

Comportamento de cepas distintas de *Lactobacillus acidophilus* em queijo *petit-suisse*

Keila Marques Ribeiro, Lucas Campana Pereira, Cíntia Hoch Batista De Souza, Susana Marta Isay Saad

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR, Brasil.

RESUMO. O objetivo do presente trabalho foi avaliar as características de físico-químicas e microbiológicas de queijo *petit-suisse* processado com a adição de duas cepas de *Lactobacillus acidophilus*: LA-14 (potencialmente probiótica) e La-5 (comprovadamente probiótica), utilizando *Streptococcus thermophilus* TA040 como cultura *starter*. Três queijos *petit-suisse* foram preparados: Q1 (controle: TA040), Q2 (TA040 + LA-14) e Q3 (TA040 + La-5). Foram realizadas análises microbiológicas (determinação das populações dos microrganismos La-5, La-14 e TA040) e físico-químicas (umidade e pH) após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento dos produtos a 4±1°C. As populações de *L. acidophilus* oscilaram entre 7,46 e 7,62 log UFC g⁻¹ para La-5 e entre 6,39 e 6,83 log UFC g⁻¹ para LA-14, evidenciando que a sobrevivência de *L. acidophilus* no produto depende de características particulares da cepa. Populações superiores da cultura *starter* foram observadas para Q2 (9,58 - 9,68 log UFC g⁻¹) e Q3 (9,42 - 9,79 log UFC g⁻¹), quando comparadas a Q1 (9,11 - 9,23 log UFC g⁻¹), sugerindo sinergismo entre *L. acidophilus* e o *starter*. A umidade e o pH permaneceram estáveis e não diferiram entre os queijos após o 1º dia de armazenamento (p>0,05). As características peculiares das cepas de *L. acidophilus* determinaram os comportamentos distintos observados nos queijos *petit-suisse*, sendo possível detectar a melhor adaptação da cepa La-5 ao produto, o que resultou em populações significativamente superiores quando comparada a LA-14.

Palavras chave: *Queijo petit-suisse*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, probiótico, alimento funcional.

SUMMARY. Particular behavior of different *Lactobacillus acidophilus* strains in *petit-suisse* cheese. The objective of this study was to evaluate the physico-chemical and microbiological characteristics of *petit-suisse* cheeses manufactured with the addition of two *Lactobacillus acidophilus* strains: LA-14 (potentially probiotic) and La-5 (probiotic culture), using *Streptococcus thermophilus* TA040 as *starter* culture. Three cheese-making trials were prepared: Q1 (control: with TA040), Q2 (with TA040 + LA-14), and Q3 (with TA040 + La-5). Parameters analyzed included microbial counts of probiotic, potentially probiotic and *starter* microorganisms, and physico-chemical parameters (pH and moisture) after 1, 7, 14, 21, and 28 days of storage of the product at 4±1°C. Viable counts of *L. acidophilus* remained between 7.46 and 7.62 log CFU g⁻¹ for La-5, and between 6.39 and 6.83 log CFU g⁻¹ for LA-14. As for the *starter*, higher populations were observed for Q2 (9.58 – 9.68 log CFU g⁻¹) and Q3 (9.42 – 9.79 log CFU g⁻¹), when compared to Q1, which suggests synergism between *L. acidophilus* and the *starter* culture. Moisture and pH values remained stable for cheeses Q1, Q2, and Q3, and no significant differences were detected between cheeses after the first day of storage (p>0.05). Particular features of both *L. acidophilus* strains determined different behavior in *petit-suisse* cheese, and the better adaptation of the La-5 to the product environment was perceptible, since higher populations were observed when compared to LA-14.

Key words: *Petit-suisse* cheese, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, probiotic, functional food.

INTRODUÇÃO

A preocupação com relação à alimentação vem mudando muito nas últimas décadas, o que tem estimulado a inovação e o desenvolvimento de novos produtos pela indústria alimentícia. Dentre estes alimentos destacam-se os alimentos contendo probióticos. A definição aceita internacionalmente para probióticos é que eles são microrganismos vivos, ad-

ministrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (1). A cepa La-5 de *L. acidophilus* tem sido largamente empregada em estudos com alimentos probióticos, uma vez que é comprovadamente probiótica (2). A cepa LA-14, também pertencente a este gênero, apresenta características que a torna potencialmente probiótica, com perspectivas de aplicação em alimentos para atuar beneficentemente sobre a saúde. Dentre as características probióticas que

esta cepa apresenta, pode-se citar o aumento de IgG, observado em um estudo duplo cego, controlado por placebo, com voluntários saudáveis, após a segunda administração (3). Adicionalmente, a referida cepa revelou-se produtora de bacteriocinas (4).

Diversos autores vêm sugerindo possíveis efeitos benéficos de culturas probióticas sobre a saúde do hospedeiro (5,6). Entretanto, o potencial probiótico pode diferir até mesmo para diferentes cepas de uma mesma espécie, pois cepas distintas são incomparáveis, podendo apresentar aderência em áreas distintas do epitélio intestinal, efeitos imunológicos específicos, além de mecanismos de ação diferentes sobre a mucosa saudável e a inflamada (7).

Diversos tipos de queijo foram testados como veículos para cepas de *Lactobacillus*, revelando-se apropriados, uma vez que apresentaram populações satisfatórias para um alimento probiótico (8).

Para a utilização de culturas probióticas na tecnologia de fabricação de alimentos, as culturas devem permanecer viáveis durante todo o armazenamento dos mesmos. Além disso, a adição dos probióticos não devem alterar as características físico-químicas e sensoriais do produto ao longo do armazenamento (7,9). Dessa maneira, para que um alimento probiótico exerça seus efeitos benéficos, é recomendado que ele apresente uma concentração mínima do microrganismo probiótico dentro do seu prazo de validade. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu que a quantidade mínima diária de probióticos viáveis que devem ser ingeridos para efeitos terapêuticos é de 8,00 a 9,00 log UFC (10).

O queijo *petit-suisse* é um queijo produzido com leite desnatado, adicionado de creme. A cultura *starter* é adicionada para que a massa atinja a acidez desejada. No Brasil, a fabricação de queijo *petit-suisse* utiliza centrífuga para efetuar o processo de separação da massa, produzindo o queijo *quark* ou *quarg*, que é a base utilizada, juntamente com açúcar, creme e frutas, para produzir o *petit-suisse* (11). O queijo *petit-suisse* tem boa aceitação entre os brasileiros e é dirigido principalmente ao público infantil. As perspectivas de aumento do potencial de mercado desse produto, com a sua transformação em um alimento funcional probiótico são bastante promissoras, principalmente levando-se em conta a possibilidade deste produto alcançar também o público adulto. Entretanto, para esse fim, o potencial probiótico do queijo *petit-suisse* deve ser tes-

tado para as diferentes cepas. Além disso, devido à particularidade de cada microrganismo, cepas de uma mesma espécie também devem ser testadas. Assim, utilizando *Streptococcus thermophilus* como cultura *starter*, objetivou-se, no presente trabalho, verificar o potencial probiótico do queijo *petit-suisse* processado com a adição de duas cepas diferentes de *Lactobacillus acidophilus* (LA-14 e La-5) durante o armazenamento refrigerado dos produtos a $4\pm 1^\circ\text{C}$ por 28 dias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Culturas

Foram utilizadas duas culturas de *Lactobacillus acidophilus*: a cultura potencialmente probiótica *Lactobacillus acidophilus* LA-14 (Danisco, Dangé, França) e a cultura comprovadamente probiótica *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Christian Hansen, Valinhos, Brasil). A cultura *starter* empregada foi *Streptococcus thermophilus* TA040 (Danisco). As culturas empregadas eram do tipo DVS (direct vat set), foram fornecidas pelo fabricante na forma liofilizada e adicionadas diretamente ao leite para produção dos queijos.

Ingredientes para a formulação do queijo quark

Para a produção do queijo quark, foram utilizados leite pasteurizado desnatado (Salute, Descalvado, Brasil), cloreto de cálcio (P.A, Labsynth, Diadema, Brasil) e coagulante bovino em pó “Ha-la” (88-92% pepsina bovina + 8-12,5% quimosina bovina, Christian Hansen, Valinhos, Brasil).

Ingredientes para a formulação do queijo *petit-suisse*

Para a produção do queijo *petit-suisse*, foram utilizados 548,80 g de creme de leite tradicional esterilizado (25% de gordura, Nestlé do Brasil Ltda., Araçatuba, Brasil), 460 g de polpa de morango integral pasteurizada congelada sem conservantes (Maisa, Mossoró, Brasil), 410 g de açúcar refinado (Coopersucar-União, Limeira, Brasil), 3,2 g de corante natural carmim de cochonilha (Plury Química, Diadema, Brasil), 2 g de aroma natural idêntico ao de morango (50-2594, Mylner, São Paulo, Brasil) e gomas: 7,5 g de xantana, 7,5 g de carragena e 5 g de guar (Danisco, Cotia, Brasil).

Produção do queijo *petit-suisse*

Foram produzidos 3 tipos diferentes de queijo *petit-*

suisse: Q1 (controle - adição de *S. thermophilus*), Q2 (adição de *S. thermophilus* + *L. acidophilus* LA-14) e Q3 (adição de *S. thermophilus* + *L. acidophilus* La-5). Foram realizadas duas repetições da produção do queijo controle (Q1) e três repetições dos queijos adicionados das culturas de *Lactobacillus acidophilus* (Q2 e Q3).

Processamento para obtenção do queijo quark

Para a obtenção do queijo quark, o leite pasteurizado (18 litros para cada produção) foi aquecido até atingir temperatura de 37°C. Em seguida, foi adicionado o cloreto de cálcio (2,5 g 10L⁻¹ de leite), seguido de uma rápida homogeneização. Posteriormente a essa etapa, as culturas de *L. acidophilus* (50 mg L⁻¹ de leite) e a cultura starter *S. thermophilus* (50 mg L⁻¹ de leite) foram adicionadas aos diferentes queijos, conforme descrito anteriormente. Após a adição das culturas, efetuou-se uma nova homogeneização do leite. O coagulante previamente diluído (0,05 g em 50 mL de água fervida e resfriada) foi adicionado na proporção de 0,05 g 10L⁻¹ de leite quando a massa atingiu valores de pH entre 6,3 a 6,5, seguido de homogeneização. Após a coagulação (pH entre 5,6 e 5,8), a massa foi cortada com auxílio de lira e mantida em repouso por 15 minutos, para liberação do soro dos coágulos. Em seguida, procedeu-se à etapa de dessoragem, sendo a massa transferida para sacos de algodão previamente esterilizados, que foram mantidos em câmara refrigerada a 4±1°C pelo período de 15 a 18 horas para completa liberação do soro.

Processamento para obtenção do queijo *petit-suisse*

Para a obtenção do queijo *petit-suisse*, utilizou-se a massa-base de queijo quark, obtida conforme descrito em “processamento para obtenção do queijo *quark*”, que foi acrescentada dos ingredientes citados anteriormente. A massa, juntamente com os demais ingredientes, foi transferida para um misturador Geiger modelo UMMSK-12 (Geiger, Pinhais, Brasil), para total homogeneização. Em seguida, o produto foi embalado em potes de polipropileno, próprios para alimentos - dimensões 68 mm × 32 mm (diâmetro × altura) (Tries Aditivos Plásticos Ltda., São Paulo, Brasil), com capacidade para 55 gramas. Os potes foram selados com selo aluminizado (alumínio + polietileno) em seladora (Delgo, Cotia, Brasil). As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4±1°C em cabine refrigerada modelo VB43R (Metalfrio, São Paulo, Bra-

sil) por até 28 dias para realização das análises.

Períodos de amostragens

Os queijos produzidos foram utilizados para a realização de análises físico-químicas (pH e umidade) e microbiológicas (enumeração de *S. thermophilus* e *L. acidophilus*) durante o armazenamento dos produtos. Todas as análises foram realizadas após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado a 4±1°C.

Análises físico-químicas

A determinação do pH dos queijos foi realizada em medidor de pH Analyser modelo 300M (Analyser Comércio e Indústria Ltda., São Paulo, Brasil), empregando-se um eletrodo tipo penetração modelo 2AO4 GF (Analyser). A umidade foi determinada a partir de 5 gramas de amostras, pelo método gravimétrico de secagem em estufa a vácuo (Nova Ética, Vargem Grande Paulista, Brasil) a 70°C, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (12). As análises de pH foram realizadas em triplicata e de umidade, em duplicata.

Análises microbiológicas

Para a quantificação das populações de *Lactobacillus acidophilus* (para os queijos Q2 e Q3) e da cultura starter *Streptococcus thermophilus* (queijos Q1, Q2 e Q3), porções de 25 g de produto (retiradas em condições de assepsia) foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10-1), utilizando-se Bag Mixer (Interscience, St. Nom, França). Diluições decimais subsequentes foram preparadas, utilizando-se o mesmo diluente.

Para a contagem de *L. acidophilus*, alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS, Oxoid, Basings-toke, Reino Unido) modificado, preparado como meio basal contendo maltose (em substituição à glicose), conforme descrito pelo International Dairy Federation (13). Após homogeneização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas a 37°C por 3 dias em anaerobiose (Sistema de Anaerobiose Anaerogen, Oxoid).

Para a contagem de *Streptococcus thermophilus*, alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas para placas Petri estéreis que, em seguida, foram adicionadas de ágar M17 (Oxoid) acrescentado de 50 mL L⁻¹ de solução estéril de lactose (Oxoid) a 10% (p/v), fundido e resfriado a 45°C. Após homoge-

neização e solidificação do ágar, as placas foram incubadas em aerobiose a 37°C por 72 horas (14). Todas as análises microbiológicas foram realizadas em triplicata.

Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se um esquema fatorial 3 x 5, constituído de 3 tipos de combinações em termos da adição de culturas durante a produção dos queijos (somente *S. thermophilus*; *S. thermophilus* + *L. acidophilus* LA-14; *S. thermophilus* + *L. acidophilus* La-5) e de 5 tempos (1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento após o processamento), com 2 a 3 repetições. As diferenças significativas ($p < 0,05$) para cada parâmetro avaliado entre os diferentes tipos de queijos e entre os diferentes dias de armazenamento de cada queijo foram detectadas através de análise de variância (ANOVA), utilizando o programa Excel versão 2000 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington,

TABELA 1. Valores* de pH e umidade obtidos para os queijos Q1 (controle – *S. thermophilus*), Q2 (*S. thermophilus* + *L. acidophilus* LA-14) e Q3 (*S. thermophilus* + *L. acidophilus* La-5), após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1°C.

Queijos	Período de armazenamento (dias)	pH	Umidade (% em massa)
Q1	1	4,98 (0,38) ^{ABa}	69,94 (2,08) ^{Aa}
	7	4,75 (0,29) ^{Aab}	69,95 (2,48) ^{Aa}
	14	4,63 (0,23) ^{Aab}	70,08 (2,26) ^{Aa}
	21	4,55 (0,09) ^{Ab}	69,78 (2,71) ^{Aa}
	28	4,50 (0,14) ^{Ab}	69,09 (1,39) ^{Aa}
Q2	1	4,62 (0,09) ^{Aa}	68,95 (1,43) ^{Aa}
	7	4,56 (0,02) ^{Aab}	68,64 (1,69) ^{Aa}
	14	4,49 (0,22) ^{Aabc}	68,88 (1,66) ^{Aa}
	21	4,47 (0,12) ^{Abc}	67,70 (2,91) ^{Aa}
	28	4,51 (0,05) ^{Ac}	68,13 (0,95) ^{Aa}
Q3	1	4,71 (0,02) ^{Ba}	69,62 (2,00) ^{Aa}
	7	4,53 (0,02) ^{Ab}	69,72 (2,20) ^{Aa}
	14	4,53 (0,18) ^{Abc}	68,97 (1,67) ^{Aa}
	21	4,46 (0,13) ^{Abc}	69,19 (2,06) ^{Aa}
	28	4,39 (0,13) ^{Ac}	69,15 (2,17) ^{Aa}

* Médias (respectivos desvios-padrão entre parênteses).

^{A,B}: Para cada coluna, letras maiúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes queijos estudados para um mesmo período de armazenamento.

^{a,b,c}: Para cada coluna, letras minúsculas sobrescritas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo estudado.

TABELA 2. Populações* de *Streptococcus thermophilus* (queijos Q1, Q2 e Q3), *Lactobacillus acidophilus* LA-14 (queijo Q2) e *Lactobacillus acidophilus* La-5 (queijo Q3), obtidas após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento a 4±1°C.

Cultura	Armazenamento (dias)	Populações (log UFC g ⁻¹)		
		Q1	Q2	Q3
<i>S. thermophilus</i>	1	9,15 (0,31) ^{Ba}	9,58 (0,12) ^{Aab}	9,79 (0,12) ^{Aa}
	7	9,11 (0,34) ^{Ba}	9,62 (0,07) ^{Aab}	9,64 (0,11) ^{Aa}
	14	9,15 (0,47) ^{Ba}	9,61 (0,09) ^{Aab}	9,71 (0,03) ^{Aa}
	21	9,27 (0,34) ^{Ba}	9,60 (0,06) ^{Ab}	9,66 (0,12) ^{Aa}
	28	9,23 (0,38) ^{Ba}	9,68 (0,04) ^{Aa}	9,42 (0,36) ^{ABa}
<i>L. acidophilus</i>	1	-	6,83 (0,05) ^{Ba}	7,60 (0,10) ^{Aac}
	7	-	6,80 (0,08) ^{Ba}	7,56(0,13) ^{Aabc}
	14	-	6,82 (0,14) ^{Ba}	7,62 (0,04) ^{Aa}
	21	-	6,76 (0,09) ^{Ba}	7,46 (0,06) ^{Ab}
	28	-	6,39 (0,34) ^{Bb}	7,46 (0,12) ^{Ac}

* Médias (respectivos desvios-padrão entre parênteses).

-: Sem adição.

^{A,B}: Para cada cultura, letras maiúsculas diferentes sobrescritas em cada linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os queijos estudados para um mesmo período de armazenamento.

^{a,b,c}: Para cada cultura, letras minúsculas diferentes sobrescritas em cada coluna, indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os diferentes dias de armazenamento para um mesmo queijo estudado.

EUA). Quando a ANOVA foi significativa, aplicou-se o teste de Tukey para observação dos contrastes entre as médias ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Parâmetros físico-químicos

A tabela 1 apresenta os dados obtidos para as análises de umidade e pH realizadas para os queijos *petit-suisse* Q1, Q2 e Q3.

Os três queijos estudados apresentaram redução estatisticamente significativa para os valores de pH ao longo do período de armazenamento ($p < 0,05$). O queijo Q2 apresentou um pequeno aumento para este parâmetro na última semana de armazenamento, embora não significativo estatisticamente ($p > 0,05$).

O queijo *petit-suisse*, adicionado ou não de *L. acidophilus*, demonstrou ser um produto estável em relação ao teor de umidade, uma vez que não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$) para um mesmo queijo durante o armazenamento refrigerado. Da mesma forma, não foram detectadas diferenças significativas quando diferentes queijos foram comparados em um mesmo período de armazenamento ($p > 0,05$).

Populações de *Lactobacillus acidophilus* e de *Streptococcus thermophilus*

A tabela 2 apresenta os resultados das análises microbiológicas obtidos para as populações de *S. thermophilus* (queijos Q1, Q2 e Q3) e *L. acidophilus* (queijos Q2 e Q3).

No presente trabalho, as populações de *L. acidophilus* (LA-14 e La-5) mantiveram-se estáveis durante o período de armazenamento dos queijos Q2 e Q3. Para o queijo Q2, apenas foi detectada redução significativa nas populações de *L. acidophilus* LA-14 entre o 21° e 28° dia de armazenamento ($p < 0,05$). O queijo Q3, adicionado de *L. acidophilus* La-5 não apresentou redução significativa nessas populações quando os dias 1° e 28° foram comparados ($p > 0,05$), embora a pequenas reduções durante todo o armazenamento tenham sido observadas. Para todos os períodos de armazenamento estudados, as populações de *L. acidophilus* La-5 (comprovadamente probiótica) mantiveram-se significativamente superiores ($p < 0,05$) às de LA-14 (potencialmente probiótica).

As populações da cultura starter (*S. thermophilus*) nos diferentes queijos estudados apresentaram-se es-

táveis ao longo do período de armazenamento, com populações superiores a $9,00 \log \text{UFC g}^{-1}$. A única diferença significativa foi observada entre o 21° e o 28° dia para Q2 ($p < 0,05$). Para os queijos Q2 e Q3 (adicionados de *L. acidophilus*), as populações de *S. thermophilus* foi significativamente superior ($p < 0,05$) à observada para o queijo controle (Q1), em todos os períodos de armazenamento. Tal diferença apenas não foi detectada ao 21° dia de armazenamento, quando Q3 e Q1 foram comparados.

DISCUSSÃO

O decréscimo nos valores de pH dos queijos Q1, Q2 e Q3 foi gradual, semelhante ao observado por Maruyama et al. (15), que estudaram o comportamento das cepas *Lactobacillus acidophilus* Lac4 e *Bifidobacterium longum* BL04 adicionadas em co-cultura, durante a fabricação de queijo *petit-suisse* probiótico. O autores observaram valores de pH entre 4,75 e 4,37 ao longo do armazenamento, semelhantes aos obtidos no presente trabalho. Embora as cepas probióticas utilizadas por Maruyama et al. (15) tenham sido distintas das empregadas no presente trabalho, a cultura *starter*, principal responsável pela pós-acidificação dos produtos, foi a mesma. Este fato está em conformidade com as observações de diversos autores de que as culturas probióticas não exercem grande influência na queda de pH do produto final, em oposição à cultura *starter S. thermophilus*, que produz ácidos orgânicos em maiores concentrações, principalmente ácido láctico a partir da fermentação da lactose, levando à acidificação do produto (16).

De fato, no presente trabalho observou-se que ambas as cepas de *L. acidophilus* adicionadas aos queijos não afetaram, de maneira significativa, o pH dos produtos, uma vez que os valores obtidos para Q2 e Q3 (potencialmente probiótico e probiótico, respectivamente) apresentaram valores próximos aos observados para o queijo Q1 (controle) durante o armazenamento refrigerado. Semelhantemente, um estudo desenvolvido com a adição da cultura *starter S. thermophilus* em queijo *petit-suisse* probiótico também observou redução significativa nos valores de pH, devido, principalmente, à presença de *S. thermophilus* (17).

É conhecido que o pH e sua taxa de variação afetam o teor de umidade dos queijos (18). Entretanto, no presente trabalho, não foi observada influência das al-

terações do pH sobre a umidade dos produtos desenvolvidos. Os queijos Q2 e Q3 (adicionados de *L. acidophilus*) apresentaram comportamento semelhante ao observado para o queijo controle (Q1) com relação ao teor de umidade. A estabilidade observada para este parâmetro ao longo dos 28 dias para os *queijos petit-suisse* pode ser explicada pelo fato de que os queijos permaneceram em potes adequadamente selados durante todo o armazenamento. Comportamento semelhante foi observado por Pereira et al. (17) em *queijos petit-suisse* fabricados com a adição de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* isolados ou em co-cultura. Igualmente, Buriti et al. (19) não observaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o teor de umidade de queijo minas frescal probiótico (adicionado *L. acidophilus* La-5) quando comparado ao queijo controle (processado sem adição de La-5). Dessa forma, os resultados observados no presente trabalho revelaram que a adição de *L. acidophilus* La-5 ou LA-14 pode ser realizada, sem que se sejam observadas alterações nesse aspecto do produto. Tal resultado é de extrema importância para a produção de queijos *petit-suisse* probióticos, uma vez que a incorporação de culturas probióticas a alimentos não deve alterar suas características próprias. Além disso, os queijos *petit-suisse* desenvolvidos apresentaram teores de umidade coerentes com os estabelecidos pela legislação brasileira, uma vez que tal queijo é classificado como um queijo de muita alta umidade, e deve apresentar umidade não inferior a 55,0% (20).

As populações de *L. acidophilus* observadas para Q2 e Q3 mantiveram-se acima do mínimo requerido para um alimento probiótico ($6,00 \log \text{ UFC g}^{-1}$) durante todo o período de armazenamento refrigerado, conforme recomendação da literatura (21). Tais resultados confirmam que o queijo *petit-suisse* pode ser considerado veículo promissor, principalmente para a cultura comprovadamente probiótica de *L. acidophilus* La-5, e também para LA-14.

Diferentes cepas de uma mesma espécie apresentam características distintas quanto à sua morfologia, propriedades bioquímicas, padrão de multiplicação, tolerância à bile, sobrevivência em baixos valores de pH e capacidade de assimilar colesterol (22). Portanto, características particulares de cada cepa determinarão um perfil de sobrevivência também distinto para os diversos substratos. O padrão de comportamento das populações de bactérias lácticas sofre grande influência

das características do queijo e da cepa estudados (21). Sendo assim, existe uma estreita relação entre a sobrevivência de determinada cepa, a cultura *starter* empregada e as características do produto, incluindo, por exemplo, a sua composição e capacidade tamponante, a tensão de oxigênio, o seu teor de gordura, entre outros fatores. Esse fato permite sugerir que a elevada sobrevivência da cepa La-5 frente à LA-14 decorreu de uma melhor adaptação da primeira às condições apresentadas pelo queijo *petit-suisse*. Tendo sido comprovada sua propriedade probiótica (2), pode-se sugerir que a resistência de *L. acidophilus* La-5 à condições adversas (requisito necessário para que sobreviva ao trânsito através do trato gastrointestinal humano) pode ter conferido alguma vantagem a esta cepa frente à *L. acidophilus* LA-14, para a qual tal resistência não foi igualmente observada.

Contudo, ambas as cepas de *L. acidophilus* adaptaram-se adequadamente ao queijo *petit-suisse*. Considerando-se a porção de queijo *petit-suisse* (45 gramas), pode-se afirmar que os queijos desenvolvidos podem ser classificados como alimentos probióticos, uma vez que Q2 e Q3 apresentaram, respectivamente, populações de 107 e 108 UFC de *L. acidophilus* na porção do queijo *petit-suisse* desenvolvido, durante todo o período de armazenamento.

Ao contrário do observado por Vinderola et al. (23), que relataram um discreto efeito inibitório exercido por cepas de *L. acidophilus* sobre a multiplicação do *starter S. thermophilus*, as populações significativamente superiores ($p < 0,05$) observadas para a cultura *starter* em Q2 e Q3, quando comparadas a Q1, indica a ocorrência de sinergismo entre o *starter* e *L. acidophilus*. Entre outros aspectos, essa cooperação pode decorrer do fato de *S. thermophilus* consumir o oxigênio presente na matriz dos produtos, reduzindo sua tensão de oxigênio (21), favorecendo a sobrevivência de *L. acidophilus*, um microrganismo microaerofílico (16). Por outro lado, a degradação da lactose por *L. acidophilus* enriquece o meio em galactose, assimilável por *S. thermophilus* (21). Segundo Vinderola et al. (23) as possíveis interações entre as espécies empregadas para a produção de alimentos fermentados devem ser consideradas para selecionar a combinação capaz de oferecer o melhor resultado no processo tecnológico e garantir a viabilidade das células durante o armazenamento refrigerado.

Dessa maneira, a associação de *S. thermophilus* às

cepas *L. acidophilus* LA-14 ou La-5, no presente trabalho, demonstrou-se apropriada para a produção de queijo *petit-suisse*, favorecendo a sobrevivência da cultura starter com populações elevadas, sem causar reduções significativas nas populações das culturas de *L. acidophilus* empregadas.

CONCLUSÃO

A sobrevivência de *L. acidophilus* em queijo *petit-suisse* mostrou-se dependente das características intrínsecas de cada cepa, uma vez que La-5 apresentou populações significativamente superiores àquelas observadas para LA-14 durante todo o armazenamento. O queijo *petit-suisse* revelou-se um alimento promissor para a incorporação de *L. acidophilus*, particularmente para a cepa comprovadamente probiótica (La-5). Testes complementares, como ensaios *in vitro* poderão ser realizados para a verificação do efeito protetor do queijo *petit-suisse* sobre a sobrevivência das cepas La-5 e LA-14, submetidas às condições simuladas do trato gastrointestinal humano.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro e bolsas. Os autores agradecem, também, às empresas Salute, Plury Química, Mylner, Christian Hansen e Danisco, pelo fornecimento do leite, corante, aroma, culturas e gomas empregados nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations; World Health Organization. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. [Acesso 2012 fev 06]. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>.
2. Jain PK, Mcnaught CE, Anderson AD, Macfie J, Mitchell CJ. Influence of synbiotic containing *Lactobacillus acidophilus* La 5, *Bifidobacterium lactis* Bb 12, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomised controlled trial. *Clin Nutr.* 2004; 23(4):467-75.
3. Paineau D, Carcano D, Leyer G, Darquy S, Alyanakian MA, Simoneau G, et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008; 53(1):107-13.
4. Todorov SD, Furtado DN, Saad SMI, Franco, BDGM. Bacteriocin production and resistance to drugs are advantageous features for *Lactobacillus acidophilus* La-14, a potential probiotic strain. *New Microbiol.* 2011; 34(4):357-70.
5. Ya W, Reifer C, Miller LE. Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 203(2):120.e1-e6.
6. Savino F, Cordisco L, Tarasco V, Palumeri E, Calabrese R, Oggero R, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infantile colic: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Pediatrics.* 2010; 126:e526-e533.
7. Saad SMI. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2006; 42(1):1-16.
8. Buriti FCA, Souza CHB, Saad SMI. Cheese as probiotic carrier: technological aspects and benefits. In: Hui YH, Evranuz EÖ. *Handbook of food and beverage fermentation technology.* Boca Raton: CRC, 2012.
9. Souza CHB, Buriti FCA, Behrens JH, Saad SMI. Sensory evaluation of probiotic Minas fresh cheese with *Lactobacillus acidophilus* added solely or in co-culture with a thermophilic starter culture. *Int J Food Sci Technol.* 2008; 43(5):871-77.
10. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Recomendações da Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. [acesso 2012 jun 06]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecnologia_lista_alega.htm>.
11. Veiga PG, Viotto WH. Fabricação de queijo *petit-suisse* por ultrafiltração de leite coagulado. Efeito do tratamento térmico do leite no desempenho da membrana. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2001; 21(3):267-72.
12. Instituto Adolfo Lutz. Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. 1018p.
13. International Dairy Federation. Fermented and non-fermented milk products. Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus*. Culture media. Brussels: International Dairy Federation, 1995. [Bulletin of the IDF, 306].
14. Richter RL, Vedamuthu ER. Milk and milk products. In: *Compendium of the methods for the microbiologi-*

- cal examination of foods. 4^a ed. Washington: APHA; 2001.
15. Maruyama LY, Cardarelli HR, Buriti FCA, Saad SMI. Textura instrumental de queijo petit-suisse potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2006; 26(2):386-93.
 16. Gomes AMP, Malcata FX. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci Technol.* 1999; 10(4-5):139-57.
 17. Pereira LC, Souza CHB, Behrens JH, Saad SMI. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. in co-culture improve sensory acceptance of potentially probiotic petit-suisse cheese. *Acta Aliment Hung.* 2010; 39(3):265-76.
 18. Kehagias C, Koulouris S, Samona A, Malliou S, Koumoutsos G. Effect of various starters on the quality of cheese in brine. *Food Microbiol.* 1995; 12:413-19.
 19. Buriti FCA, Rocha JS, Saad SMI. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int Dairy J.* 2005; 15(12):1279-88.
 20. Brasil. Instrução Normativa nº 53, de 29 de dezembro de 2000. Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit-suisse*. [Acesso 2012 jun 01]. Disponível em: <www.agricultura.gov.br>.
 21. Lorens-Hattingh A., Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* 2001; 11(1-2):1-17.
 22. Vinderola CG, Reinheimer JA. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “*in vitro*” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res Int.* 2003; 36(9-10):895-904.
 23. Vinderola CG, Mocchiutti P, Reinheimer JA. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J Dairy Sci.* 2002; 85(4):721-29.

Recibido: 28-08-2012
Aceptado: 31-10-2012

COMPLETE YOUR ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION. ALAN. COLLECTION



Dear subscriber:

We are offering the opportunity to complete your ALAN collection at *discounted* prices

Just inform us of your missing issues (Volume and Number) by writing to

EDITORIAL OFFICE

Apartado 62778

Chacao

Fax: (58-212) 286.0061

Caracas 1060

Venezuela

email: info@alanrevista.org

You will receive availability confirmation and a price quotation
