.

Foi observado uma manutenção ou aumento das TS% das populações de *L. plantarum* em ambos os queijos *Petit-Suisse* caprinos, com até 14 dias de armazenamento, para a fase entérica I, onde os mesmos foram também significativamente superiores ($p < 0,05$) a TS% da população de *L. plantarum* da CF, para ambos os dias (1 e 14 dias), no entanto foi observado um declínio nas populações de *L. plantarum* dos queijos *Petit-Suisse* após 28 dias de armazenamento, diferindo significativamente das encontradas para o 1º e 14º dia de armazenamento refrigerado, mas apresentando-se significativamente semelhantes a TS% das populações de *L. plantarum* da CF.

Após a fase entérica II (após 6 horas de ensaio) as populações de *L. plantarum* nos QPST1 e QPST2 no 1º dia de prateleira, se “recuperaram”, com recuperação de até 1 e 0,27 ciclos logarítmico, respectivamente, com populações de até 4,31 e 4,23 Log UFC.g⁻¹ (Figura 5), correspondente a TS% de 54,91 e 55,03%, como mostra na Tabela 15. O QPST1 obteve a maior recuperação de população de *L. plantarum*.

No entanto, a restauração das populações nos queijos *Petit-Suisse* e CF após a fase entérica II (6 horas de ensaio) pode ter resultado de uma subestimação das populações da fase anterior, entérica I (4 horas de ensaio), devido a limitações na técnica de cultivo em ágar seletivo. Isto porque certos microrganismos 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 mais recentes, Padilha (2013) estudou o emprego de técnicas dependentes e independentes de cultivo na avaliação da sobrevivência dos probióticos no produto e em ensaios de sobrevivência *in vitro* em queijos *Petit-Suisse* sabor morango probiótico e simbiótico, e verificou que a utilização de técnicas moleculares, especialmente qPCR em conjunto com PMA (uma vez que a primeira não possui a capacidade de distinguir células vivas e mortas na quantificação) para a quantificação de microrganismos probióticos mostrou-se extremamente útil em omitir células mortas e em identificar células viáveis, porém não cultiváveis presentes nos queijos.

Foi observado que ambos os queijos (QPST1 e QPST2) apresentaram queda significativa ($p < 0,05$) na TS% com 28 dias de armazenamento para a fase entérica II, com TS% significativamente semelhante ($p > 0,05$) entre eles, para esse mesmo período de armazenamento (Tatela 15).

Adicionalmente, ambos os queijos *Petit-Suisse* aqui estudados apresentaram TS% significativamente ($p < 0,05$) superior a CF, para os tempos de armazenamento de 1 e 14 dias, com TS% de 54,91 a 60,05% e 55,03 a 54,79%, respectivamente, para os QPST1 e QPST2. Apenas o QPST2 apresentou TS% significativamente semelhante ($p > 0,05$) a CF com 28 dias de armazenamento, com TS% de 43,65 e 46,86%, respectivamente.

Foi observado que a incorporação de polpa de acerola (10%) na matriz do queijo *Petit-Suisse* T1 não afetou significativamente as populações de *L. plantarum* CNPC 003 frente ao estresse gastrointestinal simulado *in vitro*, por ter apresentado populações/TS% com até 28 dias de armazenamento estatisticamente ($p > 0,05$) semelhante ao tratamento controle, sem incorporação de polpa de acerola (QPST2).

Inversamente ao observado para o QPST1, com incorporação de polpa de acerola, do presente trabalho, Bedani et al. (2014) em estudo da investigação da influência da adição da polpa de frutas tropicais, manga e goiaba na viabilidade e resistência a condições gastrointestinais simuladas *in vitro* em iogurtes simbióticos de soja com okara (resíduos do

preparo do leite de soja - 5% de incorporação), observaram que a incorporação de polpas e sabores de frutas (manga e/ou goiaba, ambas com 12,5% de incorporação) diminuíram significativamente a resistência de *L. acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 ao estresse gastrointestinal simulado *in vitro*.

Padilha (2013) em seu estudo avaliando a sobrevivência dos probióticos no produto e em ensaios de sobrevivência *in vitro* em queijos *Petit-Suisse* sabor morango probiótico e simbiótico, encontrou resultados semelhante ao do presente trabalho ao final do ensaio (6h), observou uma sobrevivência média de 47,63% e 39,35% na população de *L. acidophilus* LA-5 para os queijos *Petit-Suisse* probiótico e simbiótico, respectivamente.

Padilha et al. (2016) estudando a resistência de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 ao estresse gastrointestinal *in vitro* em queijo *Petit-Suisse* concluíram que a adição de Inulina e fruto-oligossacarídeos (mistura prebiótica) em queijo *Petit-Suisse* foi vantajoso, melhorando a viabilidade e sobrevivência ao estresse gastrointestinal *in vitro* com até 28 dias de armazenamento, apresentando resultados acima de 7 Log UFC.g⁻¹ com 28 dias de armazenamento para queijo *Petit-Suisse* simbiótico, populações essas superiores as encontradas no presente estudo, entretanto, no mesmo estudo Padilha et al. (2016) também avaliaram queijo *Petit-Suisse* probiótico, que apresentou populações próximas as dos QPST1 e QPST2 aqui estudados, de 5 Log UFC.g⁻¹ com 28 dias de armazenamento.

5.4 Análises de Antioxidantes dos Ingredientes e dos Queijos *Petit-Suisse*

5.4.1 Quantificação de Compostos Bioativos nas Polpas de Acerola

5.4.1.1 Determinação de Ácido Ascórbico (Vitamina C) nas Polpas de Acerola

A Tabela 16 apresenta os valores médios de ácido ascórbico (mg.100 g⁻¹), carotenoides totais (µg.g⁻¹) e antocianinas totais (mg.100 g⁻¹) das polpas de acerola (*in natura* e pasteurizada), após o processamento (1º dia).

Tabela 16 - Efeito do tratamento térmico sob os compostos bioativos, vitamina C, carotenoides totais e antocianinas totais (média ± DP)¹ na polpa de acerola *in natura* e submetido ao tratamento térmico (pasteurização), após 1º dia de processamento.

Amostras	Propriedades antioxidantes		
	Compostos bioativos ²		
	Vitamina C (mg.100 g ⁻¹) ³	CT (µg.g ⁻¹) ⁴	AnT (mg.100 g ⁻¹) ⁵
PA-IN *	24566,91 ^A ± 174,41	160,04 ^A ± 2,53	81,13 ^A ± 15,07
PA-P **	19607,37 ^B ± 258,43	109,65 ^B ± 8,76	55,28 ^B ± 8,60

(**) Polpa de acerola *in natura*; (**) Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*); (1) Média ± Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 3 ensaios independentes); (2) Expressos em base seca para as polpas de acerola *in natura* e pasteurizada; (3) Ácido ascórbico (mg.100 g⁻¹); (4) Carotenoides totais expresso em µg.g⁻¹ (β-Caroteno); (5) Antocianinas totais, expresso em mg.100 g⁻¹ de amostra.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% (p < 0,05) entre os diferentes tratamentos da polpa de acerola.

Fonte: Autor, (2017).

As polpas de acerola (*in natura* e pasteurizada) aqui estudadas, apresentaram diferença estatística nos teores de vitamina C (p < 0,05) (Tabela 16) sendo que o tratamento térmico, (pasteurização) 90 °C por 3 minutos pelo sistema *Hot-Pack* alterou de forma antagônica os teores de vitamina C, que não tiveram estabilidade ao tratamento térmico.

A perda de vitamina C na polpa de acerola pasteurizada pode estar relacionada com o tratamento térmico (90 °C/3 minutos) pelo sistema de pasteurização *Hot-Pack*. Furtado et al. (2009) obtiveram resultados mais promissores em termos de vitamina C em polpa de acerola, também cultivada sob sistema orgânico, obtendo valores na polpa integral, antes e após a pasteurização de 1365,7 e 1310,8 mg ácido ascórbico/100 g, respectivamente, em base umida. Essa estabilidade da vitamina C ao tratamento térmico (pasteurização) pode estar relacionada com o sistema utilizado, visto que os autores supracitados utilizaram um pasteurizador de superfície raspada (94 °C por 30 segundos), mais eficiente, com uma troca de calor mais rápida. Os teores de vitamina C de ambas as polpas do presente trabalho foram superiores aos

encontrados por Furtado et al. (2009). Outros autores também relataram teores de vitamina C inferiores e superiores a ambas as polpas de acerola do presente trabalho. A comparação do teor de vitamina C obtido para as polpas de acerola do presente trabalho e as observadas na literatura se encontra na Tabela 17.

Tabela 17 - Comparação do teor de vitamina C (ácido ascórbico em mg.100 g⁻¹) observado na literatura e aos obtidos nas polpas *in natura* e pasteurizada utilizadas no queijo *Petit-Suisse*.

Polpa de acerola	Teores de vitamina C*	Comparação com as PA-IN ¹ e PA-P ² aqui estudadas ³	Autor
Polpa <i>in natura</i>	Teores de 1.437,78 mg.100 g ⁻¹	Inferior	Pimentel et al. (2001)
Polpa <i>in natura</i>	Teores de 1.066,66 a 1.845,79 mg.100 g ⁻¹	Inferior	Lima et al. (2002)
Polpa <i>in natura</i>	500,90 a 1.854,92 mg.100 g ⁻¹	Inferior	Moura et al. (2002)
Polpa <i>in natura</i>	Teores variando de 243,48 a 818,17 mg.100 g ⁻¹	Inferiores	Brunini et al. (2004)
Polpa integral, antes e após a pasteurização (oriundas de cultivo orgânico)	Teores de 1365,7 e 1.310,8 mg.100 g ⁻¹	Inferiores	Furtado et al. (2009)
Polpas de acerola <i>in natura</i> e após a pasteurização (oriundas de cultivo orgânico)	Teores de 1008,33 e 1.156,94 mg.100 g ⁻¹	Inferiores	Lima (2010)
Frutas imaturas com cor verde (BRS 366)	Teores de 2.534,06 mg.100 g ⁻¹	Superior	Sousa et al. (2014)

(*) Teores de vitamina C expressos em base úmida; ⁽¹⁾ Polpa de acerola *in natura*; ⁽²⁾ Polpa de acerola pasteurizada a 90 °C por 3 minutos (pasteurização *Hot-Pack*); ⁽³⁾ Teores de vitamina C (mg.100 g⁻¹) semelhantes e/ou diferentes (superiores e/ou inferiores) aos das PA-IN e PA-P aqui estudadas, apresentadas na Tabela 16, em teores convertidos para base úmida, de 1824,97 e 1721,03 mg.100 g⁻¹, respectivamente.

Fonte: Autor, (2017).

A Instrução normativa nº 01, de 7 de janeiro de 2000 (BRASIL, 2000b) e Brasil (2016), estabelecem as características e composição da polpa ou purê de acerola, preconizando teores mínimos de ácido ascórbico de 800,00 (mg/100 g), estando desse modo as polpas de acerola (Tabela 16) em consonância com a legislação vigente. Apresentando mais de 2,15 vezes o valor de vitamina C estabelecido como padrão, em teores convertidos para base úmida.

5.4.1.2 Determinação de Carotenoides Totais nas Polpas de Acerola

Foi observada uma variação significativa ($p < 0,05$) nos teores de Carotenoides Totais (β -caroteno) entre as polpas de acerola (PA-IN e PA-P). Os resultados explicitados na Tabela

16 mostram que após a aplicação do tratamento térmico, (pasteurização) 90 °C por 3 minutos pelo sistema *Hot-Pack*, o tratamento térmico mostrou-se desfavorável sobre a integridade dos teores de carotenoides (PA-P).

MAIA et al. (2007) estudando o efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola, diferentemente do presente trabalho, observaram estabilidade dos carotenoides, obtendo resultados significativamente semelhantes para o produto formulado/homogeneizado em comparação com o pasteurizado, apresentando respectivamente 0,51 e 0,59 mg.100 mL⁻¹.

De acordo com Rodriguez-Amaya (1999) a principal causa de destruição dos carotenoides é a oxidação (enzimática ou não-enzimática), que depende da presença de oxigênio, metais, enzimas, lipídios insaturados, pró-oxidantes, ou antioxidantes, exposição à luz, tipo e estado físico dos carotenoides presente no alimento, a severidade do tratamento, bem como o tempo e temperatura do tratamento térmico.

Além de algumas pró-vitaminas, os carotenoides são também, pigmentos responsáveis pela cor de muitas frutas, tais como a laranja, a goiaba e a melancia. Entretanto, na acerola, a coloração amarela conferida pelos carotenoides é mascarada pela presença de antocianinas vermelhas (AGOSTINI-COSTA; ABREU E ROSSETTI, 2003).

Lima (2010) estudando a cinética do comportamento de compostos bioativos de polpa de acerola proveniente de cultivo orgânico, também observou resultados semelhante ao do presente trabalho, onde observaram que as polpas pasteurizadas apresentaram conteúdo inferior aos das polpas não-pasteurizadas para Carotenoides Totais, de respectivamente 1,37 e 1,53 mg. 100 g⁻¹ - (13,7 e 15,3 µg.g⁻¹) para o tempo de armazenamento “0”. Os resultados obtidos por Lima (2010) foram superiores aos obtidos para a PA-P, mas similar a PA-IN aqui estudadas (Tabela 16), em teores convertidos para base úmida.

Agostini-Costa; Abreu e Rossetti (2003), estudando a cinética do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenoides, obtiveram 7,1 µg.g⁻¹ de β-caroteno em polpa de acerola recém-processada não congelada (controle), teores esses inferiores aos obtidos para a polpa de acerola “*in natura*” do presente trabalho, mas análogos ao obtido para a polpa pasteurizada.

Silva et al. (2013) também, estudando o efeito do congelamento de polpas de acerola sobre a integridade dos carotenoides, obteram teores entre 23,49 a 32,3 mg.100 mL, teores esses muito superiores a ambas as polpas de acerola aqui estudada (Tabela 16), em teores convertidos para base úmida.

5.4.1.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT) nas Polpas de Acerola

Os teores de antocianinas totais (AnT) nas polpas de acerola apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) após a aplicação do tratamento térmico, (pasteurização) 90 °C por 3 minutos pelo sistema *Hot-Pack*. A variação do conteúdo de antocianinas na PA-P deve-se à grande instabilidade deste componente. A diminuição da cor também se deve à perda de pigmentos instáveis durante o processamento, como é o caso das antocianinas. Brouillard (1982) afirma que as antocianinas podem ser destruídas através da presença de oxigênio, alterações de temperatura, pH do meio, teor de vitamina C, entre outros fatores.

A cor vermelha da acerola é decorrente da presença de antocianinas, e segundo Silva (1998), as principais antocianinas presentes nestes frutos são a malvidina, pelargonidina e cianidina.

A antocianinas apresentam-se, na maior parte das vezes, glicosadas com açúcares que auxiliam na estabilização da molécula (FRANCIS, 1989). Segundo Adams e Ongley (1973), o aquecimento de antocianinas em pH de 2,0 a 4,0, provoca inicialmente a hidrólise da ligação glicosídica das antocianinas, que é o principal efeito de perda de cor do pigmento.

Souza et al. (2014), trabalhando com três diferentes genótipos de acerola (Flor Branca, Florida Sweet and BRS 366), encontraram resultados de antocianinas totais entre 2,29 a 6,34, 2,55 a 12,37 e 2,41 a 5,07 mg.100 g⁻¹, respectivamente para as variedades supracitadas, valores esses semelhantes aos encontrado para as polpas de acerola do presente estudo, que apresentaram 6,43 e 4,73 mg.100 g⁻¹, respectivamente para as PA-IN e PA-P, em teores convertidos para base úmida, de acordo com a Tabela 16.

Lima (2010) em seu estudo com polpa de acerola proveniente de cultivo orgânico, encontrou resultados de antocianinas totais de 13,93 e 10,39 mg.100 g⁻¹, respectivamente para a polpa não-pasteurizada e pasteurizada, para o tempo de armazenamento “0”, valores esses superiores as polpas de acerola do presente estudo,

Lima et al. (2003), em seu estudo da avaliação do teor de antocianinas em polpa de acerola congelada proveniente de frutos de 12 diferentes aceroleiras (*Malpighia emarginata* D.C.) armazenadas por 6 meses sob congelamento (-18°C), obtiveram teores de antocianinas totais superiores aos resultados das polpas de acerola do presente trabalho, em base úmida (resultados expressos em base úmida, de 6,43 e 4,73 mg.100g⁻¹, respectivamente para as PA-IN e PA-P) de 18,88 a 59,74 mg.100g⁻¹, para os acessos (4 a 14), mas também os autores obtiveram teores de antocianinas totais análogos a PA-IN do presente trabalho, de 9,51 a 8,80

mg.100 g⁻¹, acessos (15 e 3), e ainda obtiveram teor de antocianinas totais análogo a PA-P do presente trabalho, com teor de 3,79 mg.100g⁻¹, acesso 2.

Os resultados aqui discutidos mostram que as antocianinas totais podem apresentar grandes variações do seu conteúdo em polpas de acerola, sendo dependentes das regiões de cultivo, solo, clima e acessos.

5.4.2 Quantificação de Compostos Bioativos, nos Queijos Petit-Suisse

5.4.2.1 Determinação de Ácido Ascórbico nos Queijos Petit-Suisse por Método Titulométrico e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Tabela 18 apresenta os valores médios de ácido ascórbico (mg.100 g⁻¹) nos queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2), quantificado pelo método titulométrico de Tillmans e também por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C).

Tabela 18 - Efeito da incorporação de polpa de acerola no queijo *Petit-Suisse* e estabilidade dos compostos bioativos, vitamina C, carotenoides, antocianinas totais e polifenóis totais (média $\pm$ DP)¹, no produto final e com até 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração (4 °C $\pm$ 2 °C).

Queijos*	Período em (dias)	Propriedades antioxidantes				
		Compostos bioativos				
		Vitamina C / Tillmas ^{2#}	Vitamina C / CLAE ^{2**}	CT ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ^{3*}	AnT ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) ^{4*}	PET ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$) ^{5**}
QPST1	1	146,90 ^A _a $\pm$ 24,70	184,58 ^a _{\$} $\pm$ 1,77	1,75 ^A _a $\pm$ 0,37	0,34 ^A _a $\pm$ 0,18	255,08 ^A _a $\pm$ 2,57
	7	150,67 ^A _a $\pm$ 21,38	-	-	-	-
	14	144,05 ^A _a $\pm$ 21,65	-	1,38 ^A _b $\pm$ 0,23	0,36 ^A _a $\pm$ 0,16	189,78 ^A _b $\pm$ 4,46
	21	134,55 ^A _a $\pm$ 26,37	-	-	-	-
	28	132,09 ^A _a $\pm$ 24,63	163,62 ^b _{\$} $\pm$ 9,34	1,43 ^A _b $\pm$ 0,19	0,36 ^A _a $\pm$ 0,18	187,09 ^A _b $\pm$ 5,76
QPST2	1	5,92 ^B _b $\pm$ 1,93	--	0,40 ^B _a $\pm$ 0,13	0,07 ^B _a $\pm$ 0,02	18,00 ^B _a $\pm$ 1,11
	7	5,85 ^B _b $\pm$ 1,93	--	-	-	-
	14	7,22 ^B _b $\pm$ 1,65	--	0,37 ^B _a $\pm$ 0,11	0,06 ^B _a $\pm$ 0,01	17,99 ^B _a $\pm$ 0,16
	21	7,01 ^B _b $\pm$ 1,72	--	-	-	-
	28	7,13 ^B _b $\pm$ 1,20	--	0,43 ^B _a $\pm$ 0,09	0,05 ^B _a $\pm$ 0,01	18,58 ^B _a $\pm$ 1,47

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações, ([#]) Média de 3 ensaios independentes; (*) Média de 2 ensaios independentes; (**) Média de 1 ensaio independente; (²) Ácido ascórbico ($\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$); (³) Carotenoides expresso em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (β -Caroteno); (⁴) Teor de antocianinas totais, expresso em $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de amostra; (⁵) Polifenóis extraíveis totais, expressos em $\text{mg}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de queijo, equivalente a Ácido Gálico.

(-) = sem realização nesse período; (-) = sem realização nesse tratamento.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes tratamentos de queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

_{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo tratamento de queijo *Petit-Suisse*.

_{\$} Subscritas não indicam diferença significativa ($p > 0,05$) entre a determinação de vitamina C por Tillmas e a vitamina C por CLAE para os queijos *Petit-Suisse*, para todos os períodos de armazenamento.

[#] Sobrescritas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre a determinação de vitamina C por Tillmas e a vitamina C por CLAE para os queijos *Petit-Suisse*, para todos os períodos de armazenamento.

Fonte: Autor, (2017).

Para o QPST1 os valores de ácido ascórbico (mg.100 g^{-1}) quantificado pelo método titulométrico de Tillmans não apresentou variação significativa ($p > 0,05$) durante o armazenamento. O mesmo comportamento foi observado para os valores de ácido ascórbico para o QPST2, que também apresentaram-se estatisticamente estáveis ($p > 0,05$) durante todo o período de avaliação (28 dias) (Tabela 18). Os teores de vitamina C quantificados no QPST2 são atribuídos à principal matéria prima de produção, o leite caprino, visto que não foi adicionado polpa de acerola nesse tratamento e que a matéria-prima de produção, o leite, apresentou vitamina C (Vide Tabela 4).

Os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$) para os valores de ácido ascórbico (mg.100 g^{-1}), em todos os intervalos de tempo avaliado (1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento).

A CLAE apresentou valores médios de ácido ascórbico (mg.100 g^{-1}) estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) no QPST1 entre o 1º e 28º dia de armazenamento refrigerado (Tabela 18).

Os valores médios de vitamina C (mg.100 g^{-1}) no queijo QPST1 quantificado pelo método titulométrico de Tillmans foram menores que os teores quantificados pela CLAE, apresentando diferença significativa entre si ($p < 0,05$), com até 28º dias de armazenamento (Tabela 18), exceto para o teor de vitamina C quantificado por Tillmans com 7 dias de armazenamento que foi significativamente semelhante ($p > 0,05$) ao 1º e 28º dias dos teores quantificados pela CLAE, como pode ser visto na Tabela 18. Essa diferença significativa entre as determinação de vitamina C pode ser explicada pela complexibilidade da matriz alimentar, onde a polpa de acerola foi incorporada, podendo interferir no método titulométrico de Tillmans. Já a análise por CLAE pode quantificar os teores de ácido ascórbico com maior precisão por fazer exclusão de vários compostos interferentes.

Os teores de vitamina C quantificados por CLAE (Tabela 18) no queijo *Petit-Suisse* T1, com incorporação de polpa de acerola 10% (QPST1) apresentaram correlação entre as concentrações de vitamina C obtidas para a polpa de acerola pasteurizada (PA-P) em base úmida (Vide Tabela 16 e 17) durante todo o período de estocagem, levando em consideração a proporção de 10% de incorporação de polpa de acerola (10% dos valores encontrados para a polpa de acerola). O QPST1 exibiu 10,72 e 9,50% do valor de vitamina C encontrado na PA-P, respectivamente com 1 e 28 dias de estocagem, mantendo assim a estabilidade da vitamina C.

De acordo com o Institute of Medicine, (IOM, 2000), IDR é o termo geral para um conjunto de valores de referência usados para planejar e avaliar a ingestão de nutrientes de

peessoas saudáveis. Estes valores variam de acordo com idade e sexo. O consumo dietético recomendado para vitamina C é definido com base nas suas funções fisiológicas e antioxidantes conhecidas nas células brancas do sangue e são muito mais elevadas do que a quantidade necessária para a proteção contra a deficiência (JACOB; SOTOUDEH, 2002; IM, 2000).

O regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005) e (FAO/OMS, 2001) estabelecem a IDR de vitamina C, para adultos, gestantes, lactantes e de crianças de 45, 55, 70 e (30 a 35) mg/dia, respectivamente. De acordo com a Resolução - RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003), 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. A recomendação da porção recomendada/mecanizada pela legislação (Brasil, 2003) é de 50 g para o queijo *Petit-Suisse*, o que corresponde a duas colheres de sopa do produto.

O QPST1, adicionado de polpa de acerola, apresenta cerca de (1,47, 1,20, 0,94 e 1,99 - quantificado por Tillmas) e (1,81, 1,48, 1,17 e 2,34 - quantificado por CLAE) vezes a IDR de vitamina C por dia, como recomendado por Brasil (2005) e FAO/OMS (2001), respectivamente para adultos, gestantes, lactantes e de crianças, na porção de 50 g do queijo *Petit-Suisse* com até 28 dias de prateleira, ou seja, suprimindo a necessidade diária de vitamina C, de acordo com a Tabela 18.

Ainda, de acordo com a Resolução - RDC Nº 54, de 12 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012), que dispõe sobre o regulamento técnico de informação nutricional complementar, o queijo *Petit-Suisse* adicionado de polpa de acerola (tratamento QPST1) pode ser declarado como um alimento que contém alto conteúdo de vitamina C (Tabela 18), pois o QPST1 supre 100% das necessidades diárias de vitamina C para adultos, gestantes, lactantes e de crianças na porção do produto, enquanto a legislação supracitada estabelece que, para que o produto leve a alegação de alto conteúdo de “vitaminas e minerais”, o produto deve conter no mínimo de 30% da IDR.

Concomitantemente, o Guidance for Industry (2013) estabelece valores diários de referência para adultos e crianças com quatro ou mais anos de idade, recomendando 60 mg de vitamina C por dia. O queijo *Petit-Suisse* adicionado de polpa de acerola (QPST1), atende também à recomendação internacional na porção de consumo (50 g), para ambas as determinações de vitamina C (Tabela 18).

O Electronic Code of Federal Regulations (2016) também estabelece valores diários de referência para vitamina C para (adultos e crianças ≥ 4 anos), bebês de 1 a 12 meses, crianças de 1 a 3 anos e (mulheres grávidas e lactantes), preconizando o consumo diário de 90, 50, 15 e 120 mg, respectivamente. O QPST1 supre a recomendação internacional para bebês de 1 a 12 meses (fase de aleitamento materno) e crianças de 1 a 3 anos, na porção do produto (50 g) para ambas as determinações de vitamina C, já para as demais, (adultos e crianças ≥ 4 anos) e (mulheres grávidas e lactantes) o QPST1 supre a recomendação em ambas as determinações (Tillmas e CLAE), apenas considerando-se o consumo de duas porções do produto (100 g), entretanto geralmente os demais grupos citados dificilmente consomem apenas uma porção do produto por dia.

IOM (2000) sugere o consumo dietético recomendado para vitamina C de 90, 75, 85 e 120 mg por dia para homens, mulheres, mulheres grávidas e mulheres em fase de lactação, respectivamente, todos com 19 anos ou mais. O QPST1 supre a recomendação internacional apenas para mulheres (com 19 anos ou mais), na porção do produto (50 g), se considerarmos o método de quantificação de vitamina C por CLAE, sendo também necessário para os demais grupos citados, para suprir a recomendação, o consumo de duas porções de queijo *Petit-Suisse* T1 (100 g), para ambas as determinações de vitamina C (Tabela 18).

O consumo descontrolado de vitamina C pode causar diarreia, náuseas, cólicas abdominais, e outros distúrbios gastrointestinais, devido ao efeito osmótico da vitamina C não absorvida no trato gastrointestinal (JACOB; SOTOUEH, 2002; IOM, 2000). Apesar disso, a vitamina C é considerada como uma substância de baixa toxicidade e não se acredita que possa causar efeitos antagônicos graves, em decorrência do seu consumo elevado (IOM, 2000).

Em consequência do consumo exagerado, a Food and Nutrition Board, IOM, (2000) estabeleceu o níveis de ingestão superior tolerável para vitamina C, onde sugere como ingestão tolerável de 1800 e 2.000 mg, respectivamente, para homens, mulheres, mulheres grávidas e mulheres em fase de lactação, com respectivamente 14-18 anos e 19 anos ou mais.

5.4.2.2 Determinação de Carotenoides Totais

A Tabela 18 apresenta os valores médios de carotenoides totais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C).

O QPST1 apresentou redução significativa ($p < 0,05$) nos teores de carotenoides totais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) após o 1º dia de armazenamento. Mas, aparte do 14º dia de prateleira os seus valores se mantiveram estáveis ($p > 0,05$).

Os valores de carotenoides totais para o QPST2 apresentaram-se estáveis ($p > 0,05$) durante todo o período de avaliação (28 dias) (Tabela 18). Os teores de carotenoides totais quantificados no QPST2 são provavelmente provenientes da principal matéria prima de produção, o leite caprino.

Os queijos QPST1 e QPST2 apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$) para os teores de carotenoides totais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), durante todo o período de armazenamento avaliado (1, 14 e 28 dias de armazenamento).

A oxidação é a maior causa de perda de carotenoides, e depende do carotenoide envolvido. A oxidação é estimulada pela luz, calor, metais, enzimas, e peróxidos, e é inibida pelos antioxidantes tais como tocoferóis e ácido ascórbico (SÁNCHEZ-MORENO et al., 2003). Estudos têm relatado hipóteses sobre possível efeito protetor dos carotenoides em relação à perda de ácido ascórbico, mas Sánchez-Moreno et al., (2003), observaram que em sucos de laranja, o ácido ascórbico exerce um efeito protetor em relação aos carotenoides.

Apesar de no processamento do queijo *Petit-Suisse* ter sido utilizada a polpa de acerola após adequado tratamento térmico, e este ter influenciado negativamente nos seus teores de carotenoides totais, conforme pode ser visto na Tabela 16, a comunidade científica tem sugerido que o tratamento térmico de alimentos que contenham carotenoides, aumentam a sua absorção, biodisponibilidade.

O processamento e cozimento do alimento podem melhorar a liberação dos carotenoides a partir dos tecidos, aumentando sua absorção. As micelas contendo carotenóides são incorporadas nos quilomicrons e distribuídas pelo sistema linfático. Eles são então incorporados a lipoproteínas no fígado e distribuídos pela corrente sanguínea, podendo ser utilizados ou ainda estocados, principalmente no tecido adiposo (RAO e RAO, 2007).

De acordo com o Institute of Medicine (2001) o processamento de alimentos afeta muito a absorção de carotenoides (VAN HET HOF et al., 1998). A absorção de caroteno em cenouras fatiadas foi de 24%, enquanto a absorção de caroteno das cenouras homogeneizadas foi de 56% (HUME e KREBS, 1949). Rock et al. (1998) relataram que o aumento da concentração sérica de β -caroteno foi significativamente maior em indivíduos que consumiam cenouras cozidas e espinafres, em comparação com aqueles que consomem uma quantidade igual de cenouras cruas e espinafres. Da mesma forma, o aumento da concentração sérica de

β -caroteno foi maior após o consumo de suco de cenoura do que após a mesma quantidade de cenouras cruas (TORRONEN et al., 1996).

Ainda, de acordo com o IOM (2001), a vitamina A dietética é digerida em micelas misturadas e absorvida com gordura. Em alguns estudos, verificou-se que o aumento do nível de gordura em uma dieta com baixo teor de gordura melhora a absorção de retinol e caroteno (REDDY e SRIKANTIA, 1966) e nutrição de vitamina A (JALAL et al., 1998; ROELS et al., 1963). Para uma absorção ótima de carotenoides, vários grupos de pesquisa demonstraram que a gordura dietética deve ser consumida juntamente com os carotenoides. Roels et al. (1958) relataram que a adição de 18 g/dia de azeite melhorou a absorção de caroteno de 5 a 25%. Jayarajan et al. (1980) relataram que a adição de 5 g de gordura à dieta melhorou significativamente a concentração de vitamina A no soro.

Além disso, o Institute of Medicine (2001) menciona que a matriz de alimentos afeta a capacidade dos carotenoides de serem liberados dos alimentos e, portanto, afetando a absorção intestinal. O aumento da concentração sérica de β -caroteno foi significativamente menor quando os indivíduos consumiram β -caroteno de cenouras do que quando receberam uma quantidade similar de suplemento de β -caroteno (MICOZZI et al., 1992; TANG et al., 2000; TORRONEN et al., 1996). Esta observação foi semelhante para brócolis (MICOZZI et al., 1992) e vegetais de folhas verdes misturadas (DE PEE et al., 1995; TANG et al., 2000) em comparação com um suplemento de β -caroteno.

A parte das informações supracitadas, pode-se inferir que além de o processamento utilizado na polpa de acerola incorporada na matriz do QPST1 ser um ponto positivo, pois aumenta a disponibilidade da absorção dos carotenoides, o queijo *Petit-Suisse* possui características que o tornam uma matriz adequada para carrear os carotenoides, até que esses sejam liberados do alimento, até a absorção intestinal, pelo seu alto teor de gordura, que de acordo com os autores supracitados, a gordura favorece a absorção “ótima” de carotenoides e para exercer essa função adequadamente a gordura deve está homogeneizada com os carotenoides, para favorecer sua absorção, como no caso do queijo *Petit-Suisse* T1, que possui em média 6,78% de gordura.

O regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais, Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005) e (FAO/OMS, 2001) estabelecem a IDR de vitamina A, para adultos, gestantes, lactantes e de crianças com 1 - 3 anos, 4 - 6 anos e 7 - 10 anos, de 600, 800, 850, (400 450 e 500) μ g RE / dia (retinol - vitamina A), respectivamente. A recomendação da porção sugerida por Brasil

(2003) para o queijo *Petit-Suisse* é de 50 g, o que corresponde a duas colheres de sopa do produto.

O QPST1, com incorporação de polpa de acerola, apresentou cerca de 14,61, 11,52 e 11,94 µg RE na porção de 50 g do queijo *Petit-Suisse*, respectivamente com 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado (Tabela 18), ou seja, o QPST1 não supre a IDR de Vitamina A supracitada, como recomendado por Brasil (2005) e FAO/OMS (2001), respectivamente para adultos, gestantes, lactantes e de crianças com 1 - 3 anos, 4 - 6 anos e 7 -10 anos, sendo portanto necessário complementar a dieta com a ingestão de outros alimentos fonte de vitamina A (β-Caroteno).

Para o QPST2, controle, sem incorporação de polpa de acerola já se esperava que não suprisse a IDR de vitamina A, pois apresentou cerca de 3,34, 3,09 e 3,59 µg RE na porção de 50 g do queijo *Petit-Suisse*, com 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado, respectivamente.

Entretanto, há algum tempo, supunha-se que 1/6 do β-caroteno ingerido na dieta de um ser humano saudável seria convertido a vitamina A no organismo, ou seja, 6 µg de β-caroteno teria a mesma atividade de vitamina A que 1 µg de retinol. Para outros carotenoides pró-vitamínicos essa taxa seria de 1/12. Porém, as novas recomendações do Institute of Medicine sugerem que os atuais fatores de conversão da vitamina A são atividade equivalente de retinol, do inglês, Retinol Activity Equivalent (RAE), onde 1 µg RAE é igual a 1 RE de retinol (vitamina A), ou 2 µg de β-caroteno em óleo, ou 12 µg de β-caroteno em mistura de alimentos, ou ainda, 24 µg de outros carotenoides precursores de vitamina A em mistura de alimentos (IOM, 2001).

Além disso, as taxas de conversão de carotenóides em vitamina A dependem de uma série de fatores, como atividade da tireóide, presença de estresse, a presença tanto alta como baixa de determinados componentes da dieta como nitratos, proteínas e lipídeos, e especialmente a concentração de carotenoides presente no alimento (SILVEIRA; MORENO, 1998; FRASER; BRAMLEY, 2004).

5.4.2.3 Teor de Antocianinas Totais (AnT)

A Tabela 18 apresenta os valores médios de antocianinas totais (AnT) (mg.100 g⁻¹). O QPST1 apresentou manutenção dos seus teores de AnT, não apresentando diferença significativa entre os tempos de armazenamento estudado ($p > 0,05$). O mesmo

comportamento foi observado para o QPST2 durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C) (Tabela 18).

Os queijos QPST1 e QPST2 apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$) para os teores de AnT ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), durante todo o período de armazenamento avaliado (1, 14 e 28 dias de armazenamento).

A presença do pigmento antocianina quantificado também no QPST2, controle, sem incorporação de polpa de acerola, não era esperado, apesar que os teores quantificados, serem irrisórios, de pouca ou nenhuma relevância. Talvez pode se relacionar esses teores de AnT no queijo controle, aos carotenoides, que estão presente no queijo, atribuídos à matéria prima, o leite caprino, e que esses por ventura podem ter interferido na análise.

Os teores de AnT no queijo *Petit-Suisse* T1 não foram muito altos (Tabela 18), devido a baixa adição (concentração) de polpa incorporada a formulação do queijo, e pelo pigmento ser sensível ao detrimento causada pelo tratamento térmico, como mostra a Tabela 16.

Entretanto, o QPST1 é um produto saudável, sem adição de substâncias conservantes, sendo considerado um produto potencialmente probiótico pela legislação internacional e antioxidante pela legislação internacional e nacional, suprimindo a ingestão diária recomendada de vitamina C na porção do produto.

5.4.2.4 Polifenóis Extraíveis Totais (PET)

A Tabela 18 apresenta os valores médios de Polifenóis Extraíveis Totais (PET) ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) nos queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C).

No QPST1, com polpa de acerola os valores de polifenóis extraíveis totais apresentaram variação significativa ($p < 0,05$) durante o armazenamento, com redução dos seus teores após o 1º dia de estocagem, mas não apresentou variação significativa ($p > 0,05$) entre os demais dias de estocagem (Tabela 18), mantendo sua estabilidade. Foi possível quantificar polifenóis no QPST2 em baixas concentrações e esses apresentaram-se estatisticamente estáveis ($p > 0,05$) durante todo o período de avaliação (28 dias).

Os queijos *Petit-Suisse* (QPST1 e QPST2) apresentaram diferença significativa entre si ($p < 0,05$) para os valores de polifenóis extraíveis totais, para todos os intervalos de tempo avaliado (1, 14, e 28 dias de armazenamento), resultado esse que já era esperado, em consequência da incorporação de polpa de acerola no QPST1 (Tabela 18), pois a acerola

possui alto teor de polifenóis. De acordo com Souza et al. (2014) a acerola apresenta teores de polifenóis entre 1561,67 a 4338,89 mg.100 g⁻¹.

Valores bem expressivos de polifenóis foram encontrado no QPST1, de 255,08 e 187,09 mg.100 g⁻¹ para os dias 1 e 28 de estocagem sob armazenamento refrigerado. Esses valores foram superiores aos encontrados por Santos et al. (2016), que trabalharam com o desenvolvimento de um leite fermentado probiótico sabor uva (com adição de 17% a 15% de incorporação de suco de uva integral) com adição de extrato de bagaço de uva (2%) e o estudo do seu efeito sobre o conteúdo fenólico, viabilidade probiótica e aceitabilidade sensorial, onde verificou que houve um aumento significativo nos teores de polifenóis para as formulações que continham 2% de adição de extrato de bagaço de uva, em substituição ao suco de uva integral, obtendo valor médio $\leq$ a 27 mg.100 g⁻¹ de polifenóis (equivalente a ácido gálico) para os tratamentos com 17% de incorporação de suco de uva integral e valor médio $\leq$ a 45 mg.100 g⁻¹ de polifenóis para os tratamentos com 15% de incorporação de suco de uva integral + adição de 2% de extrato de bagaço de uva. De acordo com Abe et al. (2007), as uvas são consideradas uma das maiores fontes de compostos fenólicos quando comparadas a outras frutas e vegetais. Dessa maneira o QPST1 pode ser considerado um queijo com alto teor de compostos fenólicos.

Concomitantemente, de acordo com Pineda-Vadillo et al. (2016), os produtos lácteos são excelentes alimentos para serem fortificados com antioxidantes, possuindo propriedades nutricionais naturais excelentes.

Saito (2014), em estudo do efeito da incorporação de corante natural a partir de extrato de casca de jabuticaba nas características físico-químicas e sensoriais de queijo *Petit-Suisse* simbiótico, obteve valores de polifenóis totais inferiores ao QPST1 do presente trabalho, durante todo o período de estocagem, para todos os tratamentos avaliados: com 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0% (B, C, D e E) de incorporação de extrato de casca de Jabuticaba no queijo *Petit-Suisse* e controle, sem adição de extrato de casca de Jabuticaba - 0% (A), obtendo valores entre 0,27 a 0,36 mg.g⁻¹ equivalente a ácido gálico (27 a 36 mg.100 g⁻¹), para os tratamentos B, C, D e E durante 28 dias de estocagem, porém o autor não observou redução nos teores de polifenóis com até 28º dias de estocagem. Entretanto Saito (2014) obteve resultados semelhante ao QPST2 do presente trabalho para polifenóis totais, entre 0,20 a 0,23 mg.g⁻¹ (20 a 23 mg.100 g⁻¹) para o queijo *Petit-Suisse* controle, sem adição de extrato de casca de Jabuticaba - 0% durante 28 dias de estocagem.

5.4.3 Determinação da Capacidade Antioxidante *in vitro* nos Queijos Petit-Suisse

5.4.3.1 Capacidade Antioxidante Total (TEAC) pelo Método ABTS^{•+}

Os resultados da análise de atividade antioxidante total, pelo método da captura do radical ABTS (TEAC) equivalente ao Trolox ($\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$) no QPST1 durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C) se encontram na Tabela 19. Ao fim do armazenamento, o QPST1 apresentou redução significativa ($p < 0,05$) para os valores de TEAC.

Tabela 19 - Efeito da incorporação de polpa de acerola no queijo *Petit-Suisse*: estabilidade da capacidade antioxidante *in vitro* pelos métodos ABTS^{•+} (TEAC) e DPPH[•] (AAT) (média $\pm$ DP)¹, no produto final e com até 28 dias de armazenamento a temperatura de refrigeração (4 °C $\pm$ 2 °C).

Queijos*	Período em (dias)	Capacidade antioxidante <i>in vitro</i> ²	
		TEAC ($\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$) ³	AAT (EC ₅₀ em g.g ⁻¹ DPPH [•]) ⁴
QPST1	1	7,91 _a $\pm$ 0,27	6559,46 _a $\pm$ 10,21
	14	7,67 _a $\pm$ 0,09	6331,74 _a $\pm$ 44,78
	28	7,11 _b $\pm$ 0,02	7724,72 _b $\pm$ 124,44
QPST2	1	Nd	Nd
	14	Nd	Nd
	28	Nd	Nd

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de três determinações (Média de 1 ensaio independente);

(²) Expressos em base úmida; (³) TEAC (Capacidade Antioxidante Total, equivalente ao Trolox) pelo método ABTS^{•+}, expresso em μM de Trolox.g⁻¹ de queijo; (⁴) AAT (Atividade Antioxidante Total de frutas), utilizando o radical livre DPPH[•], expresso em EC₅₀ (quantidade em g de queijo, necessária para reduzir em 50% do radical presente na solução de DPPH) em g de queijo.g⁻¹ DPPH[•].

_{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo tratamento de queijo *Petit-Suisse*.

(Nd) = Não detectado.

Fonte: Autor, (2017).

Giroux et al. (2013), desenvolvendo e caracterizando queijo tipo Cheddar enriquecido com extrato de chá verde (preparadas a partir de infusões de chás liofilizadas e incorporadas ao leite em concentrações de 0,1 e 2 g.kg⁻¹ de leite antes da pasteurização - 65 °C por 30 minutos), obtiveram valores de TEAC de 25 e 27 $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ respectivamente para as formulações com as concentrações de 0,1 e 2 g.kg⁻¹ de extratos de chá verde, e foi observado uma redução nos valores de TEAC no queijo Cheddar com incorporação de 0,1 g.kg⁻¹. Entretanto, ao avaliar o queijo Cheddar sem incorporação de ingredientes antioxidantes, esse apresentou valores bem próximos aos queijos Cheddar incorporados de extrato de chá verde, com valor médio de TEAC de 20 $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$, o que sugere que o extrato de chá verde não

teve muita influência sobre a capacidade antioxidante *in vitro*, diferentemente da polpa de acerola no QPST1 do presente trabalho, como mostra a Tabela 19.

Saito (2014), obteve valores superiores ao QPST1 do presente trabalho para TEAC, para os tratamentos com 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0% (B, C, D e E) de incorporação de extrato de casca de Jabuticaba no queijo *Petit-Suisse*, com valores médios variando de 8,60 a 18,60 $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$, como no presente trabalho o autor também observou redução nos teores de TEAC com até 28º dias de estocagem dos queijos, sendo a formulação E com maior incorporação de extrato de casca de Jabuticaba, que apresentou os maiores valores de TEAC. Ainda, o autor conseguiu determinar atividade antioxidante *in vitro* (TEAC) no queijo *Petit-Suisse* controle, sem adição de extrato de casca de Jabuticaba (0%) com valores médios variando de 3,40 $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ para o 1º dia de estocagem e 0,47 $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ para o 28º dia de estocagem.

De acordo com estudo de Silva et al. (2012), que investigaram a atividade antioxidante em queijos tipo Coalho artesanais brasileiros de cidades do Nordeste, descobriram atividade antioxidante, de ligação ao zinco e antimicrobianas em peptídeos de queijo Coalho, onde os peptídeos (extraíveis em água) do queijo coalho apresentaram alta atividade antioxidante, sendo o melhor valor de TEAC de 2223 μM , o que significa 91,1% de inibição oxidativa.

5.4.3.2 Atividade Antioxidante Total (AAT) pelo Método DPPH•

Os resultados da análise de Atividade Antioxidante Total (AAT) utilizando o método do radical DPPH (EC_{50} em g.g^{-1} DPPH•) nos queijos *Petit-Suisse* QPST1 e QPST2 durante 28 dias de armazenamento a 4 °C (± 2 °C) se encontram na Tabela 19.

Os resultados foram expressos em EC_{50} (amostra, em g de queijo, necessária para reduzir em 50% do radical presente na solução de DPPH). Portanto, quanto menor o valor do EC_{50} , maior é a atividade antioxidante da amostra analisada.

Como esperado, o QPST1, com incorporação de polpa de acerola se destacou por apresentar valores baixos de EC_{50} em g.g^{-1} DPPH• durante todo o período de estocagem estudado.

O QPST1 apresentou, ao fim do armazenamento (28 dias) redução significativa ($p < 0,05$) em sua AAT.

Comparando-se os dois métodos para avaliação de atividade antioxidante aplicados no QPST1 (AAT e TEAC), verificou-se o mesmo comportamento estatístico, com redução nos seus valores no 28º dia de estocagem.

Houve correlação entre as concentrações de fenólicos totais (PET) e a atividade antioxidante total pelos métodos DPPH• (AAT) e ABTS•+ (TEAC) para o QPST1, onde todos apresentaram redução significativa durante o período de estocagem, apesar de a AAT e TEAC apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) apenas para o 28º dia de estocagem do QPST1, já o PET apresentou reduções significativas ($p < 0,05$) nos seus teores logo após o 1º dia de estocagem.

O mesmo comportamento não foi observado para os teores de antocianinas totais (AnT) e vitamina C quantificada por Tillmas (Tabela 18), que não apresentaram variação significativa ($p > 0,05$) durante o armazenamento para o QPST1. Já para os teores de vitamina C, quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os carotenoides totais (CT), apresentaram o mesmo comportamento da AAT, TEAC e PET, com reduções significativas ($p < 0,05$) durante o armazenamento.

Existe relação entre as concentrações de TEAC, PET, e AAT no queijo *Petit-Suisse* com incorporação de polpa de acerola 10% (QPST1) com as concentrações de antioxidantes reportadas por diversos autores para, “polpa de acerola” mostrando que os compostos antioxidantes presentes no QPST1, está se mantendo em proporção, 10 % dos valores encontrados para polpas de acerola, ainda que o presente trabalho tenha feito uso da polpa de acerola pasteurizada. Oliveira et al. (2011) encontraram valores para TEAC entre 63,69 a 122,77 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$ para diversas polpas produzidas a partir de diversos clones de acerola (*Malpighia emarginata*) com “0” dia de armazenamento sob congelamento, apresentando entre 9 a 17 vezes o valor de TEAC encontrado no QPST1 com até 28 dias de estocagem. Lima (2010) obteve valores de TEAC e PET de 60 de $\mu\text{M Trolox.g}^{-1}$ e 1288,94 mg.100 g^{-1} , apresentando entre 8,4 a 7 vezes o valor encontrado para o QPST1 com até 28 dias de estocagem (Tabela 19).

Furtado et al. (2009) obtiveram resultados para TEAC entre 64,8 a 75,4 $\mu\text{mol Trolox.g}^{-1}$ para acerola inteira, polpa de acerola integral e polpa de acerola pasteurizada, cultivada sob sistema orgânico, valores esses também semelhantes aos apresentados para o QPST1, levando em consideração a proporção de 10% de incorporação de polpa de acerola (10 % dos valores encontrados para a polpa de acerola).

Mas contudo trabalhos como os de Furtado et al. (2009), Oliveira et al. (2011) e Vieira et al. (2011) têm encontrado teores de polifenóis totais inferiores aos relatados pelos autores supracitados, de 869 a 957 mg.100 g^{-1} para acerola, polpa de acerola integral e polpa de acerola não pasteurizada, 113 a 229,8 mg.100 g^{-1} para diversas polpas produzidas a partir de diversos clones de acerola (*Malpighia emarginata*) com “0” dia de armazenamento sob

congelamento e (835,25 mg.100 g⁻¹ em extrato aquoso e de 449,63 mg.100 g⁻¹ em extrato hidroalcoólico) em polpa de acerola congelada, respectivamente, que não apresentam relação entre as concentrações de PET para o QPST1, exibido apenas 0,60 a 4,64 vezes o valor de polifenóis totais encontrado no QPST1 com até 28 dias de estocagem (Tabela 18).

Sampaio e Moraes (2009), em pesquisa da qualidade, conteúdo de compostos bioativos e atividade antioxidante em frutos dos clones Brasileiros de acerola, obtiveram resultados para a AAT, expressos em EC₅₀, de 461,53 a 688,40 g·g⁻¹ DPPH•, para as variedades apodi, cereja, frutacor, roxinha, sertaneja e ii47/1, valores esses semelhantes ao apresentado para o QPST1, levando em consideração a proporção de 10% de incorporação de polpa de acerola (10 % dos valores encontrados para a polpa de acerola) exibindo respectivamente entre 16 a 11 vezes o valor de AAT encontrado no QPST1 com até 28 dias de estocagem (Tabela 19).

O QPST1 pode ser considerado um alimento fonte de antioxidantes, já que o mesmo apresenta maior AAT em comparação com diversas frutas consideradas ricas em antioxidantes, como é o caso do buriti que em trabalho de Santos et al. (2015) apresentou 7938 (g·g⁻¹ DPPH•), expresso em EC₅₀, inferior a AAT do QPST1, que foi de 7724,72 (EC₅₀ em g·g⁻¹ DPPH•), conforme Tabela 19.

Vidal (2010) reporta valores para a AAT em polpas de frutas de vários genótipos de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), nativas do litoral Cearense em EC₅₀, também inferior a AAT apresentada pelo QPST1, de 3256,41 a 11004,61 g·g⁻¹ DPPH•. Vanin (2015) estudando a atividade antioxidante, composição nutricional e aplicando em barra de cereais do fruto araçá amarelo, obteve AAT em EC₅₀ para o fruto maduro de 3589 g·g⁻¹ DPPH•, valor esse, que corresponde apenas a uma atividade antioxidante 1,8 vezes maior que a obtida para o QPST1.

Também o QPST1 apresentou teores superiores de polifenóis totais, com até 28 dias de estocagem que as frutas estudadas por Santos et al. (2015), como o Buriti (118 mg.100 g⁻¹) também a fruta Inajá (45 mg.100 g⁻¹), Tucumã (159 mg.100 g⁻¹) e Pupunha (30 mg.100 g⁻¹), que são igualmente consideradas ricas em antioxidantes.

5.5 Análise do Perfil de Textura (TPA)

Na Tabela 20 estão apresentados os valores médios dos parâmetros da análise do Perfil de Textura (TPA) firmeza, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e gomosidade, para os queijos QPST1 e QPST2 sob temperatura de refrigeração de ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.

Tabela 20 - Parâmetros da análise do Perfil de Textura (TPA) instrumental (média $\pm$ DP)* dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.

Parâmetros	Tempo (dias)	Análise do Perfil de Textura	
		Queijos*	
		QPST1	QPST2
Firmeza (N)	3	0,762 ^{A_a} $\pm$ 0,08	0,588 ^{B_a} $\pm$ 0,03
	14	0,868 ^{A_b} $\pm$ 0,05	0,656 ^{B_{ab}} $\pm$ 0,05
	28	0,935 ^{A_b} $\pm$ 0,09	0,706 ^{B_b} $\pm$ 0,08
Coesividade [#]	3	0,655 ^{A_a} $\pm$ 0,06	0,762 ^{B_a} $\pm$ 0,05
	14	0,580 ^{A_b} $\pm$ 0,02	0,701 ^{B_b} $\pm$ 0,04
	28	0,587 ^{A_b} $\pm$ 0,06	0,650 ^{B_b} $\pm$ 0,05
Elasticidade [#]	3	0,934 ^{A_a} $\pm$ 0,01	0,953 ^{B_a} $\pm$ 0,01
	14	0,918 ^{A_a} $\pm$ 0,01	0,939 ^{B_{ab}} $\pm$ 0,01
	28	0,922 ^{A_a} $\pm$ 0,01	0,934 ^{A_b} $\pm$ 0,01
Mastigabilidade (N)	3	0,464 ^{A_a} $\pm$ 0,04	0,426 ^{B_a} $\pm$ 0,02
	14	0,461 ^{A_a} $\pm$ 0,02	0,430 ^{A_a} $\pm$ 0,02
	28	0,502 ^{A_b} $\pm$ 0,02	0,425 ^{B_a} $\pm$ 0,02
Gomosidade (N)	3	0,496 ^{A_a} $\pm$ 0,04	0,447 ^{B_a} $\pm$ 0,02
	14	0,503 ^{A_a} $\pm$ 0,03	0,458 ^{B_a} $\pm$ 0,02
	28	0,545 ^{A_b} $\pm$ 0,02	0,456 ^{B_a} $\pm$ 0,03

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(¹) Média $\pm$ Desvio Padrão, valores referem-se a média de doze determinações (Média de 1 ensaio independente);

([#]) Parâmetros adimensionais (desprovido de qualquer unidade).

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

A dureza (ou firmeza) é a força necessária para realizar uma determinada deformação; a coesividade é a resistência das ligações internas; a elasticidade é a razão pela qual um material deformado volta à sua condição não deformada após remoção da força de deformação; a mastigabilidade é o tempo ou o número de mastigações requeridas para desintegrar um alimento sólido a um estado pronto para ser deglutido, sendo o produto da

dureza, coesividade e elasticidade, e a gomosidade é a energia requerida para desintegrar um alimento semi-sólido a um estado pronto para ser deglutido, sendo produto de um baixo grau de dureza e alto de coesividade (SZCZESNIAK, 1998; FOX et al., 2000).

Para os parâmetros firmeza, coesividade e gomosidade, foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de queijo controle (QPST2) e do queijo QPST1, com incorporação de polpa de acerola, durante todos os tempos de armazenamento avaliados (3º, 14º e 28º dias) (Tabela 20). Já para os parâmetros elasticidade e mastigabilidade, o queijo *Petit-Suisse* de acerola apresentou semelhança significativa ($p > 0,05$) para o queijo controle, apenas para os dias 14 e 28, respectivamente para os parâmetros mastigabilidade e elasticidade.

Ao longo do período de armazenamento do QPST1 houve aumento significativo ($p < 0,05$) da coesividade e firmeza. A mastigabilidade e gomosidade também apresentaram o mesmo comportamento, visto que esses parâmetros são derivados da dureza, enquanto o parâmetro elasticidade apresentou comportamento inverso.

O QPST2 também apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) da firmeza e coesividade, como observado para o QPST1, entretanto o queijo controle também apresentou aumento significativo para elasticidade e além disso, estabilidade dos valores de mastigabilidade e gomosidade durante a estocagem, comportamento inverso ao observado para o QPST1.

De maneira geral o QPST1 apresentou uma elevação em seus valores, em relação ao seu período de estocagem e valores superiores aos do queijo controle (QPST2), para os parâmetros firmeza, mastigabilidade e gomosidade, o que implicaria em uma maior resistência à desintegração deste produto durante a mastigação. Provavelmente, essa elevação em seus valores está relacionada à polpa de acerola incorporada na matriz do QPST1, que afetou significativamente o seu comportamento reológico. Acredita-se que a pectina presente na polpa de acerola possa ser responsável por esse comportamento.

Ainda de maneira geral, a elevação dos valores dos parâmetro firmeza, mastigabilidade e gomosidade do QPST1, em relação ao seu período de estocagem, foi percebida pelos provadores durante a análise sensorial, e essa mudança agradou os provadores, visto que o parâmetro sensorial textura foi o único a apresentar diferença significativa durante a avaliação sensorial e que apresentou escore médio estatisticamente ($p < 0,05$) (Tabela 23) superior no 28º dia de armazenamento, sendo ainda que 45% dos provadores atribuíram mais comentários positivos para a textura (Tabela 26) para esse mesmo tempo de avaliação sensorial (28 dias), atribuindo como razão principal comentários

positivos, como: (ótima consistência / boa cremosidade / perfeita / textura excelente, semelhante ao comercial / tipo requeijão) e apenas 3,33% dos provadores atribuíram comentários negativos para esse mesmo dia de avaliação sensorial.

Cardarelli (2006) em seu estudo com desenvolvimento de queijo *Petit-Suisse* simbiótico sabor morango, obteve valores de firmeza superiores a ambos os queijos aqui estudados, de 1,82 a 3,94 N, entretanto apresentou valores semelhante para elasticidade e gomosidade, de 0,857 a 0,887 e 0,635 a 1,088, respectivamente para todos os tratamentos estudados. Contudo, Cardarelli (2006) atribui os altos valores de firmeza à adição de inulina à formulação, resultando em um produto mais firme, mais coeso, porém com maior adesividade e gomosidade.

Pereira (2007), estudando a influência da associação de culturas probióticas sobre as características de queijo *Petit-Suisse*, observou comportamento inverso ao do presente trabalho para o QPST1, para firmeza e gomosidade, onde, nas formulações 1, 3 e 4 obtiveram redução significativa para esses parâmetros.

Maruyama et al. (2006) estudaram a influência de diferentes combinações de gomas em queijo *Petit-Suisse* de morango e obtiveram valores superiores aos do presente trabalho para ambos os queijos, para a firmeza, mas semelhante na elasticidade e gomosidade, e inferiores para coesividade, apresentando valores de 163,1 gf, 0,887, 56,10 gf e 0,340, respectivamente para a formulação 1, entretanto a diferença da firmeza apresentada em comparação com os queijos aqui estudados se deve a maior porcentagem de gomas (xantana, guar e carragena), de 0,75%, em comparação com 0,40% do presente trabalho.

5.6 Análise de viscosidade relativa

A Tabela 21 apresenta os valores médios da viscosidade relativa para o queijo QPST1 e QPST2 sob temperatura de refrigeração de 4 °C (± 2 °C) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.

Tabela 21 - Viscosidade relativa (média $\pm$ DP)* dos tratamentos QPST1 e QPST2 à temperatura de refrigeração de 4 °C (± 2 °C) do produto final com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.

Tempo (em dias)	Viscosidade (mPa·S)	
	Queijos*	
	QPST1	QPST2
3	56732 ^A _a $\pm$ 86,27	19738 ^B _a $\pm$ 55,15
14	30830,5 ^A _b $\pm$ 64,35	27836,5 ^B _b $\pm$ 86,97
28	30757 ^A _b $\pm$ 916,41	32318,5 ^B _c $\pm$ 50,20

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

^{A,B} Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos *Petit-Suisse* para um mesmo dia de armazenamento.

^{a,b} Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

A análise de viscosidade relativa (mPa·S) dos queijos *Petit-Suisse*, com polpa de acerola T1, e sem polpa de acerola T2 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) durante todos os dias avaliados entre si (Tabela 21). O QPST1 apresentou os maiores valores de viscosidade relativa, significativamente diferentes ($p < 0,05$) do QPST2 com até 14 dias de armazenamento, passando a apresentar valores significativamente inferiores ao QPST2 com 28 dias de armazenamento.

O QPST1 apresentou redução significativa ($p < 0,05$) para a análise de viscosidade relativa, após o 1º dia de armazenamento estudado, no entanto, após esse tempo manteve valores médios estatisticamente ($p > 0,05$) semelhantes até o fim do armazenamento estudado. Enquanto o QPST2 apresentou comportamento inverso, com aumento significativo ($p < 0,05$) da viscosidade relativa durante todo o período de armazenamento, podendo inferir que a incorporação da polpa de acerola na matriz do QPST1 pode modificar a estabilidade da viscosidade com até 28 dias de armazenamento. Também acredita-se que a pectina presente na polpa de acerola possa ser responsável por essa função.

A análise de viscosidade relativa apresentou correlação com o parâmetro de “coesividade” na análise do Perfil de Textura (TPA) (Tabela 20), para o QPST1 apresentando o mesmo comportamento estatístico, com redução dos seus valores de viscosidade e coesividade ao longo do período de estocagem, enquanto o QPST2 apresentou comportamento inverso.

Pereira et al. (2016b) ao investigar o efeito da adição de diferentes antioxidantes (ácido ascórbico, glicose oxidase, cisteína e extrato de jabuticaba) sobre as propriedades reológicas e sensoriais do queijo *Petit-Suisse* probiótico, os autores observaram que o queijo *Petit-Suisse* probiótico controle (sem adição de antioxidantes) mostrou maior viscosidade aparente e diferentes taxas de cisalhamento em comparação com as outras formulações estudadas com adição de antioxidantes, no entanto, após 28º dia de armazenamento, não foram observadas diferenças nos valores de viscosidade. Todos os tratamentos estudados apresentaram comportamento inverso ao QPST1 do presente trabalho. Exceto a formulação controle, que apresentou resultado semelhante ao QPST2 do presente trabalho, apresentando aumento nos valores de viscosidade relativa, para as formulações de queijos *Petit-Suisse* probiótico com adição de antioxidantes.

5.7 Análise sensorial e de intenção de compra

A Tabela 22 apresenta os valores médios dos resultados do questionário de recrutamento “Perfil do provador” frente a potenciais consumidores da cidade de Sobral-CE, que foi utilizado como ferramenta para o recrutamento dos provadores, através de perguntas como: Idade, sexo, estado civil, escolaridade, renda, intolerância a lactose e/ou histórico de manifestações alergênicas ao leite, consumo de produto lácteo, gostar de queijos e ter hábitos de consumo de queijo. Entre as perguntas foram selecionados critérios de inclusão/exclusão baseados unicamente para a própria segurança dos provadores, como preconizado pela RESOLUÇÃO Nº 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012 do Conselho Nacional de Saúde, e eliminar possíveis provadores que não gostem de queijo e pessoas que não consomem produtos lácteos. Vide o Apêndice A para a descrição das perguntas.

Tabela 22 - Resultados do questionário de recrutamento “Perfil do provador”.

Alternativas	Questionário de recrutamento “Perfil do provador” (%)*																
	Perguntas ¹																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9 [#]	10	11	12	13	14	15	16	17
A	0,00	1,89	100	53,78	0,00	1,89	15,15	24,24	49,62	99,24	48,48	6,06	48,48	28,03	44,31	97,34	2,65
B	96,21	98,10	0,00	46,21	0,00	0,37	39,72	9,84	25,37	0,75	27,27	34,46	9,84	53,78	22,72	0,75	6,81
C	3,78	-	-	-	7,19	1,89	39,72	20,07	35,98	0,00	5,68	46,59	30,30	18,18	16,66	0,37	34,09
D	0,00	-	-	-	92,80	73,10	4,54	23,86	46,96	-	18,56	4,16	11,36	0,00	13,63	0,37	53,40
E	0,00	-	-	-	-	22,72	0,75	21,96	12,87	-	-	3,78	-	-	2,65	1,13	3,03
F	0,00	-	-	-	-	0,00	-	-	3,03	-	-	0,37	-	-	-	-	-
G	-	-	-	-	-	0,00	-	-	1,89	-	-	4,54	-	-	-	-	-
H	-	-	-	-	-	0,00	-	-	0,75	-	-	-	-	-	-	-	-
I	-	-	-	-	-	0,00	-	-	2,65	-	-	-	-	-	-	-	-
J	-	-	-	-	-	-	-	-	1,13	-	-	-	-	-	-	-	-

(¹) Vide apêndice 1 para a descrição das perguntas;

(*) Respostas do questionário referente aos três dias de análise sensorial;

([#]) O provador foi informado que poderia assinalar mais de uma opção;

(-) Alternativa não se aplica a essa pergunta.

Fonte: Autor, (2017).

Os provadores das análises sensoriais tiveram idade entre 18 a 29 anos, portanto caracterizando como jovens e declararam não terem intolerância a lactose e que gostam de queijo.

Dos provadores 53,78% são do sexo masculino e 46,22% do sexo feminino, sendo 92,80% solteiros. A maioria declarou (73,10%) ser estudante de nível superior, com renda familiar variando de meio salário mínimo a cinco salários mínimo vigente no Brasil.

Os provadores declararam consumir iogurtes, bebidas lácteas fermentada, sorvetes, queijo Coalho, requeijão, queijo *Petit-Suisse*, queijo cremoso, queijo boursin, e que esses produtos eram adquiridos em supermercados, mercearias, pontos de venda de frutas e verduras, e 99,24% dos provadores responderam que preferem leite de vaca e 0,75% de cabra.

Os provadores foram indagados do que acham sobre a qualidade do queijo (queijo em geral) que comprou, e responderam, ótima (28,03%), boa (53,78%) e regular (18,18%). Já para a frequência de consumo de queijo responderam que consomem de 2 ou mais vezes por semana (44,31%), 1 vez por semana (22,72%), de 2 ou mais vezes por mês (16,66%), 1 vez por mês (13,63%) e outros (2,65%). O queijo mais consumido pelos provadores é o queijo tipo Coalho de leite de vaca. O sabor é o motivo que leva a maioria dos provadores ao consumo de queijo 53,40%, os outros motivos listados foram: o benefício à saúde (2,65%), valor nutricional (6,81%), costume (34,09%) e outros (3,03%).

Os resultados do teste de aceitação sensorial realizada para o queijo *Petit-Suisse* caprino QPST1, com incorporação de polpa de acerola, analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento sob temperatura de refrigeração $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, se encontra na Tabela 23.

Tabela 23 - Aceitação sensorial do queijo *Petit-Suisse* caprino com polpa de acerola QPST1 analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento, sob temperatura de refrigeração $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Atributos	Período (dias)	Queijo*
		QPST1
Aparência	3	7,75 ^a $\pm$ 0,99
	14	7,65 ^a $\pm$ 1,10
	28	7,82 ^a $\pm$ 1,11
Sabor	3	7,10 ^a $\pm$ 1,60
	14	7,12 ^a $\pm$ 1,55
	28	7,23 ^a $\pm$ 1,65
Textura	3	7,52 ^a $\pm$ 1,27
	14	7,51 ^a $\pm$ 1,32
	28	8,00 ^b $\pm$ 1,13
Cor	3	7,61 ^a $\pm$ 1,16
	14	7,53 ^a $\pm$ 1,20
	28	7,67 ^a $\pm$ 1,25
Aceitação Global	3	7,28 ^a $\pm$ 1,42
	14	7,29 ^a $\pm$ 1,49
	28	7,53 ^a $\pm$ 1,30

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo.

^{a,b} Letras minúsculas sobrescritas distintas na mesma coluna indicam diferenças significativas a 5% ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para o queijo *Petit-Suisse*.

Fonte: Autor, (2017).

A análise sensorial não indicou diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tempos de armazenamento avaliados na aceitabilidade sensorial do produto, para os atributos sensoriais aparência, sabor, cor e aceitação global (Tabela 23), frente a potenciais consumidores da cidade de Sobral-CE, caracterizados através do questionário de recrutamento “*Perfil do provador*” (Tabela 22). A exceção foi o parâmetro sensorial de textura do queijo *Petit-Suisse*, que apresentou escore médio (8,00) estatisticamente ($p < 0,05$) superior no 28º dia de armazenamento.

De acordo com Bispo et al. (2004), para que um produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que se obtenha um índice de aceitabilidade (IA %) de no mínimo 70% (IA % = nota obtida para a amostra $\times$ 100 / nota máxima da escala utilizada).

Portanto, o queijo QPST1 apresentou índice de aceitabilidade (IA %) de 82,67%, sendo aceito sensorialmente pelos provadores.

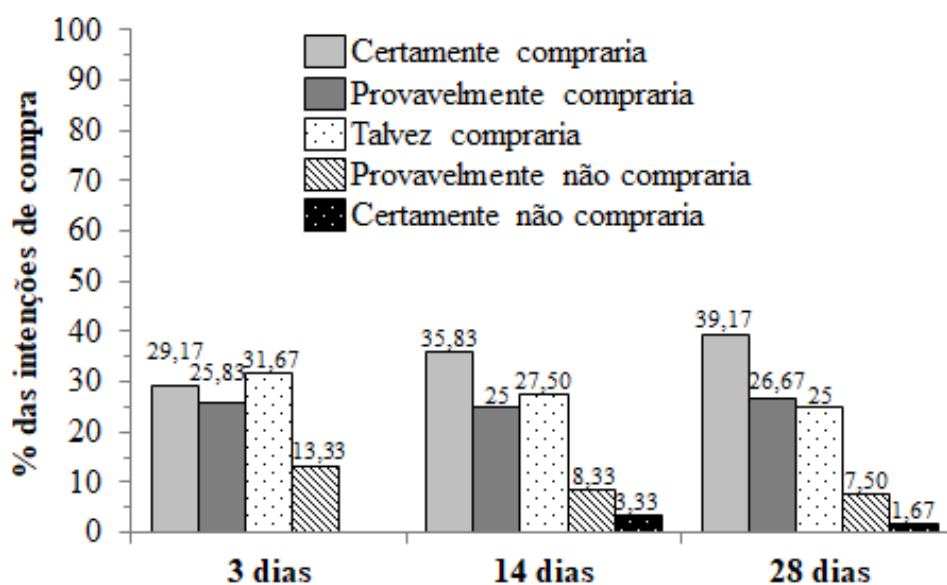
Lima e Albuquerque (2007) formularam e elaboraram diversas formulações de queijo tipo “*Petit-Suisse*” adicionado de polpa de frutas regionais, entre elas, de queijo *Petit-Suisse* de acerola, obtendo boa aceitação sensorial, com escore médio de 7,50 e índice de aceitabilidade de 72,59%.

Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira (2007) ao avaliar *Petit-Suisse* probiótico com adição de *S. thermophilus* em co-cultura com a *L. acidophilus* = F2 e *S. thermophilus* em co-cultura com a *L. acidophilus* + *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* = F4, com relação à textura, no 7º dia de análise, somente a formulação F4 do queijo *Petit-Suisse* diferiu das demais, recebendo as melhores notas dos provadores ($p < 0,05$). Ao 14º dia de análise as formulações dos queijos F2 e F4 receberam as melhores notas e os provadores enfatizaram a “consistência” desses queijos como o atributo que eles mais apreciaram no teste.

Pereira et al. (2016b) ao investigar o efeito da adição de diferentes antioxidantes (ácido ascórbico, glicose oxidase, cisteína e extrato de jabuticaba) sobre as propriedades reológicas e sensoriais do queijo *Petit-Suisse* probiótico, observaram que a adição de antioxidantes resultou em menores pontuações para todos os atributos sensoriais avaliados em comparação com o queijo *Petit-Suisse* comercial, obtendo escores médios para aparência (6,12 a 5,95), textura (4,42 a 4,55) e aceitação global (4,53 a 5,50), para os queijos *Petit-Suisse* probiótico com adição de antioxidantes (ácido ascórbico, glicose oxidase, cisteína e extrato de jabuticaba), e queijo *Petit-Suisse* probiótico comercial, que apresentou aparência de 7,43, textura de 7,97 e aceitação global de 7,90. Os escores médios obtido para o QPST1 do presente trabalho foram superiores para todos os atributos sensoriais avaliados com até 28 dias de armazenamento aos obtidos por Pereira et al. (2016b) para os queijos *Petit-Suisse* probiótico com adição de antioxidantes e semelhantes aos obtidos para o queijo *Petit-Suisse* probiótico comercial.

A frequência das intenções de compra do queijo *Petit-Suisse* caprino com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento sob temperatura de refrigeração $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ se encontra na Figura 6.

Figura 6 - Frequência das intenções de compra do queijo *Petit-Suisse* caprino com polpa de acerola (QPST1*), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento sob temperatura de refrigeração $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.



(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo.

Fonte: Autor, (2017).

Por meio da Figura 6 fica bem evidente que o queijo potencialmente probiótico com acerola apresenta-se com zona de aceitação superior a 50%, e crescente ao longo do armazenamento refrigerado, com valores de 55, 60 e 67% respectivamente com 3, 14 e 28 dias de armazenamento, mostrando que o QPST1 pode ter sucesso se for comercializado.

Após o preenchimento da avaliação sensorial os provadores puderam emitir opiniões diversas sobre o produto. Compilou-se na Tabela 24 a frequência dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento. E compilou-se nas Tabela 25 e 26 o resumo dos comentários positivos (características que os provadores mais gostaram) e negativos (características que

os provadores menos gostaram) realizados pelos provadores para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento.

Tabela 24 - Frequência dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento em relação ao número total de provadores em cada período de amostragem.

Comentários	Queijo	Período (dias)	Aparência		Sabor		Textura		Cor		Total de Provadores
			n	%	n	%	n	%	n	%	
Positivos	QPST1	3	9	7,5	55	45,83	36	30	16	13,33	120
		14	19	15,83	51	42,5	53	44,16	17	14,16	120
		28	16	13,33	48	40	54	45	12	10	120
Negativos	QPST1	3	5	4,16	26	21,66	14	11,66	9	7,5	120
		14	6	5	39	32,5	9	7,5	6	5	120
		28	4	3,33	38	31,66	4	3,33	12	10	120

Fonte: Autor, (2017).

Tabela 25 - Resumo dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados pelos provadores para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento. Comentários relativos aos atributos aparência e sabor, com apresentação do número de citações e o total de provadores (n) em cada período de amostragem. Continua na Tabela 26.

Comentários	Queijo	Período (dias)	Aparência		Sabor	
			Citações (n)	Razão Principal	Citações (n)	Razão Principal
Positivos	QPST1	3	9	Bonita / Gostei muito *	55	Bom / Muito bom / Agradável / Bem diferente / Excelente / Sabor está bom, perfeito / Sabor levemente azedo / Gostei muito / Parece iogurte / Sabor bem balanceado de acerola e queijo / Sabor leve / Gosto delicioso / muito marcante / lembra a fruta acerola / Inesperado / Gosto azedinho de acerola / Gosto crítico da acerola no queijo / Melhores sabor que já comi / Gosto de queijo normal *
		14	19	Boa / Inovadora / Cremosa / Agradável de comer com os olhos / Agradável *	51	Bom / Muito bom / Ótimo / Uma delícia / Parece iogurte / Saboroso / Sabor especial / Sabor diferente, bem gostoso / Azedo lembra acerola / Sabor divino / Delicioso / Sabor inovador, agradável / Sabor viciante / Saboroso, mistura de ingrediente / Agridoce *
		28	16	Ótima / Boa / Chamativa / Muito boa / Bem chamativa *	48	Bom / Muito bom / Ótimo / Maravilhoso / Inovador / Sabor, lembra nata / Sabor forte, inovador / Acerola, mistura perfeita com o queijo / Delicioso / Gosto bem agradável / Sabor perfeito / Sabor bem balanceado de acerola e queijo / Sabor cítrico, azedo / Sabor marcante / Sabor leve e doce / Muito saboroso *
Negativos	QPST1	3	5	Lembra margarina / Aparência não característica de queijo *	26	Sabor forte / Deveria ter mais acerola / Gosto de leite de cabra / Amargo residual / Azedo / Ruim / Levemente cítrico / Pouco doce / Deveria ter mais acerola / Gosto de acerola *
		14	6	Parece coalhada	39	Muito ácido / Não parece queijo / Azedo / Um pouco azedo, igual iogurte / Leve sabor de ranço / Muito azedo / Amargo / Deveria ter mais acerola / Gosto de leite de cabra / meio amargo / Ligeiramente ácido *
		28	4	Estranha	38	Um pouco azedo / Gosto de leite de cabra / Amargo / Pouco doce / Sabor cerveja / Deveria ter mais acerola / Agridoce *

(*) Opiniões divergentes entre os provadores.

Fonte: Autor, (2017).

Tabela 26 - Continuação. Resumo dos comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) realizados pelos provadores para o queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola (QPST1), analisado com 3, 14 e 28 dias de armazenamento. Comentários relativos aos atributos textura e cor, com apresentação do número de citações e o total de provadores (n) em cada período de amostragem.

Comentários	Queijo	Período (dias)	Textura		Cor		Total de Provadores
			Citações (n)	Razão Principal	Citações (n)	Razão Principal	
Positivos	QPST1	3	36	Ótima consistência / Boa cremosidade / Gostei muito / Gostei / Muito boa / Muito cremosa / Bastante macia / Bastante agradável / Textura excelente, semelhante ao comercial / Cremosidade leve / Textura deliciosa *	16	Gostei muito / Cor muito boa / A cor está boa / Cor muito agradável / Cor excelente / Cor parece apetitosa *	120
		14	53	Ótima consistência / Boa cremosidade / Gostei muito / Gostei / Muito boa / Muito cremosa / Textura bastante chamativa / Textura bem cremosa / Textura bastante cremosa *	17	Cor ótima / Cor excelente *	120
		28	54	Ótima consistência / Boa cremosidade / Gostei muito / Gostei / Muito boa / Muito cremosa / Perfeita / Textura excelente, semelhante ao comercial / Tipo requeijão / Textura agradável, cremosa / Textura leve, agradável / Textura consistente *	12	Cor boa / Cor muito boa / Cor ótima / Cor, aumenta a vontade de comer *	120
Negativos	QPST1	3	14	Muito macia / Pouco consistente / Pastosa / Deve ser mais homogênea	9	Cor um pouco fraca	120
		14	9	Não parece de queijo / Pouco cremosa / Pouco consistente / Desprendimento de soro / Deveria ser mais consistente *	6	Deveria ser mais clara / Deveria ser mais chamativa / Deveria ter mais cor de acerola *	120
		28	4	Textura deveria ser mais cremosa	12	Deveria ter mais cor de acerola	120

(*) Opiniões divergentes entre os provadores.

Fonte: Autor, (2017).

Em relação á frequência dos atributos sensoriais citados pelos consumidores (Tabela 25 e 26), comentários positivos (características que mais gostaram) e negativos (características que menos gostaram) durante a realização das avaliações sensoriais, pode-se observar uma maior tendência a citações dos atributos textura e sabor, para ambos os comentários, positivos e negativos.

Segundo Cardarelli (2006), os pesquisadores que trabalham com desenvolvimento de produto, precisam saber não só o grau de aceitabilidade global, mas também o que os consumidores gostam ou desgostam no produto, e como esses atributos podem ser modificados para aumentar a aceitabilidade. Por esse motivo, estudos frequentemente incluem questões sobre atributos do produto que podem determinar o nível de aceitação global e questões relacionadas com as propriedades sensoriais do alimento, tais como aroma, sabor e textura, também como dando a oportunidade do provador manifestar não só através de notas mas também de comentários.

Pode-se observar que as maiores frequências foram atribuídas para as características positivas, mostrando que o QPST1, com polpa de acerola agradou em todos os atributos avaliados sensorialmente. Consequentemente foram verificados poucos comentários negativos para o QPST1, sendo o atributo negativo mais citado o sabor e em seguida a textura. Ressalta-se ainda que os atributos aparência e cor foram os menos citados com comentários negativos, ficando claro que ambos os atributos agradaram os provadores, apesar de não ter se refletido em grande número de comentários positivos para o queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico sabor acerola.

A textura também foi o parâmetro sensorial que apresentou maior frequência dos comentários positivos apresentados para o 3º, 14º e 28º dias de avaliação sensorial, obtendo 30, 44,16 e 45% de comentários positivos, respectivamente, apresentando aumento dos comentários positivos com 28 dias de avaliação sensorial.

Fica claramente visível que a textura do QPST1 agradou os provadores, mesmo nas avaliações anteriores (3º e 14º dias de armazenamento), contudo esse parâmetro sensorial ainda apresentou 11,66, 7,50 e 3,33% de comentários negativos para o 3º, 14º e 28º dia de avaliação sensorial, sendo atribuída como razão principal não parece de queijo / pouco cremosa / pouco consistente / desprendimento de soro / deveria ser mais consistente / Textura deveria ser mais cremosa (Tabela 26) que foi citado por entre 9 a 12 provadores, respectivamente para 3º e 28º dia de avaliação sensorial.

Para o atributo sabor, provavelmente as frequências de comentários negativos podem estar associado a elevada acidez titulável e a sabor mais característico de acerola. A razão

principal atribuída pelos provadores para esse atributo sensorial foram os comentários, Muito ácido / Não parece queijo / Azedo / Um pouco azedo, igual iogurte / Leve sabor de ranço / Muito azedo / Amargo / Deveria ter mais acerola / Gosto de leite de cabra / meio amargo / Ligeiramente ácido, que foi citado por 39 provadores (Tabela 25).

Não houve consenso entre os provadores com relação ao atributo cor. Foram relatados comentários como: gostei muito / cor muito boa / a cor está boa / cor muito agradável / cor excelente / cor parece apetitosa / deveria ser mais clara / deveria ser mais chamativa / deveria ter mais cor de acerola.

6 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o queijo *Petit-Suisse* caprino, com polpa de acerola é tecnologicamente viável, visto que apresentou qualidade microbiológica e físico-química e as populações de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 permaneceram acima de 8 Log UFC.g⁻¹ ao longo do período de armazenamento estudado. Além disso, o queijo produzido apresentou-se rico em vitamina C (podendo suprir 100% das suas necessidades diárias), com potencial probiótico, antioxidante e aceito sensorialmente pelos provadores.

A sobrevivência da cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* CNPC 003 após 6 horas de ensaio de simulação gastrointestinal simulada *in vitro* não foi influenciada pela incorporação da polpa de acerola no queijo *Petit-Suisse*, com uma maior sobrevivência (taxas de sobrevivência) no início do armazenamento, com populações superiores ao queijo *Petit-Suisse* sem incorporação de polpa de acerola e cultura fresca com até 14 dias de armazenamento.

REFERÊNCIAS¹

ABE, L.T; DA MOTA, R.V; LAJOLO, F.M; GENOVESE, M.I. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Vitis labrusca* and *Vitis vinifera* cultivars. **Ciencia e tecnologia de alimentos**. v. 27, p. 394-400, 2007.

ADAMS, J. B.; ONGLEY, M. H. The degradation of anthocyanins in canned strawberries. Part II. The effect of various additives on the retention of pelargonidina-3-glucoside. **Journal of Food Science and Technology**. v. 8, n. 3, p. 305-307, 1973.

AGOSTINI-COSTA, T. S.; ABREU, L. N.; ROSSETTI, A. G. Efeito do congelamento e do tempo de estocagem da polpa de acerola sobre o teor de carotenoides. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 25, n. 1, p. 56-58, 2003.

AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; PRASADA-RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, Washington, v. 102, n. 4, p. 1006-1011, 2007.

ALMEIDA, J. I. L.; LOPES, J. G. V.; OLIVEIRA, F. M. M. **Produtos de Acerola**. Fortaleza CE: Edições Demócrito Rocha, Instituto Centro de Ensino Tecnológico, p. 40, 2002.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para Determinação de Atividade Antioxidante *in vitro* em Substratos Orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.

ALVES, L. L.; RICHARDS, N. S. P. S. R.; BECKER, L. V.; ANDRADEI, D. F.; MILANII, L. I. G.; REZER, A. P. S.; SCIPIONI, G. C. Aceitação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Ciência Rural**. v. 39, n. 9, p. 2595- 2600, 2009.

ANALOU, M.; PAPKOSTA, E.; COCHRAN, M.; MATIS, B. Designing visually optimal shade guides. **Journal of Prosthetic Dentistry**. v. 92, p. 371-6, 2004.

ANTUNES, A. E. C.; LISERRE, A. M.; COELHO, A. L. A.; MENEZES, C. R.; MORENO, I.; YOTSUYANAGI, K.; AZAMBUJA, N. C. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. **LWT-Food Science and Technology**. v. 54, n. 1, p. 125-131, 2013

¹De acordo com a NBR6023/2002 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)

ARAÚJO, E. R.; SILVA, P. K.; NASCIMENTO, M. F.; NASCIMENTO, N. F. F.; BAIRRAL, M. A. A.; RÊGO, M. M.; RÊGO, E. R. Desenvolvimento de geleia de pimenta com acerola: Análise sensorial e aceitação comercial. **Agropecuária Técnica**. v. 35, n. 1, p. 81-88, 2014a.

ARAÚJO, H. G. G. S.; NASCIMENTO, R. S.; SANTOS, B. S.; COSTA, F. S. C.; SOUZA, J. F.; PAGANI, A. A. C.; CARNELOSSI, M. A. G. Desenvolvimento e caracterização físico-química e sensorial de catchup de acerola. **Revista GEINTEC**. v. 3, n. 2, p. 26-37, 2013.

ARAUJO, J. M.; MESQUITA, F. R.; LIMA, M. O.; CRAVEIRO, R. L.; ARAUJO, E. A. Composição centesimal da acerola, manga, carambola e maracujá. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**. v.10, n.19, p. 559-566, 2014b.

ARAUJO, P. G. L. **Conservação pós-colheita e estabilidade da polpa congelada apodi, cereja, fruta cor, II 47/1, roxinha e sertaneja**. 2005. 79 p. Mestrado em Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará. 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.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. Campinas: UNICAMP, p.401, 2003.

BELLIK, Y.; IGUER-OUADAB, M. A useful method based on cell-free hemoglobin analysis for evaluating antioxidant activity. **Analytical Methods**, v.7, p. 4934-4938, 2015.

BENEVIDES, S. D.; EGITO, A. S. do. **Orientações sobre Boas Práticas de Fabricação (BPF) para unidades processadoras de leite de cabra**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2007. 4 p. (Embrapa Caprinos e Ovinos. Comunicado Técnico, 76).

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001.

BERGAMINI, C. V.; HYNES, E. R.; QUIBERONI, A.; SUÁREZ, V. B.; ZALAZAR, C. A. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**. v. 38, n. 5, p. 597-604, 2005.

BEZERRA, M.; ARAUJO, A.; SANTOS, K.; CORREIA, R. Caprine frozen yoghurt produced with fresh and spray dried jambolan fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam) and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI-07. **LWT - Food Science and Technology**. v. 62, n. 2, p. 1099-1104, 2015.

BIBILONI, R.; FEDORAK, R. N.; TANNOCK, G.W.; MADSEN, K. L.; GIONCHETTI, P.; CAMPIERI, M.; DE SIMONE, C.; SARTOR, R.B. VSL#3 Probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. **American Journal of Gastroenterology**. v. 100, n. 7, p. 1539-46, 2005.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**, v.35, n.2/3, p.125-131, 2002.

BIN-NUN, A.; BROMIKER, R.; WILSCHANSKI, M.; KAPLAN, M.; RUDENSKY, B.; CAPLAN, M.; HAMMERMAN, C. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates. **Journal of Pediatrics**. v. 147, p. 192-196, 2005.

BIRCH, A. E.; FENNER, G. P.; WATKINS, R.; BOYD, L. C. Antioxidant proprieties of evening primrose seed extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, p. 4502-4507, 2001.

BISPO, E. S.; SANTANA, L. R. R.; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; LIMA, M. A. C. Processamento, estabilidade e aceitabilidade de marinado de vôngole (*Anomalocardia brasiliensis* (Gmelin, 1791)). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 24, p. 353-356, 2004.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.** 37: 911-917. 1978.

BOMFIM, M. A. D.; SANTOS, K. M. O. dos; QUEIROGA, R. de C. R. do E.; CORDEIRO, P. C.; OLIVEIRA, L. S. Produção e qualidade do leite de cabra no Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA**, 23., 2013, Foz do Iguaçu. Zootecnia do futuro; Produção Animal Sustentável: [anais]. Foz do Iguaçu: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013. p. 4711-4718.

BOURROUL, G. O. Potencial da cadeia láctea brasileira. **Leite e Derivados**, São Paulo, n. 95, p. 36-66, 2006.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Resolução RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre regulamento técnico sobre informação Nutricional complementar. **Diário Oficial da República do Brasil**, Brasília, 13 nov. 2012.

BRASIL. 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: 04/01/2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos Com Alegacoes de Propriedades Funcionais e ou de Saúde**. 2016. Atualizado em 14/03/2016. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Acesso em: 28/08/2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 12, de 30 de março de 1978. **Normas técnicas especiais**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisa legis/resol/12_78.pdf> Acesso em: 22/01/2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e, ou, de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União. Brasília, DF, 3 dez. 1999**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/REP_RES_18_1999.pdf/b686fb0d-80a9-4353-8525-24a39317dd37>. Acesso em: 28/08/2016.

BRASIL. 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://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/anexo/anexo_res0359_23_12_2003.p](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/anexo/anexo_res0359_23_12_2003.pdf)df>. Acesso em: 24/01/2017.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. **Resolução Nº 466, DE 12 DE DEZEMBRO DE 2012**. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Disponível em <<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>>. Acesso em: 11/01/2017.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 37, DE 31 DE OUTUBRO DE 2000c. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra**. 2000. Publicado no Diário Oficial da União de 08/11/2000, Seção 1, Página 23.

BRASIL. Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000a. **O Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo tipo petit-suisse**. In: LERAYER, A.L.S. (ed). Nova legislação de produtos lácteos. São Paulo: Fonte, 2002. p. 135-137.

BRASIL. MAPA-MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO (BRASIL). **Instrução Normativa Nº 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra.** Disponível em: <http://www.engetecno.com.br/legislacao/leite_rtfiq_leite_cabra.htm>. Acesso em: 29/10/2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n.01, de 07 de janeiro de 2000b. Regulamento técnico geral para fixação dos padrões de qualidade para polpa de fruta. **Diário Oficial da União** n.6. Brasília, 10 de janeiro de 2000. Seção I. p.54-58.

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: 15/04/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 18 set. 2003. Seção 1, p. 14.

BRASIL. Ministerio da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuaria. Laboratorio Nacional de Referencia Animal. **Metodos analiticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes.** Brasilia: LANARA, 1981. 2v. paginacao irregular %% - 83.01847 - v.2; 83.01848 - v.1 Biblioteca(s): Embrapa Caprinos e Ovinos; Embrapa Suínos e Aves.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2005). Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais (Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.**

BRASIL. Portaria nº 146 (1), 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.** Brasília, DF, 07/mar/1996.

BROADBENT, J. R.; MCMAHONM, D. J.; WELKER, D. L.; OBERG, C. J.; MOINEAU, S. Biochemistry, Genetics, and Applications of Exopolysaccharide Production in *Streptococcus thermophiles*.: A Review. **International Dairy Journal.** v. 86, n. 2, p. 407-423, 2003.

BRON P. A.; MOLENAAR, D.; VOS, W. M.; KLEEREBEZEM, M. DNA micro-array-based identification of bile-responsive genes in *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Applied Microbiology.** v. 100, n. 4, p. 728-738, 2006.

BRONSTEIN, V.; ALEGRE, R.M. Estudos dos Parâmetros da Ultrafiltração de Permeado de Soro de Queijo Fermentado Por *Lactococcus lactis* sp. Lactis. **Ciências e Tecnologia em Alimentos**. v.18, n.1, 1998.

BRUNINI, M. A.; MACEDO, N. B.; COELHO, C. V.; SIQUEIRA, G. F. Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 26, n. 3, p. 486-489, 2004.

BURITI, F. C. A. **Desenvolvimento de Queijo fresco Cremoso Simbiótico**. 2005. 86 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos). 2005.

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 thermophilus* in potentially probiotic and synbiotic fresh cream cheeses. **Journal of Food Protection**. v. 70, n. 1, p. 228-235, 2007.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p.75-84, 2008.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 44, n. 1, p. 75-84, 2008.

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, 2010.

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*. **Food Science and Technology**. v.38, n.2, p.173-180, 2005a.

BURITI, F. C. A.; ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v.15, p.1279-1288, 2005b.

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 Nutrición**. v. 57, n. 4, p. 373-380, 2007.

CAETANO, P. K.; DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L. Característica físico-química e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 15, n. 3, p. 191-197, 2012.

CALDAS, T. E.; ASSIS, S. S.; CARDOSO, R. L.; DIAS, J. C.; SANTOS, C. A. Avaliação físico-química e sensorial de geleia de acerola com maracujá. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**. v.8, n.14; p. 1843-1848, 2012.

CANDELA, M.; PERNA, F.; CARNEVALI, P.; VITALI, B.; CIATI, R.; GIOCHETTI, P.; RIZZELLO, F.; CAMPIERI, M.; BRIGIDI, P. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. **International Journal of Food Microbiology**. v. 125, n. 3, p. 286-292, 2008.

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.; 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. **Food Science and Technology**. v.41, p.1037-046, 2008.

CARMO, A. P. **Produção de cultura dvs (direct vat set) para *Lactobacillus delbrueckii* UFV H2b20 cultivado em soro de queijo minas frescal**. 2006. 84 p. Dissertação (Universidade Federal de Viços) Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola.

CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; PRETE, C. E. C.; GONZALEZ, M. G. N.; POPPER, I. O. Novas cultivares de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.): UEL 3 (Dominga) - UEL 4 (Lígia) – UEL 5 (Natália). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 24, n. 1, jan. p. 124-126, 2002.

CARRINGTON, C. M. S.; KING, R. A. G. Fruit development and ripening in Barbados cherry, *Malpighia emarginata* D.C. **Scientia Horticulturae**. v. 92, n. 1, p. 1-7, 2002.

CARVALHO, A. S.; SILVA, J.; HO, P.; TEIXEIRA, P.; MALCATA, F. X.; GIBBS, P. Impedimetric method for estimating the residual activity of freeze-dried *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 6, p. 463-468, 2003.

CARVALHO, A. S.; SILVA, J.; HO, P.; TEIXEIRA, P.; MALCATA, F. X.; GIBBS, P. Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 14, n.10, p. 835-847, 2004.

CEREZAL-MEZQUITA, P.; GARCÍA-VIGO, Y. La acerola – fruta marginada de America con alto contenido de ácido ascórbico. **Alimentaria**, v. 37, n. 309, p. 113-125, 2000.

CFIA. Canadian Food Inspection Agency. **Health Claims Probiotic Claims**. Data modificada: 2016-07-15. Disponível em: <<http://www.inspection.gc.ca/food/labelling/food-labelling-for-industry/health-claims/eng/1392834838383/1392834887794?chap=9>>. Acesso em: 25/01/2017.

CHAMPAGNE, C. P.; RAYMOND, F. M. Y; DENIS ROY. Effect of polymers and storage temperature on the stability of freeze-dried lactic acid bacteria. **Food Research International**, v. 29, Nos S-6, pp. 555-562, 1996.

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.

CHARTERIS, W. P.; KELLY, P. M.; MORELLI, L.; COLLINS, J. K. Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 759-768, 1998.

CHIPAULT, J. R.; MIZUN, G. H.; HAWKINS, J. M.; LUNDBERG, W. O. The antioxidant properties of natural spices. **Food Research**, v. 17, p. 46-55, 1952.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

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.

COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Dairy Journal**, v.8, p.487-490, 1998.

CONCEIÇÃO, A. L. S.; CEDRAZ, K. A.; SANTOS, C. C.; SILVA, M. S.; CARDOSO, R. L. Elaboração e caracterização química, físico-química e sensorial de geléia mista de acerola com goiaba. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer**, v. 8, n. 15, p. 832-841, 2012.

DE ANGELIS, M.; DI CAGNO, R.; HUET, C.; CRECCHIO, C.; FOX, P. F.; GOBBETTI, M. Heat shock response in *Lactobacillus plantarum*. **Appl Environ Microbiol.** v.70, n. 3, p. 1336-1346, 2004.

DE PEE, S.; WEST, C. E.; MUHILAL, KARYADI, D.; HAUTVAST, J. G. Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark-green leafy vegetables. **Lancet.** v. 346, p. 75-81, 1995.

DE VRIES, M. C.; VAUGHAN, E. E.; KLEEREBEZEM, M.; DE VOS, W. M. *Lactobacillus plantarum* e survival, functional and potential probiotic properties in the human gastrointestinal tract. **International Dairy Journal.** v. 16, n. 9, p. 1018-1028, 2006.

DELORME, C. Safety assessment of dairy microorganisms: *Streptococcus thermophiles*. **International Journal of Food Microbiology.** v. 126, n. 3, (Sep 1), p. 274-277, 2008.

DOMINGO, E. C.; VIDIGAL, R. B.; FRANCISCO, K. C.; LOPES, J. P.; FERREIRA, D. S.; OLIVEIRA, K. A. M.; MARTINS, A. D. O.; MENDONÇA, R. C. S. Características físico-química do leite de cabra cru produzido na zona da mata mineira. *Anais... XXIII Congresso Nacional de Laticínios. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes.* v. 61, n. 351, p.122-124, 2006.

DROUAULT, S.; ANBA, J.; CORTIER, G. *Streptococcus thermophilus* Is Able To Produce a β -Galactosidase Active during Its Transit in the Digestive Tract of Germ-Free Mice. **Appl Environ Microbiol.** V. 68, n. 2, p. 938-941, 2002.

DUNNE, C.; O' MAHONY, L.; MURPHY, L.; THORNTON, G.; MORRISSEY, D.; O' HALLORAN, S.; FEENEY, M.; FLYNN, S.; FITZGERALD, G.; DALY, C.; KIELY, B.; O'SULLIVAN, G. C.; SHANAHAN, F.; COLLINS, J. K. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with *in vivo* findings. **American Journal of Clinical Nutrition.** v.73, suppl., p.386S-392S, 2001.

DURÁN, R. M.; PADILLA, B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v.44, n.2, p.101-106, 1993.

Electronic Code of Federal Regulations. e-CFR data is current as of October 13, 2016. Food and drug administration, department of health and human services. Disponível em: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=10896471be7fb6ff7aae0acf00081a82&mc=true&node=pt21.2.101&rgn=div5#se21.2.101> 19. Acesso em: 16/10/2016.

EMBRAPA. **Pesquisa desenvolve primeiro queijo pró biótico de leite de cabra do Brasil.** 08/11/2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/portal/busca-de-noticias/-/noticia/17804876/pesquisa-desenvolve-primeiro-queijo-pro-biotico-de-leite-de-cabra-do-brasil>> Acesso em: 31/01/2017.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA GADO DE LEITE). 2008. **Estatística do leite.** Disponível em: <[HTTP://www.cnppl.embrapa.br](http://www.cnppl.embrapa.br)>. Acesso em: 07/01/2017.

EPE, B. Genotoxicity of singlet oxygen. **Chemico-Biological Interactions.** v. 80, p. 239-260, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT**, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#home>>. Acesso em: 27/04/2016.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición.** 1997, 335 p. Universidad de Chile - Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos - Santiago, Chile. AMAYA. D. R. Analisis de carotenoides, Capitulo. 18, p. 231-241. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/010/ah833s/Ah833s20.htm>>. Acesso em: 18/12/2016.

FAO. Food and Agriculture Organizaton of the United Nations. **Summary of Food and Agriculture Statistics 2011.** Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acessado em 07/01/17.

FAO. MILK and dairy products in human nutrition. 2013. P. 404. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/018/i3396e/i3396e.pdf>>. Acesso em: 07/01/2017.

FAO. **Tabelas de composição de alimentos da América Latina.** 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org/infoods/infoods/tablas-y-bases-de-datos/america-latina/es/>>. Acesso em: 12/10/15.

FAO/OMS. **Human Vitamin and Mineral Requirements**. In: Report 7th Joint FAO/OMS Expert Consultation. Bangkok, Thailand, 2001. xxii + 286p. Disponível em:<<http://www.fao.org/3a-y2809e.pdf>> Acesso em: 23/01/17.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria: **Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 2001 [cited 2005 Dec 15]**. Available from: ftp://ftp.fao.org/esn/food/probio_report_en.pdf.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Tecnología de la producción caprina**. Santiago: FAO, 1987. 242 p.

FLORA, A. P.; BRUGGER, B. P.; SANTOS, F. R.; NEGRÃO, R. G. **Microbiologia do leite fermentado**. 2010. Disponível em:<<http://www.artigosonline.com.br/microbiologia-do-leite-fermentado/>>. Acesso em: 07/01/2017.

FOLEGATTI, M. I. S.; MATSUURA, F. C. A. U. Produtos. In: RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A. K.; OLIVEIRA, J. R. P. (Ed.). **A cultura da aceroleira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. p. 164-184.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; McSWEENEY, P. L. H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen, p.587, 2000.

FRANCIS, F. J. Food Colorants: anthocyanins. **Food Science and Nutrition**. v. 28, p. 273-314, 1989.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; CARVALHO, J. C. A. P. Probióticos - Revisão. **Revista Higiene Alimentar**, v. 20, n. 142, p. 22-33, 2006.

FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. **Progress in Lipid Research**. v. 43, n. 3, p. 228-265, 2004.

FREITAS, C. A. S.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; SOUSA, P. H. M. acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 12, n. 4, p. 395-400, 2006.

FUFOSE. Functional Food Science in Europe. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. **British Journal of Nutrition**. v. 81, S1-S27, 1999.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative Methods for anthocyanins: 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberries juices. **Journal of Food Science**. v. 33, p. 78-83, 1968.

FURTADO, A. A. L.; PAGANI, M. M.; SOARES, C. M.; JÚNIOR, M; F.; CABRAL, L. M. C. Pasteurização da polpa de acerola cultivada sob sistema orgânico. Rio de Janeiro: **Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2009. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado técnico, 149).**

FURTADO, A. A. L.; PAGANI, M. M.; SOARES, C. M.; JÚNIOR, M; F.; CABRAL, L. M. C. Pasteurização da polpa de acerola cultivada sob sistema orgânico. Rio de Janeiro: **Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2009. (Embrapa Agroindústria de Alimentos. Comunicado técnico, 149).**

G-ALEGRÍA E, LÓPEZ, I.; RUIZ, J. I.; SÁENZ, J.; FERNÁNDEZ, E.; ZARAZAGA, M.; DIZY, M.; TORRES, C.; RUIZLARREA, F. High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. **FEMS Microbiol Lett**. v. 230, n. 1, p. 53-61, 2004.

GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, M. E. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; MACHADO, T. A. D.; SOUZA, E. L. Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. v. 63, n. 8, p. 947-956, 2012.

GEORGIEVA, R.; ILIEV, I.; HAERTLÉ, T.; CHOBERT, J. M.; IVANOVA, I.; DANOVA, S. Technological properties of candidate probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. **International Dairy Journal**. v. 19, n. 11, p. 696-702, 2009.

GEROSA, S.; SKOET, J. Milk availability e Trends in production and demand and medium-term outlook. Rome (Italy): FAO, **United Nations**. 2012.

GIRAFFA, G.; CHANISHVILI, N.; WIDYASTUTI, Y. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. **Research in Microbiology**. v. 161, n. 6, p. 480-487, 2010.

GIROUX H. J.; GRANDPRÉ, G. DE.; FUSTIER, P.; CHAMPAGNE, C. P.; ST-GELAIS, D.; LACROIX, M.; BRITTEN, M. Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. **Dairy Science & Technology**. v. 93, p.241-254, 2013. DOI 10.1007/s13594-013-0119-4.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV–visible spectroscopy. In: Wrolstad, R.E. (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. Wiley, New York. 2001.

GOMES, F. O. **Elaboração de “shake” à base de pó da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) verde, aveia (*Avena sativa* L.), linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e leite**. 2011, 101 p. Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação de Mestrado em Alimentos e Nutrição da UFP, (Mestre em Alimentos e Nutrição). 2011.

GOMES, J. C. **Alimentos Funcionais. In: Legislação de alimentos e bebidas**. Viçosa: UFV, 2007. 635p. Cap.7, p. 506-516.

GONÇALVES, M. M. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo Quark simbiótico**. 2009. 76 p. Tese (Doutorado), Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

GUEIMONDE, A.; REYES-GAVILÁN, C. G. L.; SÁNCHEZ, B. Stability of lactic acid bacteria in foods and supplementes. 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.

GUERIN, J.; PETIT, J.; BURGAIN, J.; BORGES, F.; BHANDARI, B.; PERROUD, C.; DESOBRY, S.; SCHER, J.; GAIANI, C. *Lactobacillus rhamnosus* GG encapsulation by spray-drying: Milk proteins clotting control to produce innovative matrices. **Journal of Food Engineering**. v. 193, p. 10-19, 2017.

Guidance for Industry: A Food Labeling Guide (14. Appendix F: Calculate the Percent Daily Value for the Appropriate Nutrients). January 2013. Disponível em:<<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/LabelingNutrition/ucm064928.htm>>. Acesso em: 16/10/2016.

GUO, C.; YANG, J.; WEI, J.; LI, Y.; XU, J.; JIANG, Y. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, Washington, v. 23, n. 12, p. 1719-1726, 2003.

GUTTERIDGE, J. M. C.; Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. **Clinical Chemistry**. v. 41, n.12, p.1819-1828, 1995.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C. In: **Reactive species can be poisonous, in Free Radicals in Biology and Medicine**. 4th ed.. Oxford University Press; New York: 2007. p. 440-487.

HASSINEN, J. B., DURBIN, G. T., TOMARELLI, R. M. E BERNHART, F. W. The minimal nutritional requirements of *Lactobacillus bifidus*. **Journal of Bacteriology**. v. 62, p. 771-777, 1951.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.; PRUDENCIO-FERREIRA, S H. Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**. v.18, n.5, 2005.

HELLER, K.J.; BOCKELMANN, W.; SCHREZENMEIR, J.; DeVRESE, M. Cheese and its potential as a probiotic food. In: FARNWORTH, E.R., ed. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC, 2003. p. 203-225.

HOLS, P.; HANCY, F.; FONTAINE, L.; GROSSIORD, B.; PROZZI, D.; LEBLONDBOURGET, N.; BERNARD DECARIS, B.; ALEXANDER BOLOTIN, A.; CHRISTINE DELORME, C.; EHRLICH, D.; GUÉDON, E.; MONNET, V.; RENAULT, P.; KLEERREBEZEM, M. New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative genomics. **FEMS Microbiological Reviews**, v.29, p.435-463, 2005.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJORKROTH, J.; SHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.2, p.365S-373S, 2001.

HUME, E. M.; KREBS, H. A. Vitamin A Requirement of Human Adults. An Experimental Study of Vitamin A Deprivation in Man. **Medical Research Council Special Report Series No. 264**. London: His Majesty's Stationery Office. 1949.

IAL. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 1020p.

IBGE. Instituto Brasileiro de geografia e estatística. **Produção da pecuária Municipal 2015**, V. 43. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em: 01/03/2017.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de **Dados Agregados. Pesquisas, variáveis e tabelas. Censo Agropecuário**. [Rio de Janeiro, 2012]. Disponível

em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?e=v&p=CA&z=t&o=24>>. Acesso em: 25/01/2016.

IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Fermented and non-fermented milk products. detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Brussels: **International Dairy Federation**, [Bulletin of the IDF, 306]. 1995.

INCAP. **Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica**./INCAP/ Menchú, MT (ed); Méndez, H. (ed). Guatemala: INCAP/OPS, 2007. 2ª. Edición.

Indicadores: Leite e Derivados. – Ano 6, n. 47 (Out/2015) – Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2015.

IOM. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington, DC: **National Academy Press**, 2001.

IOM. INSTITUTE OF MEDICINE. **Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, DC: National Academy Press, 2000.

JACOB, R. A, SOTOUDEH, G. Vitamin C function and status in chronic disease. **Nutr Clin Care**. v. 5, p. 66-74, 2002.

JACOB, R. A.; BURRI, B. Oxidative damage and defense. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 63, n. 6, p. 985-990, 1996.

JALAL F.; NESHEIM, M. C.; AGUS, Z.; SANJUR, D.; HABICHT, J. P. Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of beta-carotene, fat intake, and anthelmintic drug treatment. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 68, p. 623-629, 1998.

JAYARAJAN, P.; REDDY, V.; MOHANRAM, M. Effect of dietary fat on absorption of β -carotene from green leafy vegetables in children. **Indian Journal of Medical Research**. v. 71, p. 53-56, 1980.

KASIMOGLU, A.; GÖNCÜÜOĞLU, M.; AKGÜN, S. Probiotic White cheese with *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Dairy Science**. v. 14, p. 1067-1073, 2004.

KIMURA, M.; RODRIGUEZAMAYA, D. B. AND GODOY, H. T. Assessment of the saponification step in the quantitative determination of carotenoids and provitamins A. **Food Chem.** v. 35, p. 187-195, 1990.

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

KONRAD, M.; HERNANDEZ, F. B. T.; GENEROSO, E. C. S. Qualidade de frutos de aceroleira sob diferentes sistemas de irrigação na região da alta paulista, SP. In: **XXXI Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola**, 2002, Salvador. Anais... Salvador: 2002, CD Rom.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v.45, p.1390-1393. 1997.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v.45, p.1390-1393. 1997.

LEE, K. G.; MITCHELL, A. E.; SHIBAMOTO, T.; Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** v.48, p.4817–4820.2000.

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. Handbook of probiotics. **New York: Wiley**, p.211, 1999.

LES FORMAGES DE CHÉVRE. O setor de cabra francês em números. 2017. Disponível em:<<http://www.fromagesdechevre.com/chiffres-cles/>>. Acesso em: 17/06/2017.

LIMA, M. P. R; ALBUQUERQUE, S. S. M. C. FORMULAÇÃO E ELABORAÇÃO DE QUEIJO TIPO *petit suisse* ADICIONADO DE POLPA DE FRUTAS REGIONAIS. **XV Congresso de Iniciação Científica da UFPE**, 29 a 31 de outubro de 2007, 2007.

LIMA, R. M. T. **Avaliação da estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola orgânica pasteurizada e não-pasteurizada.** 2010. 94 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da UFC). 2010.

LIMA, R. M. T.; FIGUEIREDO, R. W.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RODRIGUES, C. S. Estabilidade química, físico-química e microbiológica de polpas de acerola pasteurizadas e não-pasteurizadas de cultivo orgânico. **Ciência Rural**. v.42, n.2, p.367-373, 2012.

LIMA, V. L. A. G.; MUSSER, R. S.; LEMOS, M. A. et al. Análise conjunta das características físico-químicas de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) do banco ativo de germoplasma em Pernambuco. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 17., 2002a, Belém, Anais... Belém: SBF, 2002. CD-ROM.

LO CURTO, A.; PITINO, I.; MANDALARI, G.; DAINITY, J. R.; FAULKS, R. M.; WICKHAM, M.S.J. Survival of probiotic *lactobacilli* in the upper gastrointestinal tract using an in vitro gastric model of digestion. **Food Microbiology**. v.28, p.1359-1366, 2011.

MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; SANTOS, G. M.; SILVA, D. S.; FERNANDES, A. G.; PRADO, G. M. Efeito do processamento sobre componentes do suco de acerola. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 1, p. 130-134, 2007.

MALIK, K. A. Freeze-drying of microorganisms using a simple apparatus. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v. 8, p. 76-79, 1992.

MALIK, K. A. Long-term preservation of some Rhodospirillaceae by freeze-drying. **Journal of Microbiological Methods**. v.8, 273-280, 1988.

MALIK, K. A. Preservation of Knallgas bacteria_9 In *Proceedings of Vth International Fermentation Symposium*, ed Dellway, H. p. 180. **Bonn and Berlin: Westkreuz Druckerei and Verlag**. 1976.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **PORTARIA Nº - 58, DE 30 DE AGOSTO DE 2016**. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de acerola. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/documentos/01_09-secao-1-portaria-58.pdf>. Acesso em: 24/06/2017.

MARINO, N. L. **Acerola, a cereja tropical**. São Paulo: Nobel, 1986. 94 p.

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.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Avaliação sensorial de queijo *petit suisse* potencialmente probiótico adicionado de diferentes gomas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 13, Ribeirão Preto, 2005. **Resumos**. São Paulo: USP, 2005. 1CD.

MATHARA, J. M.; SCHILLINGER, U.; KUTIMA, P. M., MBUGUA, S. K.; GUIGAS, C.; FRANZ, C.; HOLZAPFEL, W. H. Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Maasai traditional fermented milk products in Kenya. **Current Microbiology**. v. 56, n. 4, p. 315-321, 2008.

MATSUURA, F. C. A. U. **Processamento e caracterização de suco integral concentrado congelado de acerola**. Campinas, 1994. 141p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Capinas, 1994.

MATSUURA, F. C. A. U.; ROLIM, R. B. Avaliação da adição de suco de acerola em suco de abacaxi visando à produção de um "*blend*" com alto teor de vitamina C. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.24, n. 1, p. 138-141, 2002.

MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; SILVA, L. F. M. Suco de acerola microfiltrado: avaliação da vida de prateleira. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.24, n. 2, p.293-297, 2004.

MEILGAARD, M. C.; CIVILLE, G. V.; CARR, B.T. **Sensory evaluation techniques**. 4.ed. Boca Raton, FL: CRCPress, 2007.

MENDONÇA, V.; MEDEIROS, L. F. **Culturas da aceroleira e do maracujazeiro**. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semiárido. Departamento de Ciências Vegetais, 2011. (Boletim Técnico, 4).

MICOZZI, M. S.; BROWN, E. D.; EDWARDS, B. K.; BIERI, J. G.; TAYLOR, P. R.; KHACHIK, F.; BEECHER, G. R.; SMITH, J. C. Plasma carotenoid response to chronic intake of selected foods and β -carotene supplements in men. **The American Journal of Clinical Nutrition**. v. 55, p. 1120-1125, 1992.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P. R.; VAN BEEK, T. A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, Washington, v. 85, n. 2, p. 231-237, 2004.

MORGADO, F. E. F.; BRANDÃO, S. C. C. Diferença tecnológica comparativa na fabricação de queijo tipo quark obtido pelo método de ultrafiltração direta do leite em comparação com o

processo tradicional. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 47, n. 279/281, p.104-108, 1992.

MOURA, C. F. H.; ALVES, R. E.; PAIVA, J. R. et al. Avaliação de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* D.C.) na região da Chapada do Apodi-CE. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 17., 2002, Belém, Anais... Belém: SBF, 2002. CD-ROM.

MULLAN, W. M. A. Starter Cultures: Importance of Selected Genera. **Reference Module in Food Science, from Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition)**, 2014, p.515-521, 2014.

MULLAN, W. M. A. Use of starter concentrates in fermented dairy product manufacture. [On-line]. 2006. Disponível em: <<https://www.dairyscience.info/index.php/cheese-starters/108-starter-concentrates.html>> . Acessado em: 22/06/2017.

MUNDIM, S. A. P. **Elaboração de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina**. Escola de Química Universidade Federal do Rio de Janeiro 2008.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; JÚNIOR, J. F. S. Efeitos do Estádio de Maturação dos Frutos nas Características Físico-Químicas de Acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indicators of Kenyan Black Teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.74, p. 209-215. 1997.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavanol Composition and Caffeine Content of Green Leaf as Quality Potential Indicators of Kenyan Black Teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.74, p. 209-215. 1997.

OLALLA, M.; RUIZ-LÓPEZ, D.; NAVARRO, M.; ARTACHO, R.; CABRERA, C.; GIMÉNEZ, R.; RODRIGUEZ, C.; MINGORANCE, R. Nitrogen fractions of Andalusian goat milk compared to similar types of commercial milk. **Food Chemistry**. v. 113, p. 835-838, 2009.

OLIVEIRA, L S.; RUFINO, M. S. M.; MOURA, C. F. H.; CAVALCANTI, F. R.; ALVES, R. E.; MIRANDA, M. R. A. The influence of processing and long-term storage on the antioxidant metabolism of acerola (*Malpighia emarginata*) purée. **Brazilian Journal of Plant**

Physiology. V 23, n.2, p.151-160, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202011000200007>.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, C. E. V.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E., MADUREIRA, A. R. M. F.; CONCEIÇÃO, M. L.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**. 64, 241-247, 2014.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 6, p. 370-379, 2012.

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

OSMARI, E. K. **O leite de cabra como alimento funcional**. 2006. Disponível em: <<http://www.paginarural.com.br/artigo/1361/o-leite-de-cabra-como-alimento-funcional>>. Acesso em: 07/01/2017.

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.

PADILHA, M.; MORALES, M. L. V.; VIEIRA, A. D. S.; COSTA, M. G. M.; SAAD, S. M. I. A prebiotic mixture improved *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* gastrointestinal *in vitro* resistance in *petit-suisse*. **Food & Function**. v. 7, p. 2312-2319, 2016.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam. v. 68, p. 88-113, 2007.

PARK, Y. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. **Small Ruminant Research**. v. 14, p.151-159, 1994.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; AH KANG, S.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**. v. 100, n. 6, p. 1171-1185, 2006.

PEPPLER, H. J., PERLMAN, D. Microbial Technology Microbial Process. **Academic Press**, New York, 59-91, 1979.

PEREIRA, E. P. R.; CAVALCANTI, R. N.; ESMERINO, E. A.; SILVA, R.; GUERREIRO, L. R. M.; CUNHA, R. L.; BOLINI, H. M. A.; MEIRELES, M. A.; FARIA, J. A. F.; CRUZ, A. G. Effect of incorporation of antioxidants on the chemical, rheological, and sensory properties of probiotic petit suisse cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 99, n. 3, p. 1762-1772, 2016b.

PEREIRA, E. P. R.; FARIA, J. A. F.; CAVALCANTI, R.N.; GARCIA, R.K.A.; SILVA, R.; ESMERINO, E. A.; CAPPATO, L. P.; ARELLANO, D. B.; RAICES, R. S. L.; SILVA, M. C.; PADILHA, M. C.; MEIRELES, M. A.; BOLINI, H. M. A.; CRUZ, A. G. Oxidative stress in probiotic Petit Suisse: Is the jabuticaba skin extract a potential option? **Food Research International**. v. 81, p. 149-156, 2016a.

PEREIRA, L. C. **Influência da associação de culturas probióticas sobre as características de queijo *petit-suisse***. 2007. 94 p. Faculdade de Ciências Farmacêuticas (Universidade de São Paulo-USP), Dissertação (Mestrado em Tecnologia em Alimentos). 2007.

PEREIRA, L. C.; SOUZA, C. H. B.; BEHRENSB, 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.

PIETERSE, B.; LEER, R. J.; SCHUREN, F. H.; VAN, D. E. R.; WERF, M. J. Unravelling the multiple effects of lactic acid stress on *Lactobacillus plantarum* by transcription profiling. **Microbiology-Sgm**. v. 151, (PT. 12), p. 3881-3894, 2005.

PIMENTEL, M. L.; MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F.; SILVA JÚNIOR, A. Influência do processamento sobre a vitamina C do suco da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 23, n. 1, p. 143-146, 2001.

PIMENTEL, M. L.; MAIA, G. A.; OLIVEIRA, G. S. F.; SILVA JÚNIOR, A. Influência do processamento sobre a vitamina C do suco da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 23, n.1, p.143-146, 2001.

PINEDA-VADILLO, C.; NAU, F.; CHEYNIER, V.; MEUDEC, E.; SANZBUENHOMBRE, M.; GUADARRAMA, A.; TOTH, T.; CSAVAJDA, E.; HINGYI, H.; KARAKAYA, S.;

SIBAKOV, J.; CAPOZZI, F.; BORDONI, A.; GUERIN-DUBIARD, C.; DUPONT, D. In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. **Food Research International**. v. 88, Part B, 2016.

PINEDAVADILLO, C.; NAU, F.; CHEYNIER, V.; MEUDEC, E.; SANZBUENHOMBRE, M.; GUADARRAMA, A.; TOTH, T.; CSAVAJDA, E.; HINGYI, H.; KARAKAYA, S.; SIBAKOV, J.; CAPOZZI, F.; BORDONI, A.; GUERIN-DUBIARD, C.; DUPONT, D. In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. **Food Research International**. v. 88, Part B, 2016.

PINTO, L. I. F.; ZAMBELLI, R. A.; SANTOS-JUNIOR, E. C.; PONTES, D. F. Desenvolvimento de Cerveja Artesanal com Acerola (*Malpighia emarginata* DC) e Abacaxi (*Ananas comosus* L. Merrill). **Revista Verde**. v. 10, n. 4, p. 67-71, 2015.

PRUDENCIO, I. D.; ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO, E. S.; GRIS, E. F.; TOMAZI, T.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Petit suisse manufactured with cheese whey retentate and application of betalains and anthocyanins. **Food Science and Technology**. v. 41, p. 905-910, 2008.

QUEIJOS NO BRASIL. **Tudo sobre Queijo; Queijo Petit Suisse**. 02 Junho 2015. Disponível em: <<https://www.queijosnobrasil.com.br/portal/tudo-sobre-queijo-queijos-no-brasil/116-queijo-petit-suisse>>. Acesso em: 25/01/2017.

QUEIROGA, R. C. R. E.; SANTOS, B. M.; GOMES, A. M. P.; MONTEIRO, M. J.; TEIXEIRA, S. M.; SOUZA, E. L.; PEREIRA, C. J. D.; PINTADO, M. M. E. Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. **Food Science and Technology**. v. 50, n. 2, p. 538-544, 2013.

RAO, A. V.; RAO, L. G. Carotenoids and human health. **Pharmacological Research**. v. 55, n. 3, p. 207-216, 2007.

REDDY, V.; SRIKANTIA, S. G. Serum vitamin A in kwashiorkor. **American Journal of Clinical Nutrition**. 18, p. 105-109, 1966.

RIBEIRO, S. D. A.; RIBEIRO, A. C. Situação atual e perspectivas da caprinocultura de corte para o Brasil. **Anais do Simpósio Paulista de Caprinocultura**. Jaboticabal, SP, p. 9-27, 2005.

RICHTER, R. L.; VEDAMUTHU, E. R. Milk and milk products. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Ed.). **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4.ed. Washington, DC: American Public Health Association APHA, p. 483-496, 2001.

ROCK, C. L.; LOVALVO, J. L, EMENHISER, C.; RUFFIN, M. T.; FLATT, S. W.; SCHWARTZ, S. J. Bioavailability of β -carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women. **Journal of Nutrition**. v. 128, p. 913-916, 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 1999. 64p.

ROELS, O. A.; DJAENI, S.; TROUT, M. E.; LAUW T. G.; HEATH, A.; POEY, S. H.; TARWOTJO, M. S.; SUHADI, B. The effect of protein and fat supplements on vitamin A deficient children. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 12, p. 380-387, 1963.

ROELS, O. A.; TROUT, M.; DUJACQUIER, R. Carotene balances on boys in Ruanda where vitamin A deficiency is prevalent. **Journal of Nutrition**. v. 65, p. 115-127, 1958.

ROHENKOHL, J. E.; CORRÊA, G. F.; AZAMBUJA D F.; FERREIRA, F. R. O agronegócio de leite de ovinos e caprinos. **Indic. Econ. FEE**, Porto Alegre, v. 39, n. 2, p. 97-114, 2011.

ROLIM, F. R. L.; SANTOS, K. M. O.; BARCELOS, S. C.; EGITO, A. S.; RIBEIRO, T. S.; CONCEIÇÃO, M. L.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, M. E. G.; QUEIROGA, R. C. R. E. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. **Food Science and Technology**. v. 63, n. 2, p. 807-813, 2015.

ROSA, J. S.; GODOY, R. L. O.; OIANO-NETO, J.; CAMPOS, R. S.; MATTA, V. M.; FREIRE, C. A.; SILVA, A. S.; SOUZA, R. S. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografia líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciencia e tecnologia de alimentos**. v. 27, n. 4, p. 837-846, 2007.

RUAS-MADIEDO, P.; REYES-GAVILÁN, C. G. D. L. Methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 3, p. 843-856, 2006.

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de; MORAIS, S. M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{o+}. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007a. 4 p. (**Embrapa Agroindústria Tropical**. Comunicado técnico, 128).

RUFINO, M. do S. M.; ALVES, R.E.; BRITO, E. de S.; MORAIS, S.M. de; SAMPAIO, C. de G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007b. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 127).

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

SAAVEDRA, J. M.; BAUMAN, N. A.; OUNG, I.; PERMAN, J. A.; YOLKEN, R. H. Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. **The Lancet**. 344, (8929), p. 1046-1049, 1994.

SAITO, T. **Efeito da adição de extrato de casca de jabuticaba nas características físico-químicas e sensoriais de queijo *Petit-Suisse***. 2014. 115 p. Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Espírito Santo, UFES, Brasil. 2014.

SAMPAIO, C.G.; MORAIS, S. M. Quality, Bioactive Compound Content, and Antioxidant Activity in Fruits of Brazilian Acerola Clones. **Department of Physics and Chemistry** – UECE - Fortaleza – CE – Brazil. 2009. M.S.M. Rufino, R.E. Alves and E.S. Brito Postharvest Physiology and Technology Lab. Embrapa Tropical Agroindustry Fortaleza – Ceará Brazil. SANCHEZ-MORENO, C.; PLAZA, L.; ANCOS, B.; CANO, M.P. Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. **Journal of Food Agricultural and Food Chemistry**. n.51, p.647-653, 2003.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, Amsterdam, v.8, p.341- 347, 1998.

SANDERS, M. E. Probiotics: considerations for human health. **Revista de Nutrição**, New York. v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SANDERS, M.E.; KLAENHAMMER, T. R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 319-331, 2001.

SANTOS, K. M. O. dos.; OLIVEIRA, I. C. de.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: The effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 97, n. 4, p.1108-1115, 2017. doi: 10.1002/jsfa.7836.

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 acid as 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: 08/01/2017.

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, 2009. 1CD.

SANTOS, L. C. M. **Avaliação da qualidade microscópica e microbiológica de polpa de acerola antes e depois de intervenção para treinamento dos manipuladores**. 2015. 36 p. TCC apresentado ao curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de São João Del Rei (Bacharel em Engenharia de Alimentos). 2015.

SANTOS, L. C.; CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação! **SynThesis Revista Digital FAPAM**, Pará de Minas, n.1, 2009.

SANTOS, M. F. G.; MAMEDE, R. V. S.; RUFINO, M. S. M.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E. Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**. v. 4, p. 591-602, 2015. doi:10.3390/antiox4030591.

SAXELIN, M.; GRENOV, B.; SVENSSON, U.; FONDÉN, R.; RENIERO, R.; MATTILA-SANDHOLM, T. The tecnology of probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n. 12, p. 387-392, 1999.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. p. 2073 - 2085, 2000.

SCHIMIDT, C. P. A.; PEREIRA, C.; ANJOS, G.; LUCAS, S. D. M. Formulação e avaliação sensorial hedônica de iogurte com polpa de acerola. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia**. v. 1, n. 5, p. 10-14, 2012.

SEGTOEWICK, E. C. S.; BRUNELLI, L. T.; FILHO, W. G. V. Avaliação físico-química e sensorial de fermentado de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**. v. 16, n. 2, p. 147-154, 2013.

SEMENSATO, L. R.; PEREIRA, A. S. Características de frutos de genótipos de aceroleira cultivados sob elevada altitude. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 35, n. 12, p. 2529-2536, 2000.

SHAH, N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v.83, n. 4, p. 894-907, 2000.

SHAMIR, R., MAKHOUL, I. R., ETZIONI, A., SHEHADEH, N. Evaluation of a diet containing probiotics and zinc for the treatment of mild diarrheal illness in children younger than one year of age. **Journal of the American College of Nutrition**. v. 24, p. 370-375, 2005.

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, M. L. S.; MENEZES, C. C.; PORTELA, J. V. F.; ALENCAR, P. E. B. S.; CARNEIRO, T. B. Teor de carotenoides em polpas de acerola congeladas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 8, n. 1, p. 170-173, 2013.

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: Livraria Varela, 2007. 552p.

SILVA, R. A.; LIMA, M. S. F.; VIANA, J. B. M.; BEZERRA, V. S.; PIMENTEL, M. C. B.; PORTO, A. L. F.; CAVALCANTI, M. T. H.; FILHO, J. L. L. Can artisanal “Coalho” cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food? **Food Chemistry**. v. 135, n. 3, p. 1533-1538, 2012.

SILVA, V. A. **Efeito de pré-tratamentos químicos na taxa de secagem de acerola em monocamada**. João Pessoa, 1998. 92p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba.

SILVA, W. S. da. **Qualidade e Atividade Antioxidante em Frutos de Variedades de Aceroleira**. Fortaleza, 2008. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Curso de Pós - Graduação em Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Ceará - UFC.

SILVEIRA, E. R.; MORENO, F. S. Natural retinoids and β -carotene: from food to their actions on gene expression. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 9, n. 8, p. 446-456, 1998.

SLUIS, A.A.; DEKKER, M.; JAGER, A.; JONGEN, W. M. F. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year, and storage conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p. 3606-3613, 2001.

SOARES, E. C.; OLIVEIRA, G. S. F.; MAIA, G. A. M. et al. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) pelo processo “foam-mat”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.21, n.2, p.164-170, 2001.

SONGISEPP, E.; KULLISAAR, T.; HÜTT, P.; ELIAS, P.; BRILENE, T.; ZILMER, M.; MIKELSAAR, M. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. **Journal of Dairy Science**, Sauoy, IL, v. 87, n. 7, p. 2017-2023, 2004.

SOUZA, K. O.; MOURA, C. F. H.; BRITO, E. S.; MIRANDA, M. R. A. Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. Flor Branca, Florida Sweet and BRS 3661. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, n. 2, p. 294-304, 2014.

SOUZA, K. O.; MOURA, C. F. H.; BRITO, E. S.; MIRANDA, M. R. A. Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. Flor Branca, Florida Sweet and BRS 3661. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, n. 2, p. 294-304, 2014.

SOUZA, L. S.; FONSECA, A. A. O.; SANTA-BÁRBARA M. F.; TEIXEIRA, M. B.; SANT’ANA, R. S. Processamento e caracterização de um “blend” de jenipapo e acerola. **Journal of Fruits and Vegetables**. v. 1, n. 1, p. 31-34, 2015.

STROHECKER, R., HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madrid: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

SURONO, S.; HOSONO, A. Fermented Milks | Starter Cultures. 2011. SEAMEO TROPED RCCN University of Indonesia, Jakarta, Indonesia. **Encyclopedia of Dairy Sciences** (Second Edition), p. 477-482.

SUSKOVIC, J.; KOS, B.; BEGANOVIC, J.; PAVUNC, A. L.; HABKANIC, K.; MATOSIC, S. Antimicrobial Activity - The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. **Food Technology and Biotechnology**. v. 48, n. 3, p. 296-307, 2010.

SZCZESNIAK, A. S. Sensory texture profiling historical and scientific perspectives. **Food Technology**. v. 52, n. 8, p. 54-57, 1998.

TAITZ, L.; AMITAGE, B. Goat's milk for infants and children. **British Medical Journal**. n. 288, p. 428-429, 1984.

TANG, G.; QIN, J.; DOLNIKOWSKI, G. G.; RUSSELL, R. M. Vitamin A equivalence of β -carotene in a woman as determined by a stable isotope reference method. **European Journal of Nutrition**. v. 39, p.7-11, 2000.

TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. de; Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revistas Ceres**. v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.

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

TIRAPGUI, J. **Nutrição: fundamentos e aspectos atuais**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2006. TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GIL, M. I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A. L.; PIERCE, B. H.; KADER, A. A. HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, na plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.49, p. 4748-4760, 2001.

TORRONEN, R.; LEHMUSAHO, M.; HAKKINEN, S.; HANNINEN, O.; MYKKANEN, H. Serum β -carotene response to supplementation with raw carrots, carrot juice or purified β -carotene in healthy non-smoking women. **Nutrition Research**. v. 16, p. 565-575, 1996.

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

UNIDADES DE PRODUTOS PARA FRUTICULTURA - BASF. Frutas para exportação. **Atualidades Agrícolas**, n. 6, p. 16-29, 2006.

USDA. United States Department of Agriculture. **National Nutrient Database for Standard Reference**, Release 28. 2016. Disponível em: <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2120?manu=&fgcd=&ds=>>. Acesso em: 23/01/2016.

VAN HET HOF, K. H.; GARTNER, C.; WEST, C. E.; TIJBURG, L. B. Potential of vegetable processing to increase the delivery of carotenoids to man. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**. v. 68, p. 366-370, 1998.

VANIN, C. R. **Araçá amarelo: atividade antioxidante, composição nutricional e aplicação em barra de cereais**. 2015. 117 p. Universidade Tecnológica Federal do Paraná Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos. 2015.

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**. v. 31, p. 95-118, 2006.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia punicifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**. v. 71, n. 2, 195-198, 2000.

VIDAL, R. F. **Qualidade, compostos bioativos e atividade antioxidante de genótipos de mangabeiras (*Hancornia speciosa* gomes) nativos do litoral cearense**. 2010. 92 p. PPGFIT - Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Fitotecnia. 2010.

VIEGAS, R. P. **Leites fermentados probióticos produzidos a partir de bactérias ácido-láticas e adicionados de concentrado protéico de soro lácteo: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais**. 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

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

VIEIRA, A. D. S.; SANTOS, K. M. O.; BARCELOS, S. C.; OLIVEIRA, I. C.; SAAD, S. M. I. **Processamento artesanal de queijo caprino simbiótico tipo *petit-suisse***. Sobral: Embrapa Caprinos, 2014. 7 p. (Embrapa Caprinos. Comunicado Técnico, 141).

VIEIRA, L. M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI-FILHO, J. LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 3, p. 888-897. Epub Sep 09, 2011.

VIEIRA, S. K. V.; AGUIAR, R. A. C.; TEIXEIRA-SÁ, D. M. A. Elaboração de sorvetes a base de polpa de acerola: alimento fonte de vitamina C. **In: SEMIC-2016 V Semana de Iniciação Científica do IFCE**, 2016, Sobral-CE. SEMIC-2016 *Campus* Sobral., 2016. p. 8-8.

VINDEROLA, C. G.; COSTA, G. A.; REGENHARDT, S.; REINHEIMER, J.A. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.12, p.579-589, 2002.

VINSON, J. A.; SU, X.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Chicago, v.49, p. 5315-5321, 2001.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEMA; VAN BOEKEL, M. A. J. S. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.

WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 47, n. 5, p. 1801-1812, 1999.

WÜRTZEN, G. Shortcomings of current strategy for toxicity testing of food chemicals: antioxidants. **Food Chemistry and Toxicology**. Oxford, v.28, n.11, p.743-745, 1990.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. **Journal Agriculture Food Chemistry**. v.49, p. 4083-4089, 2001.

ZACARCHENCO, P. B. **Leites fermentados por *streptococcus thermophilus* adicionados de *lactobacillus acidophilus* e *bifidobacterium longum*: isolamento diferencial dos microrganismos, multiplicação em diferentes condições e efeitos nas características sensoriais dos leites fermentados naturais ou modificados**, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2003.

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

ZHAO, R.; SUN, J.; TORLEY, P.; WANG, D.; NIU, S. Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. New York, v. 24, n. 8, p. 1349-1354, 2008.

ZHENG, W.; WANG, S.Y.; Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Chicago: v.49, p. 5165-5170, 2001.

ZISU, B.; SHAH, N. P. Effects of pH, temperature, supplementation with whey protein concentrate, and adjuncts cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. **Journal of Dairy Science**. v. 86, p. 3405-3415, 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO DE RECRUTAMENTO “PERFIL DO PROVADOR”

Perfil do Provador

Prezado provador, esta pesquisa levará menos de 5 (cinco) minutos para ser inteiramente respondida.

Sua participação é voluntária, suas respostas não serão vinculadas ao Sr.(a) (ao seu nome) de nenhuma maneira, sendo mantido em sigilo.

Os resultados obtidos serão utilizados para o desenvolvimento de trabalhos científicos, essa pesquisa será conduzida pelo aluno de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos- IFCE-Campus Limoeiro do Norte, Samuel Carneiro de Barcelos.

***Obrigatório**

Perfil sócio-econômico

Critério de inclusão/ Exclusão

1. Idade *

Marcar apenas uma opção.

- (A) <18 *Pare de preencher este formulário.*
- (B) 18 - 29
- (C) 30 - 39
- (D) 40 - 49
- (E) 50 - 60
- (F) >60 *Pare de preencher este formulário.*

Critério de inclusão/ Exclusão

2. Sr.(a) tem intolerância a lactose e/ou histórico de manifestações alérgicas ao leite? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Sim *Pare de preencher este formulário.*
- (B) Não *Ir para a pergunta 3.*

Critério de Inclusão/Exclusão

3. O Sr.(a) Você gosta de queijo? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Sim *Ir para a pergunta 4.*
- (B) Não *Pare de preencher este formulário.*

Perfil sócio-econômico**4. Sexo ****Marcar apenas uma opção*

- (A) Masculino
- (B) Feminino

5. Estado Civil **Marcar apenas uma opção*

- (A) Divorciado
- (B) Viúvo
- (A) União estável
- (B) Solteiro

6. Qual é o seu nível de escolaridade? **Marcar apenas uma opção*

- (A) Pós-Graduação completa
- (B) Pós-Graduação incompleta
- (C) Superior completo
- (D) Superior incompleto
- (E) 2º Grau completo
- (F) 2º Grau incompleto
- (G) 1º Grau completo
- (H) 1º Grau incompleto
- (I) Não alfabetizado

7. Aproximadamente, em que intervalo está situada a renda mensal de sua família? **Marcar apenas uma opção*

- (A) $\leq$ meio salário mínimo vigente no Brasil R\$
- (B) De meio a salário mínimo vigente no Brasil R\$
- (C) De 2 a cinco salários mínimo vigente no Brasil R\$
- (D) De cinco a 10 mínimo vigente no Brasil R\$
- (E) $\geq$ 10 salários mínimos R\$

8. Você se considera um consumidor? **Marcar apenas uma opção*

- (A) Exigente
- (B) Inovador
- (C) Controlado
- (D) Prático
- (E) Econômico

Estudo de mercado

9. Que tipo de produto lácteo o Sr.(a) frequentemente consome? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Iogurtes
- (B) Bebidas lácteas fermentada
- (C) Sorvetes
- (D) Queijo Coalho
- (E) Requeijão
- (F) Queijo Petit-suisse
- (G) Queijo Cremoso
- (H) Queijo Boursin
- (I) Todos os itens
- (J) Outros: _____

Hábitos de consumo de queijo

10. Qual é o leite que o Sr.(a) consome/ou mais consome? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Leite bovino
- (B) Leite Caprino
- (C) Outro: _____

11. Qual o local onde costuma comprar o seu queijo? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Supermercados
- (B) Mercarias
- (C) Pontos de venda de frutas e verduras
- (D) Outros: _____

12. Qual o atributo mais relevante na hora da compra do seu queijo? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Marca
- (B) Qualidade
- (C) Sabor
- (D) Embalagem/aparência
- (E) Valor nutricional
- (F) Ingredientes
- (G) Outros: _____

13. Qual motivo o Sr.(a) atribui ao fato de não consumir mais queijo no seu dia a dia? *

Marcar apenas uma opção

- (A) Preço
- (B) Falta de acesso
- (C) Não tem o hábito
- (D) Outros: _____

14. O que o Sr.(a) acha da qualidade do queijo que compra? **Marcar apenas uma opção*

- (A) Ótima
- (B) Boa
- (C) Regular
- (D) Ruim

15. Frequência de consumo de queijo? **Marcar apenas uma opção*

- (A) De 2 ou mais vezes por semana
- (B) 1 vez por semana
- (C) De 2 ou mais vezes por mês
- (D) 1 vez por mês
- (E) Outro: _____

16. Que tipo de queijo o Sr.(a) tem preferência? **Marcar apenas uma opção*

- (A) Queijo comum
- (B) Queijo probiótico
- (C) Queijo probiótico saborizado com/adição de polpas de frutas; sucos de frutas; outros ingredientes a fim de enriquecimento, etc...
- (D) Queijo simbiótico
- (E) Queijo *light*

17. Qual é o motivo que lhe leva ao consumo de queijo? **Marcar apenas uma opção*

- (A) O benefício à saúde
- (B) Valor nutricional
- (C) Costume
- (D) Sabor
- (E) Outros: _____

Obrigada pela participação!

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE DE ESCLARECIMENTO - TCLE



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO-TCLE

Convidamos o (a) Sr.(a) para participar da avaliação sensorial de queijo petit-suisse potencialmente probiótico sabor acerola, sob a responsabilidade do aluno de mestrado Samuel Carneiro de Barcelos, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus Limoeiro do Norte*. O objetivo da pesquisa é o desenvolvimento de um produto lácteo, queijo *Petit-Suisse* probiótico com ação antioxidante a partir de leite de cabra, potencialmente probiótico utilizando bactéria láctica nativa, adicionado de polpa de acerola.

Para participar desta análise, é necessário ter entre 18 e 60 anos: gostar de produtos lácteos (queijos, bebidas lácteas, entre outros derivados lácteos), não possuir histórico de manifestações alergênicas, intolerância a lactose; não deve estar gripado, resfriado ou indisposto ou ter entrado em contato há menos de 1 hora com materiais e/ou alimentos de cheiro forte.

Sua participação é voluntária e se dará por meio da degustação de amostras de queijo petit-suisse para avaliarmos a aceitação do produto por consumidores potenciais. Sua participação é de suma importância, caso aceite participar, estará contribuindo para o desenvolvimento científico nacional.

Se depois de consentir a sua participação o Sr.(a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer momento da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa.

Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade não será divulgada, sendo mantida em sigilo.

RISCOS

Sua participação na pesquisa implicará em riscos mínimos a sua saúde. Atendendo as condições para participar das análises os provadores poderão participar desta pesquisa com riscos mínimos. Terá riscos para as pessoas que têm intolerância a lactose, por usar como ingrediente predominante o leite, sendo assim, estas não poderão participar da presente pesquisa. Por ventura, poderá ser um risco para pessoas que desconheçam a existência de alguma intolerância ou alergia aos ingredientes usados. Entretanto, se houver algum dano à saúde de algum participante, o mesmo terá todo o auxílio, tanto moral quanto financeiro, necessário para sua recuperação, bem como assistência médica, na unidade de saúde da cidade de Sobral-CE, ficando os responsáveis pela pesquisa encarregado de todo o acompanhamento.

BENEFÍCIOS

Não há nenhum benefício direto, pois de acordo com a legislação vigente

(ANVISA, 2008) preconiza que uma porção diária de queijo petit-suisse ou alimento pronto para o consumo apresente entre 10^8 e 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) do probiótico utilizado, quantidade de microrganismos viáveis que deve ser ingerida diariamente para obtenção do efeito benéfico. Entretanto, o Sr(a) contribuirá para o desenvolvimento de novos alimentos com características sensoriais atrativas e adequadas as expectativas de futuros consumidores.

INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA

NOME: Samuel Carneiro de Barcelos e Prof.^a Dr.^a. Daniele Maria Alves Teixeira Sá.

Telefone: (88)997377842.

Endereço eletrônico: s.c.barcelos.ifce@gmail.com; daneile.teixeira@gmail.com

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará Campus Sobral.

Endereço: Av. Dr. Guarani, 317 - Derby Clube, Sobral - CE.

CEP: 62040-730.

Sobral - Ceará.

Telefones: (88) 3112-8100.

E-mail: s.c.barcelos.ifce@gmail.com

CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Declaro que fui informado sobre o projeto de pesquisa e sobre minha colaboração, e compreendi os objetivos. Por isso, concordo em participar da pesquisa, sabendo que a qualquer momento posso retirar meu consentimento de participação. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via para cada um.

Ciente: _____ Data: ____ / ____ / 2017.
Assinatura do participante

Assinatura do pesquisador responsável
Samuel Carneiro de Barcelos

Assinatura do pesquisador corresponsável
Prof.^a Dr.^a. Daniele Maria Alves Teixeira Sá

Para qualquer questão, dúvidas, esclarecimentos ou reclamações sobre aspectos éticos dessa pesquisa, favor entrar em contato com o Comitê de Ética e Pesquisa Comitê de Ética e Pesquisa - CEP da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA.

Endereço: Av. da Universidade, **Bairro:** Betania, Sobral-CE, nº 850, **CEP:** 62.040-370, **Telefone:** (88) 3677-4271

APÊNDICE C - MODELO DA FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL QUE SERÁ UTILIZADA NAS ANÁLISES DO PRESENTE TRABALHO

Teste de Aceitabilidade e Intenção de Compra

Nome: _____ Data: _____.

Sexo: Masc. () Fem ().

Faixa etária: () 18 a 30 anos; () 31 a 45 anos; () 45 a 60 anos.

Produto: Queijo *Petit-Suisse* com polpa de acerola

Prove a amostra e expresse o quanto você gostou ou desgostou de suas características utilizando a escala abaixo:

- (A) - gostei muitíssimo
- (B) - gostei muito
- (C) - gostei
- (D) - gostei ligeiramente
- (E) - nem gostei, nem desgostei
- (F) - desgostei ligeiramente
- (G) - desgostei
- (H) - desgostei muito
- (I) - desgostei muitíssimo

Nº amostra	Aparência	Sabor	Cor	Textura	Aceitação global



Cite a característica que você mais gostou na amostra e comente:



Cite a característica que você menos gostou na amostra e comente:

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

- (A) - Certamente compraria
- (B) - Provavelmente compraria
- (C) - Talvez compraria
- (D) - Provavelmente não compraria
- (E) - Certamente não compraria

Nº amostra	Intenção de compra

**APÊNDICE D - CONTROLE DO pH DURANTE OS TESTES DE SOBREVIVÊNCIA
DE *L. plantarum* CNPC 003 NOS QUEIJOS *Petit-Suisse* (QPST1 E QPST2)
SUBMETIDOS ÀS CONDIÇÕES GÁSTRICAS E ENTÉRICAS I E II SIMULADAS *in vitro*, APÓS 1, 14 E 28 DIAS DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO E CULTURA
FESCA**

Período (Dias)	Tempo do teste	pH		
		Queijos*		Cultura fresca
		QPST1	QPST2	
1	2 h	2,67 ± 0,03	2,85 ± 0,05	2,69 ± 0,08
	4 h	4,67 ± 0,01	4,91 ± 0,04	5,08 ± 0,10
	6 h	6,24 ± 0,04	5,95 ± 0,14	6,03 ± 0,04
14	2 h	2,85 ± 0,01	2,86 ± 0,04	-
	4 h	4,75 ± 0,02	4,93 ± 0,03	-
	6 h	6,05 ± 0,02	6,22 ± 0,06	-
28	2 h	2,42 ± 0,06	2,43 ± 0,01	-
	4 h	4,53 ± 0,02	4,54 ± 0,02	-
	6 h	6,77 ± 0,06	6,00 ± 0,06	-

(*) QPST1 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico com incorporação de polpa de acerola na matriz do queijo; QPST2 = Queijo *Petit-Suisse* potencialmente probiótico controle: elaborado sem adição da polpa de acerola na matriz do queijo.

(-) Sobrevivência de *L. plantarum* na cultura fresca submetida à condições gástricas e entéricas I e II simuladas *in vitro*, é realizado uma unica vez como controle.