

# Produtos Lácteos: Desenvolvimento & Tecnologia



# Produtos Lácteos:

---

Desenvolvimento & Tecnologia

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards (Ed.)

Canoas

2020



**Produtos Lácteos:  
Desenvolvimento & Tecnologia**  
© 2020 Mérida Publishers  
<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1>

**Editor**  
Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

**Adaptação da capa e desenho gráfico**  
Reynaldo Miquel

**Foto da capa**  
<http://www.freepik.com>  
Racool\_studio / Freepik



---

Canoas - RS - Brasil  
**[contact@meridapublishers.com](mailto:contact@meridapublishers.com)**  
**[www.meridapublishers.com](http://www.meridapublishers.com)**

Todos os direitos autorais pertencem a Mérida Publishers. A reprodução total o parcial dos trabalhos publicados, é permitida desde que sejam atribuídos créditos aos autores.



**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

P964 Produtos lácteos [recurso eletrônico] : desenvolvimento & tecnologia / Organizadora Neila Silvia Pereira dos Santos Richards. – Canoas, RS: Mérida Publishers, 2020.

Formato: PDF  
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.  
Modo de acesso: World Wide Web.  
Inclui bibliografia  
ISBN 978-65-991393-2-1

1. Indústria de laticínios – Pesquisa – Brasil. 2. Alimentos lácteos. I. Richards, Neila Silvia Pereira dos Santos.

CDD 637.1

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

## Apresentação

Do ponto de vista nutricional, o leite é um dos alimentos cujos componentes são encontrados na proporção adequada, contém, de forma balanceada, a maioria dos nutrientes essenciais para a alimentação da espécie a que está destinado, além de fornecer anticorpos necessários ao sistema imunológico da cria recém-nascida. O homem tem aproveitado as propriedades nutritivas do leite para utilizá-lo em sua própria alimentação, especialmente o proveniente das espécies de maior valor comercial devido ao elevado grau de tecnificação da produção leiteira. Para sua utilização o leite deve cumprir determinados critérios de qualidade que abordam aspectos complexos e diversos. Os distintos produtos lácteos desenvolvidos ao longo dos séculos mostram a importância que o leite e produtos lácteos apresentam para a alimentação humana. Quase todos os países do mundo têm incluído o leite e seus derivados nos guias de alimentação saudável, reconhecendo assim a importância deste alimento e seu grande valor nutricional. Em muitas regiões do mundo, a produção de leite é uma forma de melhorar a vida de pequenos produtores rurais. Este livro apresenta uma pequena contribuição colocando ao alcance de todos os produtos desenvolvidos e analisados pelo grupo de pesquisa do CNPq “Tecnologia de Lácteos Especiais”. Esta obra técnico-científica é fonte de informações que induzirá o leitor a um pensamento crítico sobre a caracterização de queijos artesanais, a potencialidade do kefir como alimento funcional, o desenvolvimento de sobremesa láctea e leite fermentado com adição de vegetal rico em proteínas. Permitirá aos profissionais e estudantes da área se apropriarem dos conhecimentos contidos nos capítulos e aumentarem seus conhecimentos sobre os temas abordados, colaborando, desta forma, para nortear a inovação nas indústrias de laticínios.

Profa. Dra. Neila S.P.S. Richards

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos  
Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria, RS, Brasil

## Índice

<b>CAPÍTULO INTRODUCTORIO.....</b>	<b>6</b>
<b>Leite &amp; derivados: perspectivas e oportunidades</b>	
Neila Silvia Pereira dos Santos Richards	
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>10</b>
<b>De onde vem o seu queijo? O cenário da comercialização do queijo tipo colonial em feiras do município de Santa Maria, RS, Brasil</b>	
Valéria Pinheiro Braccini, Regis Trentin Piovesan, Janaina Balk Brandão, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards	
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>30</b>
<b>Avaliação dos parâmetros de qualidade de queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil</b>	
Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Maritiele Naissinger da Silva, Deisi Dariane Rodrigues Arbello, Claudia Roséli Fagundes Mafaldo, Magnolia Martins Erhardt	
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>45</b>
<b>Elaboração de sobremesa láctea achocolatada com café</b>	
Mariana Saurin Tolfo, Bruna Lago Tagliapietra, Alvaro da Cruz Carpes, Ana Carolina Mendes Dias Seibt, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards	
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>56</b>
<b>Produção bebida fermentada enriquecida com Ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i>)</b>	
André Vinícius Pocai, João Borges Laurindo, Maximiliano Segundo Escalona Jiménez, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards	
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>78</b>
<b>Estudo das características de potencial probiótico de bactérias ácido-láticas isoladas de Kefir produzido artesanalmente</b>	
Alice de Souza Ribeiro, Leidi Daiana Preichardt, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards	

# CAPÍTULO INTRODUTÓRIO

---

## Leite & derivados: perspectivas e oportunidades

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.i>

### 1. Introdução

O leite e seus derivados apresentam a mais extensa e mais complexa cadeia de valor do agronegócio brasileiro, não sendo apenas uma fonte vital de nutrição para as pessoas envolvidas, mas também representam um meio de subsistência e oportunidades para pequenos produtores, processadores, comerciantes e outros segmentos da cadeia láctea [1].

A forma de comprar e consumir leite e produtos lácteos está em evolução com o advento das novas tecnologias e a popularização do acesso à internet. Os consumidores vêm mudando inúmeros hábitos de consumo e, conseqüentemente, suas demandas são estudadas e absorvidas pela indústria de laticínios [2, 3].

Atualmente, uma das principais mudanças é o anseio dos consumidores que buscam por produtos mais naturais, rótulos mais limpos, sustentáveis e esperam transparência sobre quais ingredientes são utilizados na formulação dos produtos lácteos e como os mesmos são produzidos [4, 5].

Cada vez mais o consumidor assume o protagonismo no mercado de lácteos, sendo sua presença marcante nos pontos de venda, nas gôndolas dos hipermercados, além de sinalizar para as indústrias e propriedades leiteiras suas preferências, cada vez mais exigentes e específicas [6, 7].

Em categorias como iogurtes e sobremesas lácteas a percepção de naturalidade por parte do consumidor é ainda mais forte. O consumidor de hoje está mais preocupado com sua saúde e cada vez mais entende que uma boa saúde começa com escolhas de produtos que além de nutrir promovam a saúde e bem-estar. E, nesse último quesito, desponta a preocupação com a saúde intestinal, ou seja, há um aumento no interesse por alimentos funcionais, uma vez que estudos apontam que um intestino saudável é a base para o perfeito funcionamento de todo o organismo [8].

Dos muitos produtos lácteos desenvolvidos em vários países, os fermentados impulsionam o mercado. A fermentação é um dos métodos mais antigos de preservação de alimentos, sendo usada desde os primórdios da humanidade para evitar o desperdício de alimentos [9, 10].

Um grande desafio para o setor lácteo está em produzir derivados mais sustentáveis e apresentá-los como alimentos saudáveis para os consumidores, ressaltando que definir padrões alimentares saudáveis e sustentáveis é complexo e deve ter como base fatos e dados científicos consistentes [5, 11].

Os queijos são os derivados que têm apresentado maiores taxas de crescimento nos últimos anos. Apresentam uma grande variedade de tipos, sabores e tamanhos, além de atender às novas tendências de consumo de alimentos nutritivos e práticos [11, 12]. Os queijos artesanais têm importância na vida econômica dos produtores rurais, os quais tem nessa atividade uma fonte alternativa de renda, além da atividade principal, seja ela plantação de vegetais ou criação de animais [13,14].

A não observação de alguns critérios pode provocar uma resposta negativa por parte dos consumidores, especialmente na ausência de uma adequada comunicação sobre os esforços de avaliação do risco e do custo-benefício na fabricação de alguns derivados lácteos [6].

A qualidade do leite vem evoluindo ano a ano através da publicação de normas corretas que regulamentam produtos e protegem a saúde do consumidor, apesar do setor leiteiro brasileiro não ser tão organizado e o processo de modernização ser lento, e com defasagens tecnológicas significativas em algumas regiões do país [15].

Para a indústria os principais determinantes e tendências na escolha de lácteos inovadores são:

- características do consumidor: demográficas, psicográficas, fatores econômicos e fatores fisiológicos;
- características de novos alimentos: característica do produto, percepção natural, percepção de benefícios, percepção de custos, sistema de produção e percepção de incertezas;
- características do contexto: acessibilidade/conveniência, momento de consumo, situação de uso, tempo, lugar, percepção do controle comportamental;
- características do ambiente: ambiente familiar, cultura, religião, normas sociais e normas subjetivas [6].

As alternativas em inovações de produtos lácteos saudáveis e sustentáveis são inesgotáveis, porém, a cadeia de leite tem experimentado um movimento contrário aos lácteos com grande repercussão e que cresce rapidamente em muitas regiões do mundo. As ameaças aos produtos lácteos que têm grande repercussão nas mídias sociais incluem mensagens com carga emocional e imprecisas, projetadas para convencer as pessoas de que os lácteos são baseados na exploração de animais leiteiros e são uma das principais causas de mudanças climáticas, degradação dos solos, poluição das águas e predispondo o ser humano a doenças. Essas informações distorcidas e seus efeitos ao tentar afastar as pessoas do leite e seus derivados podem ter, futuramente, impactos significativos e negativos na saúde do consumidor, especialmente nas populações em situações de insegurança alimentar. Estudos de desenvolvimento de produtos lácteos e o repasse de mensagens educacionais baseadas em ciência sólida devem ser priorizados, esclarecendo, por exemplo, como os lácteos podem melhorar o estado nutricional e promover o bem-estar do ser humano.

A indústria de laticínios deve conquistar a confiança do consumidor, pois a transparência nas informações nutricionais ou mesmo nas alegações das propriedades funcionais dos lácteos é fundamental para aumentar a competitividade e reconhecer o perfil do consumidor [1].

Será sempre um desafio para a indústria de laticínios entender a demanda dos consumidores, o potencial e os gargalos tecnológicos da cadeia de lácteos. Produtos inovadores podem ser desenvolvidos ou melhorados a baixo custo, mesmo para àqueles aparentemente pouco suscetíveis a mudanças e renovações.

## Referências

- [1] EMBRAPA. Anuário Leite 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1109959>. Acesso em: 13 Ago. 2020.
- [2] Silva C.A., Souza C.C., Carneiro Júnior J.B.A., Castelão R.A. Clusters de perfis socioeconômicos e culturais de consumidores dos produtos lácteos de Campo Grande/MS. *Revista Brasileira de Administração Científica* 2020; 11(1):177-188. <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-684X.2020.001.0013>.
- [3] Assis J., Ferreira J.D., Martins H.H., Schneider M.B. Cadeia produtiva do leite no Brasil no contexto do comércio internacional. *Revista Ciências Empresarial* 2016; 17(1):63-93.
- [4] Merlo E.M. Comportamento Do Consumidor. LTC 2013. Accessed August 13, 2020. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsmib&AN=edsmib.000004800&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site>.
- [5] Ávila B.P., Pinto da Rosa P., Fernandes T.A., Chesini R.G., Sedrez P.A., Oliveira A.P.T., Mota G.N., Gularte M.A., Roll V.F.B. Analysis of the perception and behaviour of consumers regarding probiotic dairy products. *International Dairy Journal* 2020; 106:104703. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104703>.
- [6] Richards N.S.P.S. Novos produtos para a indústria de laticínios. In: Martins P.C., Piccinini G.A., Krug E.E.B., Martins C.E., Lopes F.C.F. (eds) *Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite*. Brasília: EMBRAPA, 2015, p. 329-338. Brasília, Brasil.
- [7] Perobelli F.S., Araújo Júnior I.F., Castro L.S. As dimensões espaciais da cadeia produtiva do leite em Minas Gerais. *Nova Economia* 2018; 28(1):297-337.
- [8] Bimbo F., Alessandro Bonanno A., Nocella G., Viscecchia R., Nardone G., Devitiis B., Carlucci D. Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: A systematic review. *Appetite* 2017; 113(1):141-154. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.031>
- [9] Limeira T.M.V. Comportamento do consumidor brasileiro. São Paulo: Saraiva, 2009. Disponível em: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsmib&AN=edsmib.000008335&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site>. Acesso em: 13 ago. 2020.
- [10] García-Burgos M., Moreno-Fernández J., Alférez A.J.M., Díaz-Castro J., López-Aliaga I. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods* 2020; 72:104059. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104059>.
- [11] Stampa E., Schipamann-Schwarze C., Hamm U. Consumer perceptions, preferences, and behavior regarding pasture-raised livestock products: A review. *Food Quality and Preference* 2020; 82:103872. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2020.103872>.
- [12] Yilmaz-Ersan L., Ozcan T., Akpinar-Bayazit A. Assessment of socio-demographic factors, health status and the knowledge on probiotic dairy products. *Food Science and Human Wellness* 2020; 8p. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.05.004>

[13] Miranda G., Souza A., Martins A., Cocaro E., Martins J. Queijos artesanais: qualidade físico-química e microbiológica e avaliação das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores e ambiente de produção. *Extensão Rural* 2016; 8-92. doi:<https://doi.org/10.5902/2318179618101>.

[14] Marcon G. Transformações socioprodutivas na cadeia do leite: a produção de base ecológica e a informalidade como estratégias da agricultura familiar em Santa Maria/RS. Dissertação de Mestrado. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2019.

[15] Vilela D., Resende J.C. O que falta na cadeia produtiva do leite nacional para que a integração dê certo? *Milkpoint* 2020. Disponível em: <https://www.milkpoint.com.br/artigos/producao-de-leite/o-que-falta-na-cadeia-produtiva-do-leite-nacional-para-que-a-integracao-de-certo-218998/>. Acesso em 13 Ago. 2020.

## **Autores**

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, Prédio 42, sala 3211, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

Autor para correspondência: [neilarichardsprof@gmail.com](mailto:neilarichardsprof@gmail.com)

## CAPÍTULO 1

---

### **De onde vem o seu queijo? O cenário da comercialização do queijo tipo colonial em feiras do município de Santa Maria, RS, Brasil**

Valéria Pinheiro Braccini, Regis Trentin Piovesan, Janaina Balk Brandão, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.c1>

#### **Resumo**

A produção artesanal de queijos na região central do Rio Grande do Sul é uma herança da colonização e perpetua-se ao longo do tempo. Além de servir como alimento para as famílias, o excedente de queijo colonial é comercializado pelos agricultores como complemento de renda. Dessa forma, objetivou-se identificar os tipos de feirantes existentes bem como compreender a origem dos queijos comercializados em feiras do município de Santa Maria/RS, Brasil. Para cumprir com os objetivos, fez-se uma revisão conceitual acerca das cadeias produtivas, das feiras e do queijo colonial. Através dos dados levantados pelo Grupo Interdisciplinar de Pesquisas Agroalimentares – GIPAG junto às feiras do município foi realizado um recorte dos dados de produção de queijo colonial, dividindo os feirantes de acordo com a origem do produto comercializado por eles, sendo: a) “Feirantes que comercializam queijos oriundos de produção própria”, b) “Feirante com venda de queijo oriundo de produção mista” e c) “Feirantes que revendem queijos produzidos por outros produtores” Após essa divisão, através de três entrevistas com informantes qualificados, identificou-se as diferenças na cadeia produtiva de cada um desses grupos de feirantes. Conforme o resultado da pesquisa foram identificados três canais de comercialização pelos quais os feirantes adquirem o queijo informal em Santa Maria/RS, Brasil, sendo eles empresas que são fiscalizadas por órgãos oficiais estaduais, empresas que são fiscalizadas pelo órgão de vigilância municipal e empresas que não passam por nenhum tipo de fiscalização. As conclusões do trabalho dão conta de que as questões acerca da legalização da produção e estratégias de comercialização do queijo colonial são importantes do ponto de vista de saúde pública, no entanto, é necessário atender as demandas e as particularidades que os agricultores familiares têm em relação a um modo de produção historicamente constituído. Deste modo, o desafio é encontrar um meio termo em que não se perca o que foi constituído, preservando o histórico cultural da região, ao mesmo tempo em que as condições sanitárias adequadas sejam respeitadas.

**Palavras-chave:** Canais de comercialização; produção artesanal; saúde pública.

#### **1. Introdução**

A produção artesanal de queijos é uma herança cultural da colonização ocorrida na Região Central do Rio Grande do Sul e o saber-fazer vem sendo transmitido pelas famílias ao longo das gerações [1]. O queijo colonial produzido no sul do Brasil, além de ser utilizado como alimento para as famílias dos produtores rurais, passou a ser importante fonte de renda quando teve seu excedente comercializado [2]. Segundo

Costa et al. [3] a importância do setor de leite e derivados, dentre eles o queijo, é representada quando para cada R\$ 1 milhão em produtos demandados do leite, 197 empregos são geridos, corroborando com os dados fornecidos pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA [4], que elege o leite como um dos seis produtos agropecuários de importância, tanto como elemento básico da alimentação quanto fonte de emprego e renda para a população brasileira.

No Brasil, uma das cadeias produtivas mais relevantes para agronegócio é a do leite [5]. A cadeia produtiva do leite pode ser representada por diversos segmentos a exemplo dos fornecedores, os quais providenciam insumos, máquinas e equipamentos aos produtores; dos produtores rurais, que podem ser especializados ou não; pela indústria, que coleta o produto junto aos produtores e os distribui e por fim, pelo sistema agroindustrial, como varejistas, supermercados e padarias [6].

A importância da cadeia é representada pelo aumento da demanda mundial da produção leiteira. A *International Farm Comparison Network* [7] publicou o Relatório Anual que traduz a expectativa de que a produção de leite aumente em 304 milhões de toneladas por ano para suprir a necessidade mundial em 2030. O Anuário do Leite [8] evidencia o potencial brasileiro no cenário setor lácteo. O Brasil é o quinto maior produtor de leite, ficando atrás da Índia, Estados Unidos, Paquistão e China. No entanto, o País encontra-se em estagnação desde 2015 [9] reflexo da crise econômica, quando ocorreram quedas de 2,8% e 3,7% na produção leiteira, corroborando com os dados da EMBRAPA [8] que confirmam que a produção de leite inspecionada foi 24,7 bilhões de litros e volume total produzido de 35,1 bilhões de litros.

Sabe-se que a cadeia produtiva de queijo colonial é composta por diversos elos como a indústria de insumos, produção, distribuição, comercialização e consumo. Assim, a cadeia produtiva é definida como uma sucessão de transformação dissociáveis, capazes de ser separadas e ligadas, entre si por um encadeamento técnico. É um arranjo composto por diversas esferas econômicas que relacionadas em sequência no processo, agregam valor ao produto a cada atividade produtiva e de comercialização [10].

É neste contexto que Zylbersztajn [11] define que a troca de bens e serviços entre os agentes econômicos, é compreendida como comercialização. Dessa forma, quando os bens fluem pelos canais de comercialização e de distribuição, quanto mais elaborada for a combinação envolvida, maior é a coordenação entre os componentes do sistema e quanto mais direta for, menores serão os custos de transação associados.

A definição para os canais de comercialização já havia sido caracterizada por Kotler [12] conforme o seu comprimento e número de intermediários que compõem o processo. Para o autor, podem ser encontrados: “canal de nível zero”, onde o produtor comercializa diretamente com o consumidor final, “canal de um nível” em que há um intermediário envolvido, “canal de dois níveis”, composto por dois intermediários na comercialização dos produtos agrícolas; “canal de três níveis” representado por três intermediários na negociação e “canal de quatro níveis” composto por quatro agentes. Enquanto os canais longos formados por indústrias de abastecimento convencional, distanciam os atores entre si, as cadeias curtas de produção e comercialização surgem como alternativa reduzindo a distância física de extensão e percurso entre os produtores e os consumidores finais dos alimentos [13].

A produção e a comercialização de queijos tipo colonial sem inspeção sanitária são consideradas ilegais no Brasil [14], motivando ações fiscalizadoras e apreensões de produtos em feiras e mercados da região central do Rio Grande do Sul [15,16]. No

entanto as irregularidades às especificações sanitárias não estão restritas a pequenos mercados ou feiras de agricultura familiar. Mandados de busca e apreensão em estabelecimentos regulares resultaram na retirada de aproximadamente nove toneladas de alimentos impróprios para o consumo, interdições e suspensões das atividades comerciais [17], gerando descrédito nas instituições estabelecidas.

Os debates relacionados ao comércio de queijo colonial são motivados pelo cumprimento das normas da legislação brasileira, que prevê na produção o uso de leite pasteurizado, tempo de cura inferior a 30 dias, informações de rotulagem com data de fabricação, prazo de validade e inspeção sanitária [18,19]. Tais exigências são incompatíveis com a pequena produção e nessas circunstâncias, os agricultores familiares inserem-se no mercado informal [20].

A análise da cadeia produtiva do queijo colonial em feiras de Santa Maria/RS, Brasil, tendo como elo focal os feirantes, proporciona estabelecer quais os agentes envolvidos na produção e comercialização do produto bem como compreender as estratégias utilizadas pelos feirantes na aquisição do produto. Dessa forma, objetivou-se verificar os diferentes tipos de feirantes existentes para compreender a origem do produto e assim, quantificar a comercialização de queijo colonial em feiras do município.

Frente à diversidade de componentes envolvidos no processo de produção e comercialização de queijo tipo colonial e as apreensões recorrentes em ações fiscalizadoras de vigilância sanitária, o estudo justifica-se pela necessidade de investigar os diferentes tipos de feirantes e identificar a origem do produto ofertado nas principais feiras de Santa Maria/RS, Brasil.

### **1.1. Caracterização do Queijo Colonial**

Produtos coloniais são aqueles produzidos artesanalmente na propriedade dos “colonos”, os quais realizam a produção para seu consumo e comercializam o excedente [21]. No sul do Brasil, é utilizada a denominação “colonial” aos alimentos preparados por descendentes de europeus, principalmente aqueles de língua italiana e alemã, cujas terras recebidas no século XIX eram denominadas de “colônia” [1, 22]. Para Xavier e Brito [23] um produto colonial pode ser assim definido desde que considere a origem geográfica da produção, a matéria-prima bem como o processo artesanal envolvido e os saberes preservados pelas gerações e aplicados na fabricação do alimento.

O queijo colonial é o produto obtido por meio da coagulação do leite bovino, coalho e/ou outras enzimas coagulantes, podendo ser consumido fresco ou em diversos graus de maturação. As suas características físicas mais comuns são o formato arredondado e peso aproximado de um quilograma, podendo ou não apresentar casca quando imaturo, superfície fina e amarelada quando maduro ou dura e mais espessa quando submetido à maturação mais longa [24].

Conforme a Portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de nº 146, de 07/03/1996, a denominação de queijo está reservada aos produtos com base láctea que apresente apenas gordura e/ou proteínas de origem láctea em sua composição [18]. A Portaria SEAPPA nº 55 de 28/03/2014, fixou o Normas Técnicas de Instalações e Equipamentos para Microqueijarias, denominando como queijo artesanal, produtos fabricados em pequena escala a partir do leite obtido de animais sadios, beneficiado no estabelecimento de origem, de acordo com os processos tradicionais que lhe confira consistência, coloração e sabor próprios, seguindo Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade específicos-RTIQ.

A produção de queijo colonial a partir de matéria-prima crua, não corresponde aos padrões de qualidade e identidade proposta pela legislação sanitária. Distintos fatores como origem do leite, raça do animal, tipo de pastagem, período de lactação, condições de maturação, por exemplo, influenciam no processo de fabricação de queijos de boa qualidade, proporcionando sabor e aroma diferenciados [25, 26, 27]. Dessa forma, a produção rural de queijo artesanal tem participação econômica importante devido à expressiva importância na formação de renda dos produtores de leite, principalmente daqueles que comercializam o excedente da sua produção [28]. Em recente pesquisa, Mattiello et al. [22] ressaltaram que o queijo colonial ainda não possui um RTIQ e alerta para a importância de que sejam fixados valores de referência para análise da composição e padronização desse tipo de queijo.

Referente ao que é preconizado pela legislação brasileira, a fundamentação em modelos tecnicistas não contempla as realidades locais, generalizando as exigências sanitárias e limitando a oferta de produtos frescos oriundos da agricultura familiar aos mercados informais. Colleti [29] corrobora com o pensamento de que apesar da informalidade, a institucionalidade própria dos mercados informais regula as relações pessoais, permitindo aos consumidores reconhecer e valorizar o produtor pela qualidade oferecida, tornando assim, o produto socialmente controlado.

## 1.2. Cadeia Produtiva De Queijo Colonial

Para Batalha [10] a cadeia produtiva é composta por diversos elos como a indústria de insumos, produção, distribuição, comercialização e consumo. Dentre as formas pelas quais se caracteriza a produção e distribuição de queijos, encontra-se a produção artesanal comercializada de forma direta ao consumidor. De acordo com o autor, a cadeia produtiva é uma sucessão de transformação dissociáveis, capazes de ser separadas e ligadas entre si por um encadeamento técnico. É um arranjo composto por diversas esferas econômicas que relacionadas em sequência no processo, agregam valor ao produto a cada atividade produtiva e de comercialização.

Para Canzoani [6] a cadeia produtiva do leite pode ser representada por diversos segmentos a exemplo dos fornecedores, os quais providenciam insumos, máquinas e equipamentos aos produtores; dos produtores rurais, que podem ser especializados ou não; pela indústria, que coleta o produto junto aos produtores e os distribui e por fim, pelo sistema agroindustrial, como varejistas, supermercados e padarias. Os diferentes elos relacionam desde o produtor de insumos para a produção de leite até o consumidor final, necessitando de coordenação ao longo do processo [30]. Desta forma, como uma cadeia produtiva não pode ser limitada à uma determinada região e por ser amplamente interativa pela distribuição de produtos que extrapolam os limites geográficos, por vezes é considerada como um fator gerador de riscos, e agravos à saúde e ao meio ambiente [31].

Devido aos avanços tecnológicos a agricultura passou a depender de muitos serviços, máquinas e insumos externos às propriedades, além de armazéns, infraestruturas, agroindústrias, mercados atacadista e varejista e exportação [32]. Assim, para compreender a nova realidade da agricultura, os autores Davis e Goldberg [33] criaram o termo *agribusiness* e o definiram como sendo a soma de todas as operações e transações envolvidas desde a fabricação dos insumos agropecuários, das operações de produção nas unidades agropecuárias, até o processamento e distribuição e consumo dos produtos agropecuários *in natura* ou industrializados.

Posteriormente na década de 1960, na Escola Francesa de Organização Industrial na França o termo *filière* foi conceituado como sendo uma sequência de operações que

conduzem à produção de bens, cuja articulação é amplamente influenciada pelas possibilidades tecnológicas e definida pelas estratégias dos agentes.

Assim, a partir da noção de *filière* torna-se possível compreender as relações estabelecidas entre os agentes econômicos durante o processo produtivo. A descrição da estrutura e o funcionamento de uma atividade econômica, considerando os caminhos percorridos para a elaboração de um produto final, as estratégias escolhidas pelos agentes para obter as condições favoráveis nas relações de força que mantêm com fornecedores, clientes e concorrentes mantendo-se competitivo, aumentando a rentabilidade [34].

Os conceitos de cadeias produtivas estão em constantes adaptações. O conceito elaborado por Zylbersztajn [35] define cadeias produtivas como operações organizadas de forma vertical a qual o produto percorre desde a produção até a distribuição e são coordenadas através do mercado ou da intervenção dos agentes que participam da cadeia. Para Batalha [10] cadeia produtiva pode ser compreendida como a soma de todas as etapas de produção e comercialização necessárias para transformar matérias primas em um determinado produto final, ou seja, até que o mesmo chegue ao consumidor final. As constantes mudanças nas estruturas organizacionais fizeram com que as cadeias produtivas se tornassem mais complexas, evidenciando a necessidade da inclusão dos atores sociais e suas interações para que as relações ao longo da cadeia sejam compreendidas [36].

As cadeias curtas caracterizadas pelo encolhimento nos processos de elaboração e negociações a exemplo do queijo colonial comercializado em feiras despertam o interesse por pesquisas microbiológicas que indicam a informalidade e ausência de inspeção como um risco potencial à saúde pública. Fava et al. [37] ao analisarem queijos artesanais comercializados em uma feira agropecuária do Rio Grande do Sul, encontraram irregularidades como a ausência de informações referentes à pasteurização do leite, quantidade de ingredientes obrigatórios como coalho e sal e carimbo de inspeção sanitária, conforme previstas no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA [14].

Ide e Benedet [2] ao analisarem amostras de Queijo Serrano produzidos em Santa Catarina encontraram resultados variados sobre composição, forma e peso do produto e presença de contaminação por coliformes fecais decorrentes da ausência de padronização das técnicas de fabricação e das condições higiênica sanitária insuficiente [38]. Zaffari et al. [39] após monitorarem a qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, concluíram que a maioria dos produtos testados apresentavam contagens de coliformes fecais acima dos valores considerados inócuos. Tais resultados corroboram com os resultados encontrados por Santos-Koelln et al. [40] no Paraná quando as amostras em estudo revelaram contaminações acima dos limites aceitáveis pela legislação vigente.

### 1.3. Feiras

As feiras coloniais, além de ser um caminho de fortalecimento da cultura regional, uma vez que os produtores carregam consigo suas tradições, saberes e modos de cultivar seus produtos, representam os canais de comercialização dos produtos provenientes da agricultura familiar [1]. Assim, tornam-se uma forma organizada de inserção dos produtores no mercado para a distribuição de produtos artesanais e de qualidade [13].

A comercialização direta é a alternativa utilizada pela agricultura familiar, apesar das convenções industrial-mercantis predominarem [41]. Apesar disso, as feiras tornaram-

se espaços emblemáticos de cadeias curtas e as práticas como a diversificação, o autoconsumo e a comercialização entre produtor e consumidor garantem geração de renda e segurança alimentar e nutricional para os que se abastecem diretamente nesses espaços [42]. A virada da qualidade é o que motiva o movimento que contrapõe o modelo de produção e consumo em massa associado a globalização e as cadeias agroalimentares longas [43].

Entretanto, para a legislação brasileira o conceito de qualidade dos alimentos está relacionado à capacidade de produção e às ferramentas envolvidas no processo produtivo [44]. Segundo os autores supracitados, há incentivo para o desenvolvimento industrial, aqui representado pelas estruturas que conseguem preencher as exigências estabelecidas pelo padrão de inocuidade, conforme requer a legislação sanitária e, dessa forma, marginalizam os agricultores familiares que não conseguem cumprir as normas sanitárias instituídas.

A crise dos sistemas alimentares modernos tem origem econômica e as superestruturas não são consideradas sinônimos de qualidade [44]. Os recentes escândalos envolvendo a indústria alimentar [45, 46] contribuíram para que as feiras sejam associadas às mudanças sociais referentes ao padrão alimentar. O fenômeno da virada da qualidade dos alimentos está relacionado aos recentes riscos alimentares, críticas e descontentamento ao atual modelo de produção, processamento e distribuição dos alimentos [43]. A produção de alimentos artesanais, por sua vez, ocorre em escalas de processamento menores, a comercialização dos produtos ocorre em sistemas locais e as relações de confiança entre produtores e consumidores são usadas para legitimar a qualidade desses produtos. No entanto, a legislação sanitária adota padrões hegemônicos para a produção de alimentos em grande escala e não facilita o acesso de pequenos produtores às práticas e condutas de inocuidade previstas, dificultando assim, a inserção dos mesmos no mercado [13].

## **2. Material e Métodos**

O presente artigo é um estudo descritivo, exploratório e de abordagem qualitativa, pois procura quantificar e entender, a partir de dados e reflexões pontuais, os agentes envolvidos diretamente nessa atividade. Desta forma, buscou-se identificar as particularidades apresentadas pelos feirantes que compõem o elo focal da cadeia, com o intuito de compreender a origem do queijo colonial comercializado.

Segundo Guerra e Teodósio [47] em uma abordagem qualitativa, o objetivo é a profundidade e a compreensão dos fenômenos como, por exemplo, as ações dos indivíduos, grupos ou organizações *in loco* ou contexto social, sem que a representatividade numérica seja de suma importância. A pesquisa também possui um caráter exploratório, pois não há estudos sobre o tema na Região Central do Rio Grande do Sul. Para Gil [48] pesquisas descritivas proporcionam, por vezes, uma nova visão do problema, aproximando-se de pesquisas caracterizadas como exploratórias.

O primeiro passo da pesquisa foi realizar uma revisão bibliográfica acerca das feiras de comercialização de produtos coloniais, sobre o que significa queijo colonial, além da temática das cadeias produtivas, que é o ponto de análise que o artigo objetiva. Após isso, buscou-se junto aos dados do Grupo Interdisciplinar de Pesquisas Agroalimentares – GIPAG – da UFSM os dados relacionados ao queijo colonial em feiras do município de Santa Maria/RS, por meio de um documento de acesso exclusivo em meio eletrônico [49]. O GIPAG vem desenvolvendo um levantamento de dados acerca da produção e comercialização em feiras do município desde o ano de 2017 e os resultados estão sistematizados pelo grupo em um banco de dados próprio. Assim, foi realizado um recorte visando classificar e quantificar os feirantes e a

produção relacionada somente ao queijo colonial.

Por meio dos dados fornecidos pelo GIPAG, os feirantes que comercializam queijo colonial no município foram categorizados em três grandes grupos, de acordo com a origem do queijo comercializado, denominados “Feirantes que comercializam queijos oriundos de produção própria”, “Feirantes que revendem queijos produzidos por outros produtores” e “Feirante com venda de queijo oriundo de produção mista”. Após essa divisão, procurou-se identificar as diferenças na cadeia produtiva de cada um desses grupos de feirantes. Para isso, realizaram-se três entrevistas com informantes qualificados nas feiras, sendo um informante que tem sua produção registrada e inspecionada pelo Serviço Municipal de Inspeção, um informante, cuja produção não é legalizada e um informante que tem sua produção registrada e inspecionada em outro município da região, buscando identificar: a) os aspectos históricos da produção e comercialização de queijo; b) os canais de compra de suprimentos e insumos para produção; c) os canais de comercialização utilizados, além da feira, e d) a origem da opção pela comercialização de seus produtos em feiras.

### **3. Resultados e Discussões**

#### **3.1. Grupos de Feirantes**

Primeiramente, os feirantes foram agrupados de acordo com a origem do queijo colonial que comercializam. No primeiro grupo foram categorizados os feirantes que produzem e comercializam queijo colonial formalmente, aqui representados por produtos relacionados à economia formal, legalmente estabelecidos, registrados e com impostos recolhidos. No segundo grupo, foram incluídos feirantes que comercializam queijo colonial de produtores formalizados advindos de outros municípios e o revende e no terceiro grupo, foram categorizados os feirantes que tanto comercializam os queijos que produzem informalmente quanto os queijos adquiridos em agroindústrias formalizadas. A Tabela 1 apresenta os dados gerais coletados referente a comercialização de queijo colonial nas principais feiras do município de Santa Maria/RS.

Observa-se pelos dados da Tabela 1 que o município de Santa Maria/RS conta com dez feiras que comercializam queijo colonial, onde encontram-se quatro feirantes que produzem e comercializam queijos provenientes de suas propriedades, vinte e três feirantes que revendem queijos produzido em agroindústrias e um feirante que comercializa queijos derivados parte de produção artesanal e parte adquiridos em agroindústrias, perfazendo a venda anual de 46.760.00 kg do produto no município.

Durante a entrevista, foram identificados feirantes que adotam práticas de comercialização distintas nas feiras do município, no que se refere a origem do queijo: “Feirantes que comercializam queijos oriundos de produção própria”, “Feirantes que revendem queijos produzidos por outros produtores” e “Feirante com venda de queijo oriundo de produção mista”.

Entende-se por “Feirantes com produção própria”, os produtores de queijo que realizam a produção no seu estabelecimento e comercializam nas feiras locais, de forma legalizada ou não. No total, nas principais feiras do município são comercializados aproximadamente 18.080 kg/ano de queijo tipo colonial oriundos de produção própria. Estes números indicam que, apesar de somente um feirante ser legalizado e ter seus produtos inspecionados pelo Serviço de Inspeção Municipal de Santa Maria/RS, queijos tipo colonial, produzidos de forma artesanal estão sendo normalmente comercializados no município [49].

Feira	Produção Própria		Produção Terceirizada		Produção Mista		Total	
	Número produtores	Kg vendidos/ano	Número produtores	Kg vendidos/ano	Número produtores	Kg vendidos/ano	Número produtores	Kg vendidos/ano
Roraima Feirão	1	400	3	2.080	1	2.500	5	4.980
Colonial Saldanha	12	9290	2	1000	0	0	3	10290
Marinho Roque	0	0	0	0	0	0	0	0
Gozaes	0	0	0	0	0	0	0	0
T.N.	1	400	0	0	0	0	1	400
Polifeira Professor	1	8.640	0	0	0	0	1	8.640
Teixeira Vale	0	0	6	6.260	0	0	6	6.260
Machado	0	0	3	2.380	0	0	3	2.380
13 de maio	0	0	4	2.760	0	0	4	2.760
Saturnino de Brito	0	0	3	6.100	0	0	3	6.100
24 horas Morada	0	0	1	1.500	0	0	1	1.500
Nova	0	0	1	1.000	0	0	1	1.000
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>18.730</b>	<b>23</b>	<b>22180</b>	<b>1</b>	<b>2.500</b>	<b>28</b>	<b>43410</b>

Fonte: Adaptado de [49].

Tabela 1. Número de feirantes, quantidade vendida por grupo de feirantes e feiras do município de Santa Maria/RS, Brasil.

Na categoria identificada como “feirantes que revendem queijos produzidos por outros produtores”, foram incluídos os feirantes que adquirem e comercializam queijos de outros produtores estabelecidos em municípios próximos, com inspeção municipal ou estadual. No total, nas principais feiras do Município há vinte e três feirantes [49] que comercializam aproximadamente 26.180 kg/ano de queijo provenientes de produtores de outros municípios, com selo de inspeção municipal ou estadual.

Foi incluído na categoria de “feirante com venda de queijos oriundo de produção mista”, o feirante que trabalha com queijos oriundos de sua produção quanto adquire de outro produtor. Tanto a prática de comercializar queijo oriundo de produção mista, quanto a de revender queijos produzidos em outro município somente com inspeção municipal, não está em conformidade com a Lei 7.889/1989 – que dispõe sobre a Inspeção Sanitária e Industrial dos Produtos de Origem Animal e define que os municípios possuem competência para fiscalização de estabelecimentos apenas no comércio municipal. Segundo a Confederação Nacional de Municípios [50], os produtos locais que circulam e são comercializados em outros municípios, devem obrigatoriamente possuir o selo de fiscalização conforme as exigências de certificação do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária –SUASA.

### 3.2. Estratégias de Comercialização dos Diferentes Grupos de Feirantes

Os feirantes que comercializam queijo colonial no município que foram agrupados de acordo com a origem do queijo comercializado, denominados por “Feirantes que comercializam queijos oriundos de produção própria”, “Feirantes que revendem queijos produzidos por outros produtores” e “Feirante com venda de queijos oriundos de produção mista” apresentam diferenças em sua cadeia produtiva. As entrevistas com os informantes qualificados nas feiras do município possibilitaram a compreensão

sobre os aspectos históricos da produção e comercialização de queijo, quanto aos canais de compra de suprimentos e insumos para produção, quanto aos canais de comercialização utilizados, além da feira e quanto à sua opção pela comercialização de seus produtos em feiras.

Dessa forma, o feirante com produção própria, por ter uma produção em maior escala do que os demais produtores, efetua a compra de leite de um fornecedor, elaborando todos os processos de produção, armazenamento, embalagem e rotulagem. Por ser uma agroindústria legalizada e inspecionada por órgãos fiscalizadores locais, tem a possibilidade de comercializar seus produtos em mercados e padarias do município. No entanto, o principal canal de comercialização escolhido são as feiras locais, que por ser um local de venda direta ao consumidor, possibilitam a demonstração dos produtos, através da degustação, o que facilita a comercialização dos produtos. Segundo Brandão [51], a estratégia de venda no varejo pelo feirante pode ser aqui definida como venda no varejo independente, cuja importância é reconhecida na distribuição alimentar em pequenas cidades e periferias de grandes centros urbanos, porém, caracterizados por empreendimentos familiares de gestão pouco profissionalizada.

O grupo de feirantes com produção própria, durante a entrevista relata que reconhece a atividade de comercialização de queijo colonial não-legalizado como concorrência desleal, uma vez que os produtores legalizados precisam cumprir inúmeras exigências burocráticas e pagar as despesas impostas pelos órgãos fiscalizadores, para obter seu registro e seu selo de qualidade.

Os feirantes com produção terceirizada também têm uma produção em maior escala do que os demais produtores: compram leite de fornecedores e também participam de todos os processos de produção, armazenamento, embalagem e rotulagem. No entanto, devido à agroindústria ser legalizada e inspecionada por órgãos fiscalizadores de outro município, tem a possibilidade de comercializar seus produtos em mercados e padarias do município de origem, sendo este seu principal canal de comercialização. Entretanto, o feirante adotou as feiras do município de Santa Maria/RS por ser um canal de comercialização que admite a venda de produtos não-legalizados enquanto seu município de origem não adere ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal – SISBI-POA ou ao Sistema Unificado Estadual de Sanidade Agroindustrial Familiar, Artesanal e de Pequeno Porte - SUSAF.

O feirante com venda de queijo oriundo de produção mista apresenta características distintas dos demais: tanto adquire queijo colonial de um grupo de produtores que permanecem em seus domicílios rurais quanto adquire em agroindústrias legalizadas e comercializa os produtos em feiras do Município, agregando mais valor. A opção por utilizar a feira deve-se ao fato de ser um local de venda direta ao consumidor, possibilidade de fortalecer as relações de confiança e possibilidade de despertar memória afetiva referente ao rural. Esta estratégia adotada pelo feirante pode estar fundamentada pela teoria de Custos de Transação, ou seja, o limite da racionalidade é afetado pela complexidade das transações. Segundo Williamson [52], a escolha das estratégias para diminuição dos custos envolvidos nas transações é influenciada pelo desempenho da racionalidade limitada e comportamento oportunista dos atores envolvidos que estão por sua vez às propriedades ambientais como incerteza, frequência e especificidade dos agentes envolvidos.

Conforme o resultado da pesquisa, foram identificados três modelos por meio dos quais os feirantes operam a comercialização de queijo informal em Santa Maria/RS, o que corrobora com Brandão [51], que afirma que um novo padrão de flexibilidade produtiva, representado pela adaptabilidade das fronteiras organizacionais e busca por

produtos inovadores pode ser denominado como novo modelo competitivo que é caracterizado pela busca por estratégias de aprimoramento contínuo de processos e produtos tal como a readequação mercadológica, viabilizada a partir de parcerias com fornecedores, consumidores e concorrentes, afetando diretamente a competitividade e os limites organizacionais vigentes.

As queijarias do município de Santa Maria/RS, assim como em toda região sul, estão caracterizadas em três segmentos, ou seja, das empresas que são fiscalizadas por órgãos oficiais estaduais, os das empresas que são fiscalizadas pelo órgão de vigilância municipal e o das empresas que não passam por nenhum tipo de fiscalização. Não há registros oficiais da quantidade de queijo colonial comercializado no município, no entanto, é de conhecimento público a existência de inúmeras unidades de produção caseira e de agroindústrias produtoras não-legalizadas, o que corroborado pelos dados disponibilizados pelo GIPAG de que a maioria dos queijos coloniais comercializados em feiras santa-mariense são de origem artesanal.

O queijo tipo colonial, comumente produzido nas áreas rurais de Santa Maria/RS tem sido uma alternativa para pequenos produtores rurais incrementarem a renda familiar. A produção de alimentos na forma artesanal favorece a permanência das famílias no campo e além de geração de empregos, incentivando a valorização da cultura local, uma vez que comercializando os produtos coloniais, os produtores participam do fortalecimento da identidade sociocultural e gastronômica da sua região [53, 54]. Segundo Silva [55], além da importância social que a produção artesanal de queijos agrega às regiões produtoras, é evidenciada a sua importância histórica, cultural e econômica.

#### **4. Conclusões**

De acordo com pesquisa realizada constatou-se que há dez feiras no município de Santa Maria/RS, Brasil, com vinte e oito feirantes que comercializam queijo colonial, sendo que quatro feirantes realizam a venda de queijo oriundo de produção própria, vinte e três feirantes realizam a venda de queijo proveniente de produção terceirizada e um feirante efetua a comercialização de queijo derivado de produção mista.

De acordo com os dados coletados, a quantidade anual de queijo colonial comercializada no Município é de aproximadamente 46.760 kg/ano. No entanto, não há registros oficiais dessas quantidades comercializadas, mas é de conhecimento público a existência de inúmeras unidades de produção caseira e de agroindústrias produtoras não-legalizadas, o que corrobora para afirmar que a maioria dos queijos coloniais comercializados em feiras santa-mariense são de origem artesanal.

As questões acerca da legalização da produção e comercialização de queijo colonial são importantes do ponto de vista de saúde pública, no entanto é necessário atender as demandas que os agricultores familiares têm em relação a um modo de produção historicamente constituído. Deste modo, o desafio é encontrar um meio termo em que não se perca o que foi constituído, preservando o histórico cultural da região, ao mesmo tempo em que as condições sanitárias adequadas sejam respeitadas.

#### **5. Referências**

[1] Froelich P.R., Zanini M.C.C. Saberes e sabores da colônia: alimentação e cultura como abordagem para o estudo do rural [recurso eletrônico] / Menasche.R. org. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2015. 344 p. Disponível em: <[https://www.ufrgs.br/gepac/arquivos/livros/saberes-e-sabores\\_livro.pdf](https://www.ufrgs.br/gepac/arquivos/livros/saberes-e-sabores_livro.pdf)>. Acesso em: 08. Ago. 2019.

- [2] Ide L.P.A., Benedet H.D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região Serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. *Ciência Agrotecnologia* 2001; 25(6):1351-1358.
- [3] Costa V.S., Assunção A.B.A., Costa M.M.B., Chacon M.J.M. Análise de custos a partir da cadeia do valor do leite e seus derivados na região seridó do Rio Grande do Norte. *Revista Ambiente Contábil* 2015; 7(1):89-108. Disponível em: <<https://periodicos.ufrn.br/ambiente/article/view/5602>>. Acesso em 08. Abr. 2019.
- [4] EMBRAPA. Anuário do Leite 2019. Edição Digital em [embrapa.br/gado-de-leite](http://embrapa.br/gado-de-leite) Disponível em: <<https://www.embrapa.br/gado-de-leite>> Acesso em: 25 de Jul. 2019.
- [5] Breitenbach R., Souza R.S. Estrutura, conduta e governança na cadeia produtiva do leite: um estudo multicaso no Rio Grande do Sul. *Revista Eletrônica de Administração (Porto Alegre) REAd* 2015; 82(3):750-78. <https://doi.org/10.1590/1413-2311.0372014.53598>.
- [6] Canziani J.R. Cadeias Agroindustriais: O Programa Empreendedor Rural; Curitiba, SENAR-PR, 2003. p.21-22. Brasil.
- [7] A International Farm Comparison Network. Relatório IFCN Dairy 2019 - Edição do 20º aniversário. Disponível em:<<https://ifcndairy.org/wp-content/uploads/2019/10/IFCN-Dairy-Report-Article-2019.pdf>>. Acesso em 04 de Nov. 2019.
- [8] EMBRAPA. Gado do Leite – Importância Econômica. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>>. Acesso em 08. Ago. 2019.
- [9] IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72415>> Acesso em 05 de Jul. 2019.
- [10] Batalha M. Gestão Agroindustrial: GEPAL: Grupo de Estudos e Pesquisas Agroindustriais. 3 ed. São Paulo: Atlas, 2012. 770p.
- [11] Zylbersztajn D. Economia das Organizações. In: Zylbersztajn D, Neves M. F. org. Economia e Gestão dos Negócios Agroalimentares. São Paulo: Pioneira, 2000. 428p.
- [12] Kotler P. Administração de marketing: Análise, Planejamento, Implementação e Controle. 5.ed. São Paulo: Atlas, 2011. 725 p.
- [13] Cassol A., Schneider S. Produção e consumo de alimentos: novas redes e atores. *Lua Nova* 2015; 95:143-177. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-6445143-177/95>.
- [14] Brasil. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos/decreto-n-9013-2017\\_alt-decreto-9069-2017\\_pt.pdf/view](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos/decreto-n-9013-2017_alt-decreto-9069-2017_pt.pdf/view). Acesso em: 13 de Ago. de 2019.
- [15] GAUCHAZH. Porto Alegre. Disponível em: <<https://gauchazh.clicrbs.com.br/geral/noticia/2016/09/cerca-de-800-quilos-de-carne-e-outros-produtos-sao-apreendidos-em-julio-de-castilhos-7483967.html>>Acesso em: 15 de Abr. 2019. G1.

[16] Rio Grande do Sul 2. Secretária da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/regional-da-seapi-e-ida-de-santa-maria-apreendem-produtos-de-origem-animal-em-acao-neste-sabado>>. Acesso em: 15 de Abr. 2019.

[17] Rio Grande do Sul. Disponível em: <<http://g1.globo.com/bom-dia-brasil/noticia/2013/11/nova-fraude-no-leite-e-descoberta-no-rio-grande-do-sul.html>> Acesso em: 15 de Abr. 2019.

[18] Ministério do Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria no 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 11 mar. 1996, Seção I, p. 3977.

[19] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360\\_23\\_12\\_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0360_23_12_2003.pdf/5d4fc713-9c66-4512-b3c1-afee57e7d9bc)>. Acesso em: 05 abr. 2019.

[20] Vicentini N.M. Custo da adequação de pequenos produtores de queijos aos requisitos da legislação do estado de Minas Gerais. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 2013; 68(395):5-14. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20130043>.

[21] Dorigon C, Renk A. Técnicas e métodos tradicionais de processamento de produtos coloniais: de “miudezas de colonos pobres” aos mercados de qualidade diferenciada. Rev. de Economia Agrícola 2011; 58(1):101-113. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/publicacoes/rea/2011/rea8-1-11.pdf>> Acesso em: 19 de Ago. 2020.

[22] Mattiello C.A., Silveira S.M., Carli F., Cunha Junior A, Alessio D.R.M., Pelizza A., Cardozo L.L., Thaler Neto A. Rendimento industrial, eficiência de fabricação e características físico-químicas de queijo colonial produzido de leite com dois níveis de células somáticas. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2018; 70(6):1916-1924. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9908>.

[23] Brito L.M., Xavier A.F. Comportamento do Consumidor e o Mercado Informal de Produtos Artesanais. In: CLAV 2016. 2016. Disponível em: <<http://bibliotecadigital.fgv.br/ocs/index.php/clav/clav2016/paper/view/5700/1620>>. Acesso em: 04 de Nov. 2018.

[24] Mariot E.J. Produtos Agroalimentares Típicos (Coloniais): Situação e Perspectivas de Valorização no Município de Urussanga, Santa Catarina, Brasil. 2002. Dissertação (Mestrado Internacional em Gestão do Desenvolvimento Rural) - Universidade de Santiago da Compostela. Vila Real, Mar.2002. Disponível em: <[file:///D:/Users/SAMSUNG/Downloads/Produtos%20agroalimentares%20t%C3%ADpicos%20coloniais%20situa%C3%A7%C3%A3o%20e%20perspectivas%20de%20valoriza%C3%A7%C3%A3o%20no%20munic%C3%ADpio%20de%20Urussang%20\(1\).pdf](file:///D:/Users/SAMSUNG/Downloads/Produtos%20agroalimentares%20t%C3%ADpicos%20coloniais%20situa%C3%A7%C3%A3o%20e%20perspectivas%20de%20valoriza%C3%A7%C3%A3o%20no%20munic%C3%ADpio%20de%20Urussang%20(1).pdf)> Acesso em: 16 de Dez. 2018.

[25] Rezende P.H.L., Mendonça E.P., Melo R.T., Coelho L.R. Monteiro G.P., Rossi D.A. Aspectos sanitários do queijo minas artesanal comercializado em feiras livres. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 2010; 65(377):36-42. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v65i377.148>.

- [26] Nhuch E., Guedes F.F., Vargas L., Koch F.F. Caracterização dos queijos artesanais produzidos em Viamão, no Estado do Rio Grande do Sul, quanto à evolução físico-química e microbiológica. *Veterinária em foco* 2004; 2(1):15-24. Disponível em: <<http://www.ulbra.br/upload/fdef904d5f25b189416a7e1daeb559d8.pdf>> Acesso em: 16 de Dez. 2018.
- [27] Funck G.D., Hermanns G., Vicenzi R., Schmidt J.T., Richards N.S.P.S., Silva W.P., Fiorentini A.M. Microbiological and physicochemical characterization of the raw milk and the colonial type cheese from the Northwestern Frontier region of Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 2015; 74(3):247-257.
- [28] Nassu R.T., Araújo R. dos S., Borges M. de F., Lima J.R., Macedo B.A., Lima M. H.P., Bastos M. do S.R. Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento 1 Embrapa Agroindústria Tropical*, v. 2, n.1, p.28. 2001. Disponível em: <[http://www.cnpat.embrapa.br/publica/pub/BolPesq/p%26d\\_1.pdf](http://www.cnpat.embrapa.br/publica/pub/BolPesq/p%26d_1.pdf)> Acesso em: 16 de Dez. 2018.
- [29] Coletti V.D. Os agricultores familiares e a construção dos mercados do leite e queijo: a pequena produção e a qualidade frente à legislação brasileira e europeia. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento regional. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Paraná, 2013. Disponível em: <[http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/701/1/PB\\_PPGDR\\_M\\_Coletti%2C%20Vinicius%20Deotan\\_2013.pdf](http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/701/1/PB_PPGDR_M_Coletti%2C%20Vinicius%20Deotan_2013.pdf)>. Acesso em 08. Abr. 2019.
- [30] Breitenbach R., Brandão J.B., Zorzan M. Vantagens e oportunidade no relacionamento entre associados e cooperativa de laticínios. *Interações* 2017; 18(2):45-58. <https://doi.org/10.20435/inter.v18i2.1393>.
- [31] Leão L.H.C., Vasconcellos L.C.F. Nas trilhas das cadeias produtivas: reflexões sobre uma política integradora de vigilância em saúde, trabalho e ambiente. *Revista Brasileira de Saúde Ocupacional* 2013; 38(127):107-121. <https://doi.org/10.1590/S0303-76572013000100013>.
- [32] Araújo M.J. Fundamentos do Agronegócio. 2nd ed. São Paulo: Atlas; 2007. 155p.
- [33] Davis J.H., Goldberg R.A.A. *Conceito de agronegócio*. Boston: Divisão de Pesquisa, Escola de Graduação em Administração de Empresas, Universidade de Harvard; 1957. pp. 136.
- [34] Pelinski A., Silva D.R., Shikida P.F.A. A dinâmica de uma pequena propriedade dentro de uma análise de *filiière*. *Organizações Rurais & Agroindustriais* 2005; 7(3):271-281.
- [35] Zylbersztajn D. Estruturas de governança e coordenação do agribusiness: uma aplicação da nova economia das instituições. Tese de Livre Docência, Departamento de Administração. FEA/USP, 238 p., 1995.
- [36] Kremer A.M., Talamini E. Análise da Social Netchain em cadeias do agronegócio: aplicação em uma cadeia brasileira de pescado. *Interações (Campo Grande, MS)* 2018; 19(3):457-470. <https://doi.org/10.20435/inter.v0i0.1576>.
- [37] Fava L.W., Hernandez J.F.M., Pinto A.T., Schmidt V. Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. *Acta Scientiae*

Veterinariae 2012; 40(4):1084. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/2890/289023924019.pdf>. Acesso em 03 Ago. 2020.

[38] Brasil. LEI N° 9.933, de 20 de dezembro de 1999. Dispõe sobre as competências do Conmetro e do Inmetro, institui a Taxa de Serviços Metrológicos, e dá outras providências. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L9933.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L9933.htm)> Acesso em 12. Abr. 2019.

[39] Zaffari C.B., Mello J.F., Costa M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural* 2007; 37(3):862-867. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000300040>.

[40] Santos-Koell F.T., Mattana A., Hermes E. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 2009; 3(2):66-74. <http://dx.doi.org/10.3895/S1981-36862009000200008>.

[41] FIDA. Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola. Principais canais de comercialização da agricultura familiar: Fundo Internacional de Desenvolvimento Agrícola (FIDA): IICA – Instituto Interamericano de Cooperação para Agricultura, 2018. Disponível em: <[http://www.mds.gov.br/webarquivos/arquivo/seguranca\\_alimentar/compra\\_institucional/cartilha%20Principais%20Canais%20de%20comercializa%C3%A7%C3%A3o%20para%20Agricultura%20Familiar.pdf](http://www.mds.gov.br/webarquivos/arquivo/seguranca_alimentar/compra_institucional/cartilha%20Principais%20Canais%20de%20comercializa%C3%A7%C3%A3o%20para%20Agricultura%20Familiar.pdf)>. Acesso em 25 de Jul. 2019.

[42] Pozzebon L., Rambo A.G., Gazolla M. As Cadeias Curtas das Feiras Coloniais e Agroecológicas: Autoconsumo e Segurança Alimentar e Nutricional. *Desenvolvimento em Questão* 2018; 16(42):405-441. <https://doi.org/10.21527/2237-6453.2018.42.405-441>.

[43] Goodman D. The quality 'turn' and alternative food practices: reflections and agenda. *Journal of Rural Studies* 2003; 19(1):1-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0743-0167\(02\)00043-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0743-0167(02)00043-8).

[44] Cruz F.T., Schneider S. Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais. *Revista Brasileira de Agroecologia* 2010; 5(2):22-38. ISSN: 1980-9735. Disponível em: <[http://orgprints.org/24508/1/Cruz\\_Qualidade.pdf](http://orgprints.org/24508/1/Cruz_Qualidade.pdf)> Acesso em 08. Abr. 2019.

[45] G1. Rio Grande do Sul. Disponível em: <<https://g1.globo.com/pr/parana/noticia/pf-vai-as-ruas-para-cumprir-mandados-da-nova-fase-da-operacao-carne-fraca.ghtml>> Acesso em: 15 de Abr. 2019.

[46] Avicultura Industrial. Disponível em: <<https://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/fraudes-em-alimentos-ameacam-a-seguranca-alimentar/20171211-140000-b879>>. Acesso em: 15 de Abr. 2019.

[47] Guerra J.F.C., Teodósio A.S.S. Pesquisa Qualitativa em Gestão Social: uma análise da produção de conhecimento em estudos de caso. *Revista Gestão & Tecnologia* 2014; 14(3):160-176. <https://doi.org/10.20397/2177-6652/2014.v14i3.444>.

[48] Gil, A.C. Como elaborar projetos de pesquisa. 5 ed. São Paulo: Atlas. 2010. 176p.

[49] GIPAG. Caracterização das Feiras Livres de Santa Maria (RS). Destinatário: Valéria Bracinni. [S. l.], 10 dez. 2018. 1 mensagem eletrônica.

[50] CNM. Confederação Nacional de Municípios. A Importância do Serviço de Inspeção Municipal (Sim) na Gestão Pública e para o Desenvolvimento Agroindustrial. –Brasília: CNM, 2015. Disponível em: <[https://www.cnm.org.br/cms/biblioteca\\_antiga/Servi%C3%A7o%20de%20Inspe%C3%A7%C3%A3o%20Municipal%20-%20SIM%20\(2015\).pdf](https://www.cnm.org.br/cms/biblioteca_antiga/Servi%C3%A7o%20de%20Inspe%C3%A7%C3%A3o%20Municipal%20-%20SIM%20(2015).pdf)>. Acesso em: 12 de Ago 2019.

[51] Brandão J.B. A gestão de cadeia de suprimentos das redes regionais do varejo de frutas, legumes e verduras no Rio Grande do Sul. Tese de Doutorado. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2011.

[52] Williamson O.E. Las instituciones económicas del capitalismo. México: Fondo de Cultura Económica, 1989. 436p.

[53] Machado E.C., Ferreira C.L., Fonseca L.M., Soares F.M., Pereira Júnior F.N. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. Food Science and Technology 2004; 24(4):516-521. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400006>.

[54] Dorigon C. Le passage du modèle de l'agriculture familiale à un modèle coopératif familial autour des produits coloniaux au sud du Brésil. Bulletin de l'association de géographes français. Géographies 2015; 92(92-3):353-363. <https://doi.org/10.4000/bagf.713>.

[55] Silva J.G. Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal da Canastra. Dissertação de mestrado. Lavras: UFLA, 2007. Disponível em: <[http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3064/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Caracter%C3%ADsticas%20f%C3%ADsicas%20e%20f%C3%ADsico-qu%C3%ADmicas%20e%20sensoriais%20do%20queijo%20Minas%20artesanal%20da%20Canastra.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/3064/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Caracter%C3%ADsticas%20f%C3%ADsicas%20e%20f%C3%ADsico-qu%C3%ADmicas%20e%20sensoriais%20do%20queijo%20Minas%20artesanal%20da%20Canastra.pdf)> > Acesso em: 16 de Dez. 2018.

## Autor

Valéria Pinheiro Braccini<sup>1,\*</sup>, Regis Trentin Piovesan<sup>2</sup>, Janaina Balk Brandão<sup>2</sup>, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards<sup>1</sup>

1. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.
2. Departamento de Educação Agrícola e Extensão Rural, Universidade Federal de Santa Maria - DEAR/UFSM, Avenida Roraima, 1000, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

\* Autor para correspondência: [valurug@gmail.com](mailto:valurug@gmail.com)

## CAPÍTULO 2

### **Avaliação dos parâmetros de qualidade de queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil**

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Maritiele Naissinger da Silva, Deisi Dariane Rodrigues Arbello, Claudia Roséli Fagundes Mafaldo, Magnolia Martins Erhardt

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.c2>

#### **Resumo**

A produção de queijos a partir da utilização de leite cru ainda é muito comum em produções informais e comercializadas em algumas feiras livres como produto artesanal. O presente estudo teve por objetivo coletar queijos vendidos como queijos coloniais em feiras livres de Santa Maria, RS e analisar os parâmetros de qualidade físico-química e microbiológica desses produtos. Dez amostras de queijos coloniais foram coletadas e investigada quanto aos ingredientes utilizados e a matéria-prima na fabricação dos produtos. Apenas duas das dez amostras eram fabricadas com leite pasteurizado. A maturação mínima informada variou entre um e cinco dias e após esse período os queijos já eram comercializados. Através das análises físico-químicas, os queijos foram classificados quanto aos teores de umidade e gordura no extrato seco, segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, sendo encontrado queijos de muito alta, alta e média umidade e queijos semi-gordos e gordos. As análises microbiológicas mostraram que as amostras produzidas a partir de leite pasteurizado não apresentaram contagem de estafilococos superior ao permitido pela legislação vigente. Os resultados mostram que não há uma padronização na produção do queijo colonial na região sendo necessária adequações na produção, tanto para o desenvolvimento dos queijos que ocorrem com leite cru, quanto para a manipulação inadequada, uma vez que práticas incorretas podem prejudicar a saúde do consumidor.

**Palavras-chave:** Feiras livres, produto artesanal, qualidade, regulamento técnico, saúde do consumidor.

#### **1. Introdução**

O processo artesanal de alimentos é característico da cultura local e seu processamento contribui para a fixação do homem no campo, geração de empregos e manutenção da cultura e tradições locais [1]. Entre os alimentos artesanais, o queijo se destaca no cenário brasileiro, em especial na região sul, por apresentar alto valor nutritivo em função de sua composição química, como também pelas suas características sensoriais, o que contribui para o aumento expressivo da sua produção, comercialização e consumo, apresentando grande importância socioeconômica [2].

O queijo colonial tem importância na vida econômica da população que reside no meio rural, que tem nessa atividade uma fonte alternativa de renda. Na fabricação, desde a coleta do leite, processo de transformação, maturação e venda, as condições

higiênico-sanitárias devem ser rigorosamente observadas pois, falhas em qualquer uma das etapas, pode resultar em um produto com qualidade comprometida, contendo agentes etiológicos constituindo um risco em potencial para a saúde do consumidor [3, 4, 5].

Difícilmente existe um padrão de técnicas de fabricação entre as propriedades produtoras, uma vez que sua produção é essencialmente artesanal e a tecnologia empregada se constitui de conhecimentos adquiridos por tradição familiar regional, portanto, sem padrão específico que permita uma definição. Na maioria das propriedades esses queijos são produzidos com leite cru e comercializados fresco ou com poucos dias de maturação [6, 7].

A legislação vigente estabelece a obrigatoriedade da pasteurização do leite utilizado na fabricação de queijos que possuam um período de maturação inferior a 60 dias, visando a segurança do produto [8].

Apesar da importância financeira do queijo tipo colonial para os pequenos produtores da região sul do Brasil (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul) há poucos dados a respeito da produção, da mesma forma, não existe regulamento técnico que diferencie este tipo de queijo, o que, conseqüentemente, dificulta sua caracterização e controle [9].

Alguns fatores podem influenciar a composição final do queijo, como as características da matéria-prima, teor de proteína e gordura, bem como os demais ingredientes utilizados e a tecnologia de fabricação empregada. É importante analisar os parâmetros que se encontram nos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQ) estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para caracterizar os produtos comercializados no Brasil, pois a qualidade dos produtos oferecidos aos consumidores pode colocar em risco a saúde dos mesmos [4, 10].

Queijos artesanais, especialmente os frescos, são considerados veículos carreadores de patógenos de origem alimentar e essa contaminação é relevante tanto para as indústrias, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública [11, 12].

Assim, considerando a importância socioeconômica e que não há uma padronização sobre o modo de produção do queijo colonial, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade de queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil.

## **2. Materiais e Métodos**

Foram coletadas 10 amostras de queijos tipo colonial comercializados em feiras livres em Santa Maria, RS, produzidos em agroindústrias localizadas no entorno de Santa Maria. As amostras foram transportadas até o Laboratório de Leite e Derivados do DTCA em caixa térmica com gelo sintético, identificadas (QC1 a QC10) e transferidas para o armazenamento a 5 °C até o momento das análises. No momento da coleta das amostras, os produtores foram questionados sobre a matéria-prima para a fabricação dos queijos e o tempo mínimo de maturação até que fossem comercializados. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria, sob número de registro 56769116.9.0000.5346.

As análises físico-químicas foram realizadas nos dias posteriores à coleta das amostras, com o objetivo de caracterizar e classificar os queijos de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Queijos, presente na Portaria 146/1996 [8].

Os queijos foram analisados através das determinações propostas pela Instrução Normativa 68/2006 [13], para teor de umidade, fração mineral (cinzas), gordura pelo método butirométrico, proteína pelo método de micro-Kjeldahl, carboidratos obtidos por diferença, cloretos e acidez potenciométrica. O valor calórico dos queijos foi obtido pela somatória dos teores de carboidratos e proteínas, multiplicados por quatro, e de gordura, multiplicados por nove, de acordo com os coeficientes de Atwater [14].

As análises microbiológicas foram realizadas no dia em que foram coletadas as amostras. Os queijos foram submetidos às análises exigidas pela Portaria 146/1996 [8] para avaliação da presença de coliformes a 35 °C e a 45 °C, contagem de estafilococos coagulase positiva e análise de *Salmonella* [15].

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas no Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria. Os resultados das análises físico-químicas foram tratados estatisticamente pela ANOVA e as diferenças significativas pelo Teste de Tukey sendo, o intervalo de confiança estimado de 95% e a margem de erro máxima estimada em torno de 5% (considerando  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo), utilizando o programa de análise específico para o cumprimento dos objetivos da pesquisa, o software *Statistical Package for Social Science* 15.0 (SPSS).

### 3. Resultados e Discussão

No momento da coleta das amostras, foi investigada a matéria-prima utilizada para a fabricação dos queijos, onde constatou-se que apenas duas amostras (QC9 e QC10) eram produzidas a partir de leite pasteurizado. Todos os produtores utilizavam coalho líquido industrializado e realizavam a salga na massa do queijo. Quanto ao uso de cultura *starter* na fabricação dos queijos, com exceção das amostras QC1 e QC2, todas as demais utilizavam alguma cultura *starter*. O tipo de microrganismo presente de forma endógena ou presente no fermento láctico usado na fabricação, por exemplo, se é uma cultura mesofílica ou termofílica, irão desempenhar um papel predominante na formação do sabor e textura dos queijos maturados [16]. Já em queijos frescos, o sabor surge a partir da produção do ácido láctico e de compostos aromáticos voláteis da fermentação da lactose por bactérias *starters* no processo de maturação [17]. Basicamente todos os queijos são resultantes de uma mesma sequência de operações, as diferenças entre um tipo de queijo e outro estão na tecnologia empregada e na seleção de microrganismos usados no processo de fermentação [18].

Neste estudo, o período de maturação mínima foi considerado como o tempo mínimo em que o queijo era levado para comercialização após sua fabricação, que variou de um a cinco dias (Tabela 1). Vale ressaltar, que era o tempo mínimo, ou seja, se houvesse demanda, os produtores comercializavam com este tempo mínimo, porém, relataram que os queijos normalmente maturavam por sete dias, entretanto, não havia um controle de tempo e temperatura de maturação.

A comercialização de queijos elaborados a partir de leite cru é proibida no Brasil, devido ao risco potencial que representa à saúde do consumidor, principalmente quando submetido a condições precárias de processamento nas propriedades produtoras e ao clima desfavorável para manuseio à temperatura ambiente [19]. Exceção se faz para queijos com maturação mínima de 60 dias, sob temperatura superior a 5 °C [8].

Os queijos foram classificados quanto aos teores de gordura no extrato seco e umidade, conforme o RTIQ de Queijos da Portaria 146/1996, onde são classificados como “extra gordo” ou “duplo creme” os queijos que contém o mínimo de 60% de

gordura; como “gordos” quando contém entre 45,0 e 59,9%; como “semi-gordo” quando contém entre 25,0 e 44,9%; “magros” entre 10,0 e 24,9% e “desnatados” os queijos que contém menos de 10,0% de gordura. Quanto à classificação de umidade, os queijos de “baixa umidade”, que geralmente são conhecidos como queijos de massa dura, apresentam umidade de até 35,9%; os queijos de “média umidade”, que geralmente são conhecidos como queijos de massa semidura, possuem umidade entre 36,0% e 45,9%; os queijos de “alta umidade”, que geralmente são conhecidos como de massa branda ou macios, têm umidade entre 46,0 e 54,9% e os queijos de “muito alta umidade”, que geralmente são conhecidos como de massa branda ou mole, apresentam umidade superior a 55,0% [8].

Pode-se perceber que os queijos se classificam entre semi-gordo e gordo e, possuem média, alta ou muito alta umidade (Tabela 1). Estando em acordo com Silveira Junior et al. [20], que classifica em seu estudo o queijo tipo Colonial como de alta umidade. Pelo fato do pouco tempo de maturação, os queijos apresentam alto teor de umidade. A concentração de gordura aumenta conforme aumenta o período de maturação, ocorrendo diminuição do teor de umidade e conseqüente aumento no teor de gordura.

Amostra	Matéria-prima	Maturação mínima	Umidade	Gordura
QC1	Leite cru Coalho industrial Sal	1 dia	Alta umidade	Semi-gordo
QC2	Leite cru Coalho industrial Sal	1 dia	Alta umidade	Gordo
QC3	Leite cru Coalho industrial Cloreto de cálcio Cultura <i>Starter</i> Sal	5 dias	Média umidade	Gordo
QC4	Leite cru Coalho industrial Cloreto de cálcio Cultura <i>Starter</i> Sal	5 dias	Alta umidade	Gordo
QC5	Leite cru Coalho industrial Cloreto de cálcio Cultura <i>Starter</i> Sal	5 dias	Média umidade	Gordo
QC6	Leite cru Coalho industrial Cloreto de cálcio Cultura <i>Starter</i> Sal	5 dias	Alta umidade	Semi-gordo
QC7	Leite cru Coalho industrial Cultura <i>Starter</i> Sal	2 dias	Muito alta umidade	Semi-gordo
QC8	Leite cru Coalho industrial Cultura <i>Starter</i> Sal	2 dias	Alta umidade	Semi-gordo
QC9	Leite pasteurizado Coalho industrial Cloreto de cálcio Cultura <i>Starter</i> Sal	2 dias	Média umidade	Semi-gordo
QC10	Leite pasteurizado	2 dias	Média umidade	Semi-gordo

Coalho industrial  
Cloreto de cálcio  
Cultura Starter  
Sal

Tabela 1. Informações dos queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil, quanto à matéria-prima e ao tempo de mínimo de maturação e classificação quanto aos teores de umidade e gordura de acordo com a Portaria 146/1996.

As análises físico-químicas mostram a diferença existente entre as amostras de queijos coloniais, com principal influência da matéria-prima e do modo de produção (Tabela 2). O queijo colonial não possui um regulamento técnico específico. Torna-se conhecido pela produção de forma artesanal e fabricação a partir de leite cru [21].

Nas dez amostras de queijo colonial analisadas, a acidez variou de 0,11 a 0,23 g de ácido láctico/100 g entre as amostras de queijos coloniais coletadas, a umidade de 44,02 a 58,03%, o teor de cinzas encontrado foi de 2,22 a 3,29%, e o teor de cloretos variou de 0,19 a 0,99%. O teor de proteína encontrado foi de 18,01 a 23,73%, o teor de gordura variou entre 17,43 e 26,02% e carboidratos de 1,85 e 5,45%.

Lucas e colaboradores [22] avaliaram queijos coloniais comercializados em Medianeira, PR, e constataram que a umidade das amostras variou de 45,41 a 52,98% e a gordura de 15,43 a 26,53%. Silva [23] analisou oito amostras de queijo colonial de Francisco Beltrão, PR, e constatou que a acidez variou de 0,09 a 0,55 g de ácido láctico/100 g, a umidade de 37,52 a 48,09%, proteína de 16,74 a 28,35 %, gordura de 19,33% e 26,95% e cinzas de 3,06% a 6,99%. Valores semelhantes foram observados neste estudo.

Amostra	Parâmetros Físico-Químicos						
	Acidez (g de ác. láctico/100g)	Umidade (%)	Cinzas (%)	Proteína (%)	GES (%)	Carboidratos (%)	Cloretos (%)
QC1	0,18 <sup>a</sup> ±0,03	54,24 <sup>a</sup> ±0,12	2,22 <sup>b</sup> ±0,09	21,72 <sup>a</sup> ±1,23	43,64 <sup>b</sup> ±0,22	1,85 <sup>ab</sup> ±1,23	0,56 <sup>a</sup> ±0,02
QC2	0,19 <sup>a</sup> ±0,04	47,83 <sup>b</sup> ±0,04	2,73 <sup>b</sup> ±0,56	18,01 <sup>b</sup> ±0,16	49,80 <sup>a</sup> ±0,31	5,45 <sup>b</sup> ±0,45	0,41 <sup>b</sup> ±0,00
QC3	0,14 <sup>b</sup> ±0,03	45,98 <sup>b</sup> ±0,03	2,82 <sup>b</sup> ±0,03	22,56 <sup>a</sup> ±0,17	45,02 <sup>a</sup> ±0,61	4,32 <sup>a</sup> ±1,42	0,65 <sup>b</sup> ±0,06
QC4	0,12 <sup>b</sup> ±0,04	46,20 <sup>b</sup> ±0,52	3,02 <sup>a</sup> ±0,03	21,02 <sup>a</sup> ±0,96	46,65 <sup>a</sup> ±0,19	4,66 <sup>a</sup> ±2,13	0,71 <sup>b</sup> ±0,07
QC5	0,11 <sup>b</sup> ±0,03	44,02 <sup>c</sup> ±0,65	2,89 <sup>b</sup> ±0,02	22,09 <sup>a</sup> ±0,37	46,48 <sup>a</sup> ±0,43	4,98 <sup>a</sup> ±0,80	0,86 <sup>a</sup> ±0,12
QC6	0,17 <sup>a</sup> ±0,02	46,71 <sup>b</sup> ±0,48	3,12 <sup>a</sup> ±0,15	22,98 <sup>a</sup> ±0,43	43,01 <sup>b</sup> ±0,89	4,27 <sup>a</sup> ±0,54	0,94 <sup>a</sup> ±0,06
QC7	0,22 <sup>a</sup> ±0,04	58,03 <sup>a</sup> ±0,26	3,15 <sup>a</sup> ±0,05	18,12 <sup>b</sup> ±0,18	41,53 <sup>c</sup> ±0,15	3,27 <sup>a</sup> ±0,15	0,99 <sup>a</sup> ±0,07
QC8	0,16 <sup>a</sup> ±0,02	54,75 <sup>a</sup> ±0,58	2,67 <sup>c</sup> ±0,09	19,86 <sup>a</sup> ±0,98	42,98 <sup>b</sup> ±0,32	3,27 <sup>a</sup> ±1,13	0,83 <sup>ab</sup> ±0,03
QC9	0,23 <sup>a</sup> ±0,03	45,96 <sup>b</sup> ±0,21	3,29 <sup>a</sup> ±0,17	23,73 <sup>a</sup> ±1,69	43,24 <sup>a</sup> ±1,29	3,65 <sup>a</sup> ±2,21	0,19 <sup>b</sup> ±0,01
QC10	0,20 <sup>a</sup> ±0,02	44,22 <sup>c</sup> ±0,53	2,83 <sup>b</sup> ±0,08	23,62 <sup>a</sup> ±0,18	43,01 <sup>a</sup> ±0,39	5,34 <sup>b</sup> ±1,01	0,39 <sup>b</sup> ±0,05

GES = gordura no extrato seco

\*Letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% (p<0,05). Médias acompanhadas ± Desvio Padrão.

Tabela 2. Análises físico-químicas das amostras de queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil.

O queijo colonial, por não apresentar legislação específica e parâmetros a serem seguidos, cada produtor realiza a fabricação de maneiras distintas. Isso, influencia nas características finais do produto, bem como, na composição nutricional. O valor calórico dos queijos coloniais analisados variou de 242,43 a 342,46 Kcal (Tabela 3), sendo a gordura o principal componente calórico. A amostra QC7, que apresentou menor valor calórico, possui muito alta umidade e é classificado como um queijo semi-gordo em relação a gordura. De acordo com a informação da composição nutricional

fornecida pelo IBGE para queijos tipo colonial, em 100g do produto contém 302 Kcal, 25,96 g de proteína, 20,03 g de gordura, 3,83 g de carboidratos [24].

Amostra	U (%)	PTN g (Kcal)	GOR g (Kcal)	CHO g (Kcal)	Kcal em 100g
QC1	54,24	21,72 (86,88)	19,97 (179,73)	1,85 (7,40)	274,01
QC2	47,83	18,01 (72,04)	25,98 (233,82)	5,45 (1,80)	307,66
QC3	45,98	22,56 (90,24)	24,32 (218,88)	4,32 (17,28)	326,40
QC4	46,20	21,02 (84,08)	25,10 (225,90)	4,66 (18,64)	263,18
QC5	44,02	22,09 (88,36)	26,02 (234,18)	4,98 (19,92)	342,46
QC6	46,71	22,98 (91,68)	22,92 (206,28)	4,27 (17,08)	315,04
QC7	58,03	18,12 (72,48)	17,43 (156,87)	3,27 (13,08)	242,43
QC8	54,75	19,86 (79,44)	19,45 (175,05)	3,27 (13,08)	267,57
QC9	45,96	23,73 (94,92)	23,37 (210,33)	3,65 (14,60)	319,85
QC10	44,22	23,62 (94,41)	23,99 (215,91)	5,34 (21,36)	331,36

Legenda: U = umidade; PTN = proteína; GOR = gordura; CHO = carboidratos. A determinação de Kcal se deu através dos coeficientes de Atwater, onde 1g de PTN = 4 Kcal, 1g de GOR = 9 Kcal e 1g de CHO = 4 Kcal [14].

Tabela 3. Caracterização dos queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil, quanto à informação nutricional, referente a 100g de produto.

As análises microbiológicas mostraram que os queijos coloniais QC1, QC4 e QC9 apresentaram contagem para coliformes termotolerantes superior ao permitido pela legislação, a RDC 12/2001 [25], conforme é apresentado na Tabela 4. Todas as amostras, com exceção da QC9 e QC10 apresentaram contagem positiva para estafilococos também superior ao permitido pela legislação [25]. As amostras que estão em acordo com a legislação quanto a contagem de estafilococos (QC9 e QC10) são os queijos produzidos a partir de leite pasteurizado, o que mostra a eficiência da pasteurização na eliminação de microrganismos patogênicos. Entretanto, a amostra QC9 apresentou contaminação por coliformes termotolerantes, enquanto a QC10 estava apta para a consumo. Um momento crítico na fabricação de queijos e que pode haver contaminação é durante a maturação e armazenamento, podendo ser neste período em que houve a contaminação por coliformes em queijo produzido a partir de leite pasteurizado. Todas as amostras analisadas apresentaram ausência de *Salmonella* (Tabela 4).

Amostras	Coliformes termotolerantes	RDC 12/2001	Estafilococos aureus	RDC 12/2001	Salmonella	RDC 12/2001
QC1	1,5x10 <sup>5</sup>	5x10 <sup>3</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC2	<1,0x10	5x10 <sup>3</sup>	1,4x10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC3	<1,0x10	10 <sup>3</sup>	3,7x10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC4	2,4x10 <sup>9</sup>	5x10 <sup>3</sup>	6,3x10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC5	<1,0x10	10 <sup>3</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC6	<1,0x10	5x10 <sup>3</sup>	2,4x10 <sup>8</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC7	<1,0x10	5x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC8	2,8x10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC9	1,1x10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	4,4x10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente
QC10	<1,0x10	10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	Ausente	Ausente

Valores em *italico* representam as contagens acima do tolerável pela RDC nº 12 de 2001.

Tabela 4. Análises microbiológicas das amostras de queijos coloniais comercializados em Santa Maria, RS, Brasil. Resultados expressos em UFC/g. Comparação dos resultados com a RDC nº 12 de 2001.

Dentre os produtos lácteos, os queijos são considerados um veículo frequente de patógenos de origem alimentar e, em especial, os queijos frescos artesanais por

serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação. A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a Saúde Pública, pelo risco de causar DTAs [26].

Casaril et al. [27] avaliaram dez amostras de queijo colonial na região sudoeste do Paraná e constataram que 50% das amostras possuía coliformes termotolerantes acima do permitido, 40% contaminação por estafilococos e uma amostra presença de *Salmonella*. Lucas et al. [6] avaliando a contagem de coliformes termotolerantes, concluiu que sete de oito amostras de queijo colonial comercializados na cidade de Medianeira, PR apresentaram valores acima de  $10^6$  UFC/g e estafilococos acima do permitido pela legislação em apenas uma amostra.

Santos–Koellen et al. [28] realizaram a avaliação microbiológica de queijo colonial da região oeste do Paraná, e na análise de estafilococos aureus observaram que, das sete amostras analisadas, três estavam contaminadas na faixa de  $3,0 \times 10^2$  UFC/g a  $5,4 \times 10^4$  UFC/g e quanto à análise de coliformes termotolerantes, quatro amostras apresentaram contagens de  $2,0 \times 10^6$  UFC/g a  $8,8 \times 10^7$  UFC/g. Em pesquisa realizada por Pontarolo [29] mais de 50% das amostras de queijos coloniais avaliadas, após 14 e 28 dias de maturação, apresentaram valores acima de  $10^3$  UFC/g. Silva [23] constatou em análises realizadas com queijos coloniais, que as amostras que apresentaram maior teor de umidade, em torno de 40%, também apresentaram contaminação por estafilococos e coliformes termotolerantes.

A garantia da qualidade dos queijos desenvolvidos em agroindústrias está vinculada ao atendimento das regras previstas em legislação quanto à sanidade da matéria-prima, período de maturação dos queijos e ao adequado emprego das Boas Práticas de Fabricação (BPF). O uso adequado da tecnologia de produção, bem como a regulamentação dos procedimentos de produção, permitirá a produção de produtos inócuos e seguros ao consumo humano [30].

#### 4. Conclusão

O queijo colonial no Rio Grande do Sul é fabricado de várias maneiras, com ingredientes diferentes, obtendo características distintas entre cada produtor, e passando as tradições entre gerações. O processo de fabricação, muitas vezes é inapropriado, ocasionando queijos em desacordo com os parâmetros de qualidade físico-química e microbiológica, estabelecidos nos regulamentos legais, como observado neste estudo. No contexto da agricultura familiar é uma atividade importante do ponto de vista socioeconômico, portanto mostra-se a necessidade de que o queijo colonial receba atenção e importância social, principalmente ser seguro para o consumidor. A presença de microrganismos como coliformes termotolerantes e estafilococos acima do estabelecido pela norma indicam uma má qualidade microbiológica dos queijos comercializados nas feiras livres de Santa Maria, tornando-os impróprios para o consumo. Assim, salienta-se a necessidade desse produto ser devidamente regulamentado e implantado melhorias do controle de produção, por meio de boas práticas de fabricação, o que pode garantir a inclusão desses produtos regionais no mercado, manter suas características, além de produzir um alimento padronizado, seguro e com qualidade nutricional e sanitária.

#### 5. Referências

[1] Bánkuti F.I., Madrona G.S., Pozza M.S.S., Bánkuti S.M.S., Santos S.S., Ressutte J. Potencialidades tecnológicas e qualidade da cadeia produtiva do queijo colonial na região Sul do Brasil: uma revisão. *Journal of Engineering and Business* 2017:50-64.

- [2] Perry K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova* 2004; 27(2):293-300. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000200020>.
- [3] Zaffari C.B., Mello J.F., Costa M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural* 2007; 37(3):862-867. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782007000300040>.
- [4] Silva M.N., Tagliapietra B.L., Richards N.S.P.S. Avaliação de queijos coloniais produzidos por pequenos produtores na região da fronteira oeste do RS. In: 20º Simpósio Nacional e Internacional de Queijo e Leite, 2017, Porto Alegre, RS. Anais do 20º Simpósio Nacional e Internacional de Queijo e Leite. Porto Alegre, RS: AGL, 2017. 1:21.
- [5] Ângulo L.D.M. Principales bacterias transmitidas por alimentos, preservación y control. In: Ramírez Mérida, L.G. *Agrobiología: una visión general y sus aplicaciones*. <http://dx.doi.org/10.4322/mp.2020.001.04>.
- [6] Lucas S.D.M., Tsuchiya A.C., Souza M., Mattana A. Pereira C. Caracterização microbiológica de queijo colonial da região oeste do Paraná, In: V Encontro Nacional de Difusão Tecnológica, 5, 2008, Medianeira. Anais. Medianeira: 1 CD-ROM. 2008.
- [7] Cassanego D.B., Souza B.G., Gusso A.P., Jiménez M.S.E., Pereira D.B., Richards N.S.P.S. Avaliação microbiológica e físico-química de queijos coloniais comercializados no município de Santa Maria, RS Brasil. *Revista Indústria de Laticínios* 2014; 19:58-61.
- [8] Brasil. Portaria n. 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Brasília, 11 mar. 1996.
- [9] Tesser I.C., Fariña L.O., Kottwitz L.B.M., Sosa D.E.F., Pramiu D.C. Fabricação artesanal de queijo colonial analisada sob os critérios da Instrução Normativa nº30/2013 (Municípios do Território da Cantuquiguaçu Paraná, Brasil). *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2016; 71(4):206-218. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v71i4.506>.
- [10] Moreno V.J. Caracterização físico-química do queijo minas artesanal da microregião Campo das Vertentes. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) - Universidade Federal de Juiz de Fora. Juiz de Fora, 2013.
- [11] Rezende P.H.L., Mendonça E.P., Melo R.T., Coelho L.R. Monteiro G.P., Rossi D.A. Aspectos sanitários do queijo minas artesanal comercializado em feiras livres. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2010; 65(377):36-42. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v65i377.148>.
- [12] Fava L.W., Hernandez J.F.M., Pinto A.T., Schmidt V. Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. *Acta Scientiae Veterinariae* 2012; 40(4):1084. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/2890/289023924019.pdf>. Acesso em 03 Ago. 2020.
- [13] Brasil. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físicoquímicos para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, 2006.

- [14] Mahan L.K., Raymond J.L. Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 14<sup>ed</sup>. 2018, Elsevier. 1160p.
- [15] Brasil. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, 2003.
- [16] Law B.A. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies. *International Dairy Journal* 2001; 11:383-398. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00067-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00067-X).
- [17] Costa Junior L.C.G., Moreno V.J., Magalhães F.A.R., Costa R.G.B., Resende E.C., Carvalho K.B.A. Maturação do queijo minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes e os efeitos dos períodos seco e chuvoso. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2014; 69(2):111-120. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v69i2.326>.
- [18] Santos J.S., Santana M.M., Santos R.D., Aquino A.C.M.S., Silva G.F., Castro A.A. Diagnóstico das condições de processamento de produtos artesanais derivados do leite no estado de Sergipe. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2008; 63(363):17-25.
- [19] Caridi A., Micari P., Caparra P., Cufari A., Sarullo V. Ripening and seasonal changes in microbial groups and in physic-chemical properties of the ewes' cheese Pecorino del Poro. *International Dairy Journal* 2003; 13(2-3):191-200. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00157-7](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00157-7).
- [20] Silveira Júnior J.F., Oliveira D.F., Braghini F., Loss E.M.S., Bravo C.E. Tonial I.B. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2012; 67(386):67-80. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120038>.
- [21] Resende M.F.S. Queijo minas artesanal da serra da canastra: influência da altitude e do nível de cadastramento das queijarias nas características físico-químicas e microbiológicas. 2010. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- [22] Lucas S.D.M., Scalco A., Feldhaus S., Drunkler D.A., Colla E. Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira – PR. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2012; 67(386):38-44. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120034>.
- [23] Silva F., Silva G., Tonial I.B., Castro-Cislaghi F.P. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados no sudoeste do Paraná. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos* 2015; 33(2):31-42. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v33i2.47167>.
- [24] IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tabela de composição nutricional dos alimentos consumidos no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008 – 2009. Ministério da Saúde, 2011.
- [25] Brasil. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União; Poder Executivo, 2001.

[26] Feitosa F.L.F., Borges A.S., Benesi F.J., Birgel E.H., Mendes L.C.N., Peiro J.R. Concentração de imunoglobulinas G e M no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa até os 90 dias de idade. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 2003; 40(1):26-31. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962003000700004>.

[27] Casaril K.B.P.B., Bento C.B.P., Henning K., Pereira M., Dias V. Qualidade microbiológica de salames e queijos coloniais produzidos e comercializados na região sudoeste do Paraná. *Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável* 2017; 7(2):75-85. <https://doi.org/10.21206/rbas.v7i2.416>.

[28] Santos-Koelln F.T., Mattana A., Hermes E. Avaliação microbiológica do queijo tipo mussarela e queijo colonial comercializado na região oeste do Paraná. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial* 2009; 3(2):66-74. <https://doi.org/10.3895/S1981-36862009000200008>.

[29] Pontarolo G.H., Melo F.D., Martini C.L., Wildemann P., Alessio D.R.M., Sfaciotte A.P., Thaler Neto A., Vaz E.K., Ferraz S.M. Quality and safety of artisan cheese produced in the serrana region of Santa Catarina. *Ciências Agrárias* 2017; 38(2):739-748. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p739>.

[30] Pereira B.P., Vieira T., Valent J.Z., Bruzza A., Wagner S.A., Pinto A.T., Schmidt V. Implicações do processo produtivo na qualidade do queijo artesanal serrano. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental (REGET)* 2014; 18:116-126. <https://doi.org/10.5902/2236117013183>.

## **Autores**

Neila Silvia Pereira dos Santos Richards\*, Maritiele Naissinger da Silva, Deisi Dariane Rodrigues Arbello, Claudia Roséli Fagundes Mafaldo, Magnolia Martins Erhardt.

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, Prédio 42, sala 3211, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

\* Autor para correspondência: [neilarichardsprof@gmail.com](mailto:neilarichardsprof@gmail.com)

---

### Elaboração de sobremesa láctea achocolatada com café

Mariana Saurin Tolfo, Bruna Lago Tagliapietra, Alvaro da Cruz Carpes, Ana Carolina Mendes Dias Seibt, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.c3>

#### Resumo

O consumo de sobremesas lácteas tem apresentado importante crescimento nesta última década, justificado pelo progresso tecnológico em ingredientes e processos. Este estudo teve a finalidade de desenvolver sobremesa láctea achocolatada com café. Três formulações foram desenvolvidas, uma considerada padrão, sem adição de café, e duas com adição de café, com concentrações de 0,4 e 1,6%. Foram realizadas análises físico-químicas para avaliação do pH e atividade de água, e determinação dos teores de umidade, cinzas, proteína, gordura e carboidratos. Testes afetivos de ordenação-preferência e intenção de compra foram aplicados em 50 avaliadores que consomem este tipo de produto. Os resultados mostraram que o produto desenvolvido é viável, oferecendo um produto com sabor mais acentuado. Os testes sensoriais aplicados indicaram que a sobremesa láctea com 0,4% de café foi escolhida a preferida pelos provadores e o teste de intenção de compra mostrou que 100% e 70% dos provadores comprariam a sobremesa láctea achocolatada com 0,4% e com 1,6% de café, respectivamente. Os resultados mostraram boa aceitação dos produtos por parte dos consumidores, e a adição de café não apresentou diferença estatística significativa quando avaliadas as propriedades físico-química das amostras analisadas.

**Palavras-chave:** Análise sensorial, cacau em pó, café, derivado lácteo, sobremesa láctea.

#### 1. Introdução

Os produtos lácteos são consumidos em todo o mundo, e suas diferentes características nutricionais e sensoriais estimulam e favorecem seu consumo por diversos grupos da população. O mercado de sobremesas lácteas tem apresentado aumento nas últimas décadas, impulsionado pelos avanços tecnológicos das indústrias de laticínios, e dos ingredientes utilizados cada vez mais inovadores, o que possibilita a otimização de produtos com maior valor nutricional, variedade de texturas, sabores e aparências [1].

Em 2020 o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) publicou a Instrução Normativa nº 72 [2] que estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e os Requisitos de Qualidade que devem apresentar as sobremesas lácteas. A sobremesa láctea é definida como o produto lácteo pronto para o consumo, composto pela mistura de leite, em suas diversas formas, padronizado ou não em seu teor de gordura, proteína, ou ambos, com derivados lácteos ou substâncias alimentícias, ou

ambos, podendo ser adicionada de amidos, amidos modificados e maltodextrina. As sobremesas lácteas deverão apresentar mais que 50% m/m (cinquenta por cento massa/massa) de leite e outros produtos lácteos, isolado ou em combinação, do total de ingredientes do produto e, ainda não será permitida a adição de gordura vegetal em substituição à gordura láctea.

As sobremesas lácteas podem apresentar consistência semi-sólida, pastosa, sólida, aerada, gelificada, entre outras e são basicamente formuladas com leite, hidrocolóides, aroma e corante. Sua estabilidade depende da tecnologia de fabricação, características intrínsecas de cada ingrediente e estocagem sob condições refrigeradas [2, 3]. O processo de fabricação é constituído basicamente das etapas de preparo da mistura, tratamento térmico, homogeneização, resfriamento parcial e estocagem sob refrigeração [4].

Sobremesas lácteas achocolatadas são amplamente consumidas em todo o mundo, por consumidores de diferentes faixas etárias, sendo que os maiores consumidores são crianças até 10 anos de idade, responsáveis por quase 50% do volume consumido. Os lácteos achocolatados vêm despertando atenção na indústria alimentícia devido as suas características sensoriais como cor, sabor e aroma [5].

O desenvolvimento de novos produtos é um desafio para a indústria alimentícia, à medida que procura atender à demanda dos consumidores por alimentos saudáveis e atrativos [6]. Os ingredientes inovadores e sistemas tecnológicos aplicados nas indústrias de laticínios proporcionam novas alternativas às sobremesas clássicas, permitindo a produção de novos sabores, e produtos com maior digestibilidade e valor nutritivo [4]. Um dos ingredientes que pode ser utilizado na formulação deste produto é o café.

O café é um produto consumido diariamente no mundo por todas as classes sociais; desde o século XIX a importância da cafeicultura para o desenvolvimento econômico do Brasil é indiscutível [7]. Assim como as sobremesas lácteas, o café é um dos produtos mais consumidos no mundo. Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria de Café (ABIC), o Brasil é o segundo maior consumidor de café do mundo, consumindo cerca de 1,07 milhões de toneladas no ano de 2017 [8].

Tendo em vista o grande consumo de café pelos brasileiros e o aumento da elaboração de sobremesas lácteas pela indústria de laticínios, o presente estudo teve por objetivo o desenvolvimento de um produto achocolatado com adição de diferentes concentrações de café. As amostras foram caracterizadas físico-química e sensorialmente, com o intuito de estabelecer o valor nutricional e a aceitação do produto.

## **2. Materiais e Métodos**

A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria (RS), Brasil.

Foram desenvolvidas três formulações de sobremesa láctea, uma sem adição de café, considerada formulação padrão e denominada SL0, e duas com concentrações diferentes de café, sendo denominadas SL1, a formulação com 0,4% de café e SL2 com 1,6% de café adicionado, de acordo com o estabelecido pelo Regulamento Técnico para Misturas para o Preparo de Alimentos Prontos para o Consumo (Resolução Nº 273, de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA) [9]. Para assegurar a qualidade higiênico-sanitária do produto elaborado, foram atendidos os requisitos apresentados pela Portaria nº 326 do

Ministério da Saúde de 30 de junho de 1997, a qual dispõe de condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos [10].

Para a preparação das sobremesas lácteas, foi utilizado leite integral UHT (Santa Clara®), goma xantana (*Hexus Food*®), açúcar (Alto Alegre®), sal (Diana®) e sabor chocolate (Selecta, Duas Rodas®) nas mesmas proporções para as três formulações. De acordo com a formulações as quantidades de cacau em pó (Garoto®) e café solúvel em pó (Iguaçu®) foram ajustadas (Tabela 1).

<b>Ingredientes</b>	<b>SL0</b>	<b>SL1</b>	<b>SL2</b>
Leite integral UHT (base)	2 L 16 (0,8%)	2 L 16 (0,8%)	2 L 16 (0,8%)
Goma xantana (g)			
Açúcar (g)	240 (12,0%)	240 (12,0%)	240 (12,0%)
Sal (g)	4 (0,2%)	4 (0,2%)	4 (0,2%)
Sabor chocolate (g)	20 (1,0%)	20 (1,0%)	20 (1,0%)
Cacau em pó (g)	80 (4,0%)	72 (3,6%)	48 (2,4%)
Café solúvel em pó (g)	-	8 (0,4%)	32 (1,6%)

Tabela 1. Formulações de sobremesa láctea achocolatada com café.

Na elaboração das sobremesas lácteas, os ingredientes secos foram misturados e, posteriormente, adicionados de leite integral UHT. A foi pasteurizada a 85 °C por 20 minutos, em agitação constante para a total dissolução e homogeneização dos ingredientes. Em seguida, as formulações receberam a adição do sabor chocolate e do café solúvel em pó, na concentração indicada (tabela1). Os produtos foram homogeneizados em *mixer* (11.000 rpm) durante 3 minutos, até completa dissolução.

O produto foi resfriado imediatamente, em banho de gelo, até temperatura de 10 °C e distribuído em embalagens plásticas assépticas, sendo armazenados em refrigerador à temperatura de 5 ± 1 °C por 12 horas e, então, submetidos às análises físico-químicas e sensoriais.

As análises físico-químicas foram: valor de pH (Potenciômetro Gehaka PG 1800) e atividade de água (Aqua-Lab - CX-2T calibrado com solução-padrão antes de cada aferição), determinação dos teores de umidade, cinzas, proteína (fator de correção 6,38) e carboidratos (diferença), de acordo com as recomendações do Instituto Adolfo Lutz [12]. A determinação de gordura seguiu o método de Bligh & Dyer [11]. Todas as análises foram realizadas em triplicatas.

Foram realizados testes sensoriais afetivos de ordenação-preferência (1º, 2º e 3º) e de intenção de compra [12], aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSM (CAAE 56769116.9.0000.5346). No teste de intenção de compra foi utilizada uma escala hedônica de cinco pontos (5 - certamente compraria, 4 - provavelmente compraria, 3 - indiferente, 2 - provavelmente não compraria e 1 - certamente não compraria) [13]. Os testes foram conduzidos em cabines individuais, com 50 provadores. As amostras foram servidas em copos descartáveis com 30 mL de amostra, codificados com números aleatórios de três dígitos. Para a limpeza do palato um copo com água mineral a temperatura ambiente foi disponibilizada aos provadores.

O valor energético da sobremesa láctea foi calculado de acordo com o recomendado pela RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, da ANVISA, utilizando os coeficientes de conversão de Atwater [14], ou seja, 4 kcal/g para proteínas, 4 kcal/g para

carboidratos, 9 kcal/g para lipídios, e os resultados expressos em kcal por 100 gramas [15].

Os dados das análises físico-químicas foram analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias das amostras pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância, o teste de ordenação-preferência pelo método analítico de Friedman [16] e o teste de intenção de compra através de análise de frequência (%), a partir do programa estatístico SPSS® versão 15.0.

### 3. Resultado e Discussão

Em produtos lácteos achocolatados, as gomas reagem com as proteínas do leite e as partículas do cacau a fim de formar uma rede tridimensional, que mantém as partículas em suspensão. Entretanto, para manter as partículas do pó de cacau em suspensão é preciso viscosidade relativamente alta [17].

Os resultados físico-químicos das sobremesas elaboradas estão apresentados na Tabela 2. Não houve diferença significativa entre os parâmetros físico químicos analisados. Os valores de pH das amostras variaram de 6,59 a 6,74. No estudo de Costa et al. [18], que avaliaram sobremesa láctea fermentada com diferentes tipos de estabilizantes, foi encontrado valores de pH em torno de 4,0; valores entre 5,77 e 7,15 foram encontrados no trabalho de Nikaedo et al. [19] com sobremesas lácteas achocolatadas cremosas utilizando concentrado proteico de soro, leite em pó integral e gomas carragena e guar.

A atividade de água (Aa) tem um papel muito importante na estabilidade do produto durante a sua vida de prateleira, conforme explica Silva et al. [20]. Valores de Aa de 0,2 a 0,3 podem baixar a velocidade de reação de oxidação dos ácidos graxos livres. Já a velocidade de oxidação pode aumentar quando os valores de atividade de água forem muito baixos (próximos de zero) e a valores muito elevados (próximos a um) [20]. O presente estudo encontrou valores de Aa em torno de 0,97 e Souza et al. [21], encontraram 0,93 de Aa em sobremesas lácteas de morango elaboradas a partir de soro de queijo.

O teor de proteína das sobremesas lácteas avaliadas, apresentou uma média de 4,32%, corroborando com os teores encontrados por Souza et al. [21], que observaram teores de 4,5% em amostras de sobremesa láctea sabor de morango elaboradas com soro de queijo. Naikaedo et al. [19] analisaram sobremesas lácteas achocolatadas cremosas e encontraram teores médios de 2,84% de proteína, semelhante aos valores encontrados por Costa et al. [18], no estudo com sobremesa láctea fermentada, onde encontraram em torno de 2,41%. Pode-se constatar que a sobremesa láctea achocolatada com adição de café possui um teor de proteína superior em relação à produtos desenvolvidos em estudos similares, e também ao preconizado pela IN 72 [2] que é de 2%, o que atribui uma vantagem ao presente estudo.

Para valores de gordura, Soler et al. [22] encontraram valores médios de 5,8% em sobremesa láctea achocolatada com adição de abacate, corroborando com o encontrado no estudo de Souza et al. [21], de 5,95% de gordura, enquanto o presente trabalho encontrou valores médios de 1,72%.

Quanto ao teor de carboidratos, Soler et al. [22] encontraram valores médios de 36,5% nas sobremesas lácteas com adição de abacate, confirmando com os valores encontrados nas sobremesas lácteas achocolatada com café.

As amostras avaliadas apresentaram teor médio de 1,16% para cinzas, enquanto Soler et al. [22] encontraram média de 0,7% em amostras de sobremesa láctea achocolatada com abacate. O teor de umidade das sobremesas lácteas achocolatadas com café foi de 62%, semelhante ao teor encontrado por Souza et al. [21] de 67%, e Soler et al. [22] que encontraram, em média, 55%.

Todos os parâmetros analisados não apresentaram diferença estatística significativa entre os tratamentos SL0, SL1 e SL2, o que mostra que não houve interferência nas características físico-químicas dos produtos a adição de café, apenas interferências sensoriais, conforme mostram os resultados obtidos pelas análises físico-químicas (Tabela 2) e sensoriais (Tabelas 4 e 5).

Parâmetros	SL0	SL1	SL2	CV (%)
pH	6,59±0,14 <sup>a</sup>	6,63±0,28 <sup>a</sup>	6,74 ± 0,98 <sup>a</sup>	1,09
Aa	0,96±0,00 <sup>a</sup>	0,97±0,00 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,05
Proteína (%)	4,16±0,17 <sup>a</sup>	4,22±0,29 <sup>a</sup>	4,60 ± 1,03 <sup>a</sup>	17,16
Umidade (%)	62,83±0,08 <sup>a</sup>	62,75±0,00 <sup>a</sup>	62,73 ± 0,24 <sup>a</sup>	2,39
Gordura (%)	1,69±0,29 <sup>a</sup>	1,73±0,76 <sup>a</sup>	1,74 ± 0,00 <sup>a</sup>	24,16
Cinzas (%)	1,21±0,22 <sup>a</sup>	1,15±0,77 <sup>a</sup>	1,12 ± 0,11 <sup>a</sup>	8,69
Carboidratos (%)	30,11±1,98 <sup>a</sup>	30,79±2,43 <sup>a</sup>	30,18 ± 1,40 <sup>a</sup>	6,50

\*Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa ao nível de 5% ( $p < 0,05$ ). Médias acompanhadas  $\pm$  = Desvio Padrão. CV = coeficiente de variação. SL0 – 4,0% de cacau em pó e 0% de café; SL1 – 3,6% de cacau em pó e 0,4% de café; SL2 – 2,4% de cacau em pó e 1,6% de café.

Tabela 2. Resultados das análises físico-químicas de sobremesas lácteas achocolatadas com café. Santa Maria, RS, Brasil.

A Tabela 3 refere-se ao valor energético de cada sobremesa com adição de café, mostrando que a porção de 100 g de produto, possui em torno de 150 Kcal, sendo em torno de 120 Kcal composta por açúcares.

Macronutriente	SL0	SL1	SL2
Proteína (Kcal)	16,64	16,88	18,40
Gordura (Kcal)	15,21	15,57	15,66
Carboidrato (Kcal)	120,44	123,16	120,72
Total (Kcal em 100g de produto)	152,29	155,61	154,78

Considerou-se valor calórico de 4 Kcal/g de proteína, 4 Kcal/g de carboidrato e 9 Kcal/g de gordura. SL0 – 4,0% de cacau em pó e 0% de café; SL1 – 3,6% de cacau em pó e 0,4% de café; SL2 – 2,4% de cacau em pó e 1,6% de café.

Tabela 3. Valor energético das sobremesas lácteas achocolatadas com café em 100 g do produto. Santa Maria, RS, Brasil.

A análise sensorial avaliada pelo teste de ordenação-preferência mostrou que a sobremesa láctea achocolatada com 0,4% de café (SL1) foi escolhida como preferida por 56% dos provadores, ou seja, 28 dos 50 provadores assinalaram a amostra SL1 em primeira posição como preferida, entre as três amostras. Entretanto, a amostra com 1,6% (SL2) foi escolhida por apenas dois provadores como preferida entre as três sobremesas. A amostra padrão (SL0) apresentou 40% de escolha como preferida, o que mostra que muito consumidores estão habituados com sabores convencionais e preferem produtos tradicionais quando comparados a outros diferenciados. Ainda, pode-se perceber que o teor de 0,4% de café foi preferido, mostrando que a nova formulação foi bem aceita mesmo em relação à uma formulação padrão e considerada tradicional. A sobremesa com 1,6% de café, de acordo com os comentários dos provadores, mascarou o gosto do cacau e do sabor chocolate, que ficaram pouco perceptíveis. A Tabela 4 mostra os resultados do teste de ordenação-preferência,

observa-se que não existe diferença entre as amostras SL0 e SL1 e, também, entre as amostras SL1 e SL2.

Amostras	Total	Amostras		
		SL0	SL1	SL2
		40	28	6
SL0	40	--	12 <sup>ns</sup>	34*
SL1	28		--	22 <sup>ns</sup>
SL2	6			--

\*As amostras diferem entre si; ns = as amostras não diferem entre si a  $p \leq 0,05$

SL0 – 4,0% de cacau em pó e 0% de café; SL1 – 3,6% de cacau em pó e 0,4% de café; SL2 – 2,4% de cacau em pó e 1,6% de café.

Tabela 4. Resultado do teste afetivo de ordenação-preferência das amostras de sobremesas lácteas achocolatadas com café. Santa Maria, RS, Brasil.

Os resultados obtidos no teste de intenção de compra composta de cinco pontos estão apresentados na Tabela 5. Constatou-se que a amostra padrão, sem adição de café (SL0) apresentou maior índice de “certamente compraria” por parte dos consumidores, o que confirma a tendência do consumidor em escolher produtos com sabor conhecido e de consumo rotineiro. Entretanto, a sobremesa láctea achocolatada com 0,4% de café (SL1), apresentou 100% de índice de compra, incluindo a escala para “certamente” e “provavelmente compraria”. O teor adicionado de 1,6% pode-se considerar que foi menos aceito pelos provadores, porém, mais de 70% dos provadores indicaram que comprariam o produto.

Escala hedônica	SL0	SL1	SL2
Certamente compraria	96% (n=48)	92% (n=46)	58% (n=29)
Provavelmente compraria	4% (n=2)	8% (n=4)	18% (n=9)
Indiferente	-	-	10% (n=5)
Provavelmente não compraria	-	-	14% (n=7)
Certamente não compraria	-	-	-

SL0 – 4,0% de cacau em pó e 0% de café; SL1 – 3,6% de cacau em pó e 0,4% de café; SL2 – 2,4% de cacau em pó e 1,6% de café.

Tabela 5. Teste de intenção de compra para as amostras de sobremesa láctea achocolatada com café. Santa Maria, RS, Brasil.

#### 4. Conclusão

As sobremesas lácteas achocolatadas com café apresentaram uma boa resposta perante aos provadores, sendo que a amostra preferida foi a com menor teor de café adicionado (0,4%). De acordo com os resultados obtidos conclui-se que os teores de café adicionados às sobremesas lácteas não afetaram os parâmetros físico-químicos avaliados, podendo inferir que a elaboração de sobremesas lácteas com café mostra-se como uma alternativa viável para o uso desse produto tão apreciado pelo consumidor brasileiro.

#### 5. Referências

[1] Szydłowska A., Kolożyn-Krajewska D. Development of potentially probiotic and synbiotic pumpkin frozen desserts. *CYTA- Journal of Food* 2019, 17(1):251-259. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1570975>.

[2] Brasil. Instrução Normativa nº 72, de 24 de julho de 2020. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-72-de-24-de-julho-de-2020-269156546>. Acesso em 03/08/2020.

- [3] Ares F., Arrarte E., Léon T., Ares G., Gámbaro A. Development of functional milk desserts enriched with resistant starch based on consumers perception. *Food Science and Technology International* 2013; 18(5):465-475. <https://doi.org/10.1177/1082013211433070>.
- [4] Silva A.S., Barros A.C.F., Oliveira E.T. Avaliação de parâmetros sensoriais em sobremesas lácteas sabor chocolate elaboradas com leite e soro de leite. VII CONNEPI 2012; Palmas, Tocantins. ISBN 978-85-62830-10-5.
- [5] Eduardo M.F., Lannes S.C.S. Achocolatados: análise química. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 2004; 40(3):405-412. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300017>.
- [6] Juliano R.S., Sarkis S.S.J., Pinheiro A.C., Fear A.C., Zambelli C.A., Augusto M.M. Desenvolvimento de Sobremesa Láctea Tipo Frozen Yogurt Com Características Funcionais. In: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2014. Florianópolis. <https://doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-0412-25631-159563>.
- [7] Monteiro M.A., Minim V.P.R., Silva A.F., Chaves J.B.P., Cardello H.M.A.B. Perfil sensorial da bebida café (*Coffea arábica*) determinado por análise Tempo-Intensidade. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2005; 25(4):772-780. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400024>.
- [8] ABIC. Associação Brasileira da Indústria do Café. Consumo interno de café recupera crescimento e aumenta 1,24%. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61#1910>. Acesso em 21 maio 2018.
- [9] Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 273, de 22 de Setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Misturas para o Preparo de Alimentos e Alimentos Prontos para o Consumo. Brasília, Brasil, 2005.
- [10] Brasil. Portaria nº 326, de 30 de junho de 1997. Ministério da Saúde. Dispõe de condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores industrializadores de alimentos. 1997.
- [11] Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 1959; 37(8):911-7. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.
- [12] IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico químicos para análise de alimentos - 4ª ed. Série Normas e Manuais Técnicos, Ministério da Saúde, ANVISA: Brasília, 2008, 1020 p.
- [13] Ferreira V.L.P., Almeida T.C.A., Pettinelli M.L.C.V., Silva M.A.A.P., Chaves J.B.P., Barbosa E.M.M. Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos. Manual: série qualidade 2000. Campinas: SBCTA, 127p.
- [14] Atwater W.O., Bryant A.P. 12th Annual Report (1899) of the Storrs, CT, Agricultural Experimental Station. Storrs, CT: Storrs Experimental Station 1900, p. 73-110.

[15] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Brasília, Brasil, 2003.

[16] Palermo J.R. Análise sensorial: fundamentos e métodos. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2015. 158p.

[17] Van Oorschot N. Perfeição em matéria de sobremesas e leites achocolatados. Leite e Derivados 2001; 10(58):28-31.

[18] Costa A.V.S., Nicolau E.S., Torres M.C.L., Fernandes P.R., Rosa S.I.R., Nascimento R.C. Development and physical-chemical, microbiological and sensory characterization of fermented dairy beverage prepared with diferente stabilizers/thickener. Semina: Ciências Agrárias 2013; 34(1):209-226. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n1p209>.

[19] Nikaedo P.H.L., Amaral F.F., Penna A.L.B. Caracterização tecnológica de sobremesas lácteas achocolatadas cremosas elaboradas com concentrado protéico de soro e misturas de gomas carragena e guar. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 2004; 40(3):397-404. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322004000300016>.

[20] Silva F.A.M., Borges M.F.M., Ferreira M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. Química nova 1999; 22(1):94-103. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>.

[21] Souza J., Souza J., Souza C.F.V. Desenvolvimento, parâmetros físico-químicos e avaliação sensorial de sobremesas lácteas elaboradas com soro de queijo e gomas. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes 2013; 68(393):16-25. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20130031>.

[22] Soler N., Batista A.G., Faria C.A.M., Gonzaga D.G., Lopes J.M.M., Pinto N.A.V.D. Elaboração, composição química e avaliação sensorial de sobremesas lácteas achocolatadas com abacate. Alimentos e Nutrição 2011; 22(1):143-148.

## **Autores**

Mariana Saurin Tolfo, Bruna Lago Tagliapietra, Alvaro da Cruz Carpes, Ana Carolina Mendes Dias Seibt, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards\*

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, Prédio 42, sala 3211, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

\* Autor para correspondência: [neilarichardsprof@gmail.com](mailto:neilarichardsprof@gmail.com)

---

### Produção de bebida fermentada enriquecida com ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*)

André Vinícius Poci, João Borges Laurindo, Maximiliano Segundo Escalona Jiménez, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.c4>

#### Resumo

O aumento na procura por alimentos com propriedades funcionais leva à pesquisa e ao desenvolvimento de novos produtos constantemente. O leite fermentado é um alimento comum e que está presente na alimentação de pessoas de todo o mundo há séculos, porém nota-se que há no mercado cada vez mais tipos deste produto, seja com propriedades probióticas ou leites fermentados enriquecidos com algum componente, sejam vitaminas, fibras ou proteínas. Hortaliças não convencionais como a ora-pro-nóbis são uma alternativa alimentar no enriquecimento de produtos com proteínas de origem vegetal. A ora-pro-nóbis já está amplamente difundida em algumas regiões do Brasil como, por exemplo, Minas Gerais, Goiás, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Maranhão, Pernambuco, Bahia, Alagoas e Sergipe, sendo considerada um complemento nutricional devido ao seu conteúdo proteico que pode atingir, nas folhas 25%, possuindo ainda fibras, ferro, cálcio, entre outros. A adição dessa cactácea torna-se uma interessante alternativa na elaboração de um produto, como o iogurte, com alto teor proteico, pois aumenta o teor das proteínas presentes no leite, resultando em um leite fermentado enriquecido. Este estudo objetivou a elaboração de quatro iogurtes com adição de ora-pro-nóbis. Um delineamento fatorial 2x2 foi utilizado e as formulações foram caracterizadas, físico-química, microbiológica e sensorialmente. Os iogurtes desenvolvidos apresentaram teor de proteína de 14% a 100% quando comparado com o produto sem adição de ora-pro-nóbis. Os produtos desenvolvidos atenderam a legislação vigente quanto número de microrganismos probióticos, sendo, também, aceitos sensorialmente pelos consumidores.

**Palavras-chave:** Análise sensorial, cactácea, delineamento fatorial, funcional, iogurte, probióticos.

#### 1. Introdução

Preferencias alimentares desempenham um papel fundamental no consumo de derivados lácteos, principalmente por consumidores ávidos a novidades. Neste contexto, uma das preocupações da indústria de laticínios é a de atender a essa demanda colocando no mercado productos diferenciados e com maior valor agregado. Os productos demandados devem ser saudáveis, atrativos e sustentáveis, possuindo uma estreita relação com as necessidades e tendencias, ou mesmo, modas de consumo, fazendo com que indústria se adapte e apresente respostas rápidas às mudanças do mercado consumidor [1].

A fermentação é um dos métodos mais antigos utilizados para transformar leite em um produto com maior vida útil [2]. Não há evidências precisas que indiquem a origem exata do iogurte, mas sabe-se que seus benefícios nutricionais e da saúde existiram em diversas civilizações ao longo dos anos [3]. O iogurte é um dos alimentos mais comuns existentes no mundo, consumido em diversos locais e com inúmeras variações. Seu consumo vai além apenas dos benefícios nutricionais, pois é benéfico para a saúde, como por exemplo, para a microflora intestinal, entre outros [4]. Por mais que seja feito há diversos séculos, o iogurte passa por inúmeras pesquisas de fabricação e rendimento, principalmente para aumentar a produção e garantir a segurança e qualidade do produto ao consumidor. Foram tomadas medidas como seleção dos microrganismos adequados à produção, tempo de fermentação e temperatura, entre outros pontos [3].

A Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*), é uma planta da família das cactáceas, com folhas desenvolvidas e originária das Américas, sendo encontrada do Brasil até a Flórida. Tornou-se uma importante fonte de alimento por não apresentar toxicidade e ter um alto teor de proteínas, fibras e outros nutrientes [5, 6]. Rocha et al. [7] sugerem que, por apresentar alto teor proteico em suas folhas, a ora-pronóbis pode ser denominada “carne dos pobres”, mesmo que as proteínas de origem vegetal sejam consideradas de baixo valor biológico, pois são incompletas quanto à composição dos aminoácidos. A ora-pro-nóbis é uma planta alimentícia não convencional que se destaca das demais, pois possui substâncias bioativas, que a torna um alimento com propriedades funcionais [8]. Pelas suas características, essa planta representa uma alternativa para o enriquecimento de alimentos [9, 10].

Diante do exposto, neste trabalho foi feito o estudo da adição de ora-pro-nóbis desidratada ao iogurte, com o intuito de enriquecê-lo, tornando-o um alimento com alto teor proteico.

## 2. Materiais e Métodos

Foram preparadas duas amostras com leite UHT (Santa Clara®): A1 contendo 8% de açúcar e A2 com 10% de açúcar (União®) (Tabela 1). Posteriormente, foram aquecidas a 83 °C por 20 minutos para a pasteurização e completa dissolução do açúcar, sendo, então, resfriadas a  $41 \pm 1$  °C. Após, adicionou-se assepticamente 1% do fermento lácteo BioRich (CHR Hansen®), composto por culturas de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ( $1 \times 10^6$  UFC/g), *Bifidobacterium* BB-12 ( $1 \times 10^6$  UFC/g) e *Streptococcus thermophilus*. Com o auxílio de um bastão de vidro esterilizado as amostras A1 e A2 foram homogeneizadas, colocadas em frascos pirex esterilizados e levadas ao banho de água termostatizado ( $42 \pm 1$  °C). Uma amostra controle (N1) foi também elaborada (Tabela 1). O processo de fermentação das amostras foi interrompido quando o pH atingiu o valor de 4,5, aproximadamente quatro horas. Após, foram resfriadas a temperatura ambiente (20 °C) e colocadas a 8 °C. As amostras A1 e A2 foram divididas em alíquotas e elaboradas as quatro formulações (N2 a N5) utilizando planejamento experimental fatorial 2X2 (Tabela 1). Em todas as formulações foi adicionado 1% de aroma sabor morango.

As amostras de ora-pronóbis foram obtidas já desidratadas e trituradas, provenientes de Porto Belo – SC, vendidas pelo Sítio Flora Bioativas. O aroma utilizado no estudo foi sabor morango (Duas Rodas®).

Os parâmetros físico-químicos determinados nas formulações foram teores de: proteína por micro-Kjeldahl, gordura por butirômetro, umidade, cinzas, e carboidratos obtidos por diferença, sendo todas as análises realizadas em triplicatas. Os métodos

seguiram as recomendações da Instrução Normativa nº 68 de 2006 e/ou do Instituto Adolfo Lutz [11, 12]. Para a quantificação de *Lactobacillus*, utilizou-se o Agar MRS acidificado, com incubação a 37±1 °C durante 72 horas sob condições de anaerobiose. Os microrganismos do gênero *Bifidobacterium* foram quantificados em ágar MRS suplementado com cloreto de lítio (0,1%), cisteína-HCl (0,05%) e dicloxacilina (0,5 mg/L), com incubação a 37±1 °C por 72 horas em anaerobiose [13].

Formulações	% de ora-pro-nóbis	% açúcar	% aroma
N1	--	--	--
N2	0,4	8	1
N3	0,2	8	1
N4	0,4	10	1
N5	0,2	10	1

Tabela 1. Formulações de iogurte utilizando o planejamento fatorial 2x2.

Os resultados físico-químicos e sensoriais foram analisados estatisticamente pela análise de variância e comparação das médias de pares de amostras pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% [14, 15]. Para assegurar a qualidade dos iogurtes produzidos foram realizadas análises de coliformes termotolerantes e *Salmonella*, conforme a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 [16]. Para validação sensorial, foram feitos três testes [17] com 50 provadores, (estudantes e servidores) do departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química (CTC – EQA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O primeiro teste foi a escala hedônica, na qual o avaliador após provar uma amostra de cada vez, individualmente, atribui uma nota de acordo com sua preferência, sendo de 1 (desgostei muito) a 9 (gostei muitíssimo). O segundo foi o teste de ordenação, onde o avaliador coloca em ordem decrescente as amostras, de acordo com a sua preferência (1º o que mais gostou e em 4º o que menos gostou). O terceiro, de intenção de compra, onde o avaliador indica se compraria iogurte adicionado de ora-pro-nóbis, respondendo sim ou não. O teste de aceitação foi analisado pelo índice de aceitabilidade de cada amostra; já para o teste de ordenação-preferência, pelo método analítico de Friedman [17] e o teste de intenção de compra através de análise de frequência (%). Para o cálculo do Índice de Aceitabilidade (I.A) de cada preparação, foi utilizada a seguinte expressão [18]:

$$I A (\%) = A \times 100/B \quad (1)$$

Em que:

A = nota média obtida para o produto;

B = nota máxima dada ao produto

### 3. Resultados e Discussão

A Tabela 2 mostra os resultados físico-químicos das formulações de iogurte desenvolvidas. Tendo em vista que a ora-pro-nóbis é uma cactácea rica em proteínas [10, 9], é esperado que a concentração proteica do iogurte aumente, conforme observado na Tabela 2.

Como esperado, as amostras contendo ora-pro-nóbis apresentaram a maior concentração proteica, em comparação à amostra controle, tendo em vista que este foi o motivo de suplementar o iogurte com esta planta. Dentre elas, a amostra N2, que contém 0,4% de ora-pro-nóbis e 8% de açúcar, foi a que apresentou maior

concentração, em torno de 5,46%, seguida da amostra N4, que contém 0,4% de ora-pro-nóbis e 10% de açúcar, com 4,58% de proteínas. As demais amostras, N3 e N5, por conterem apenas 0,2% de ora-pro-nóbis em sua composição, apresentaram menores concentrações de proteínas, 3,71% e 3,09% respectivamente.

Análises/ Formulações	Proteína (g.100 g <sup>-1</sup> )	Gordura (g.100 g <sup>-1</sup> )	Umidade (g.100 g <sup>-1</sup> )	Cinzas (g.100 g <sup>-1</sup> )	Carboidratos (g.100 g <sup>-1</sup> )
N1	2,72±0,02 <sup>e</sup>	2,38±0,01 <sup>c</sup>	88,96±0,01 <sup>a</sup>	0,78±0,01 <sup>a</sup>	2,42±0,01 <sup>e</sup>
N2	5,46±0,01 <sup>a</sup>	2,58±0,01 <sup>a</sup>	81,69±0,01 <sup>b</sup>	0,70±0,01 <sup>b</sup>	12,31±0,01 <sup>c</sup>
N3	3,71±0,01 <sup>c</sup>	2,45±0,01 <sup>b</sup>	81,33±0,02 <sup>c</sup>	0,67±0,01 <sup>c</sup>	11,84±0,01 <sup>d</sup>
N4	4,58±0,01 <sup>b</sup>	2,24±0,02 <sup>d</sup>	79,97±0,03 <sup>d</sup>	0,71±0,01 <sup>b</sup>	12,51±0,01 <sup>b</sup>
N5	3,09±0,02 <sup>d</sup>	2,40±0,01 <sup>c</sup>	79,94±0,01 <sup>d</sup>	0,69±0,01 <sup>bc</sup>	13,87±0,01 <sup>a</sup>

Legenda: letras iguais na mesma coluna indicam que não houve diferença estatística significativa a 5% ( $p \leq 0,05$ ). N1: iogurte natural; N2: iogurte com adição de 0,4% de ora-pro-nóbis, 8% de açúcar e 1% de aroma; N3: iogurte com adição de 0,2% de ora-pro-nóbis, 8% de açúcar e 1% de aroma; N4: iogurte com adição de 0,4% de ora-pro-nóbis, 10% de açúcar e 1% de aroma; N5: iogurte com adição de 0,2% de ora-pro-nóbis, 10% de açúcar e 1% de aroma  
Tabela 2. Composição centesimal das formulações de iogurte adicionado de ora-pro-nóbis.

A Organização Mundial da Saúde (WHO) [19] determinou que um consumo saudável de proteínas ficasse em torno de 0,83 g kg<sup>-1</sup> por dia, para adultos de ambos os sexos, o que para uma pessoa de 60 kg, seriam aproximadamente 50 g dia<sup>-1</sup>. Com consumo de iogurte enriquecido com 0,4% ora-pro-nóbis, as necessidades diárias seriam supridas em aproximadamente 10% em apenas 100 g de produto, mostrando-se uma excelente fonte proteica para pessoas que buscam uma dieta saudável. Para crianças e adolescentes, a WHO determina que há uma faixa mais restrita no consumo de proteínas, variando de acordo com a idade, peso e sexo. Para meninos de sete a dez anos, por exemplo, o consumo médio ficaria em torno de 25,9 g dia<sup>-1</sup>, o que seria suprido em 20% com o consumo de 100 g de iogurte enriquecido (N2).

Segundo Rocha et al. [6], a ora-pro-nóbis é uma planta que possui, quando desidratada, em torno de 3,64% de lipídios em sua composição, o que a torna um alimento que pode ser utilizado em dietas com restrições de gordura. A adição desta planta no iogurte não caracterizou variações da quantidade de gordura em comparação à amostra controle.

Com o resultado das análises, nota-se que os valores de concentração de gordura nas amostras com ora-pro-nóbis variaram de 2,24 a 2,58 g.100 g<sup>-1</sup>, sendo que a amostra N5 não diferiu significativamente da amostra controle, porém ambas diferiram das demais amostras. Conforme pode ser observado na Tabela 2 a adição de ora-pro-nóbis, não contribuiu para o incremento do teor de gordura das amostras, indicando que a planta realmente possui baixo teor de lipídios e não interfere neste quesito nos produtos elaborados.

Por se tratar de um alimento rico em fibras [5, 20], era esperado que a umidade do alimento tendesse a aumentar, tendo em vista que as fibras tendem a aprisionar mais umidade, porém notou-se que a umidade diminuiu principalmente nas formulações N4 e N5 e não apresentaram diferenças significativas entre si, provavelmente devido a presença da maior concentração de açúcar (10%), aumentando o efeito osmótico da amostra, diminuindo a umidade, como pode ser visto na Tabela 2. A amostra controle (N1) foi a que apresentou o maior teor de umidade, diferindo significativamente das demais amostras.

O teor de minerais no corpo humano desempenha um papel importante quanto ao bom funcionamento do organismo, tais como o metabolismo e constituição de tecidos [10]. A ora-pro-nóbis, segundo Takeiti et al. [7], apresenta grandes quantidades de vitaminas e minerais. Almeida et al. [21], Rodrigues [22] e Oliveira [23] destacaram que, entre outras hortaliças não convencionais, a ora-pro-nóbis se sobressai principalmente pelas concentrações de magnésio, ferro, cálcio e manganês.

A amostra controle apresentou o maior teor de cinzas, diferindo das demais formulações. As amostras N2, N4 e N5 não diferiram entre si, já a amostra N3 não diferiu da amostra N5, porém, diferiu das demais formulações.

A amostra controle (N1) apresentou uma baixa concentração de carboidratos em sua composição, 2,42% em média. Conforme mostrado na Tabela 2, com a adição de açúcar nas formulações, o teor de carboidratos variou de 11,84 a 13,87 g.100 g<sup>-1</sup>. Apesar da adição ter sido entre 8 e 10% de açúcar, a ora-pro-nóbis apresenta em sua composição em torno de 36,2% de carboidratos [6].

O pH de um iogurte comum é em torno de 4,6 [24], isso garante a correta coagulação do leite, pois este é o ponto isoelétrico da caseína. As amostras estudadas apresentaram pH um pouco abaixo de 4,6, entre 4,17 e 4,34, porém isso não indicou nenhuma perda nas características físicas do iogurte. A Tabela 3 apresenta os valores de pH obtidos nas formulações e na amostra controle.

Formulações	Valor de pH
N1	4,21±0,01 <sup>a</sup>
N2	4,17±0,02 <sup>a</sup>
N3	4,23±0,02 <sup>a</sup>
N4	4,34±0,02 <sup>a</sup>
N5	4,25±0,02 <sup>a</sup>

Tabela 3. Valor de pH das formulações de iogurte desenvolvidas com adição de ora-pro-nóbis

Os valores encontrados indicam que a adição de açúcar e ora-pro-nóbis não interferiram na acidificação do meio, tendo em vista que todos flutuaram em torno do pH da amostra controle, 4,21.

A RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 [16], estabelece o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, o qual possui em seu anexo valores máximos para a análise de coliformes termotolerante, no caso seriam 10 NMP/g, e *Salmonella*, que tem como valor ausência em 25g.

Em ambas as análises, para as cinco amostras (N1, N2, N3, N4 e N5), obteve-se valores aceitáveis perante a legislação. Para *Salmonella*, obteve-se a ausência em 25 g para as cinco amostras, e para a análise de coliformes termotolerantes nas três diluições requeridas, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>, não observou-se tubos positivos, indicando que o número mais provável é menor que três por grama de amostra.

A Tabela 4 mostra os resultados das análises para os iogurtes N1 a N5, quanto à quantidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.

De acordo com a legislação brasileira para alimentos probióticos a quantidade mínima viável deve estar situada na faixa de 10<sup>8</sup> (8 log) a 10<sup>9</sup> (9 log) unidades formadoras de colônias (UFC. g<sup>-1</sup> ou mL<sup>-1</sup>) na recomendação diária do produto pronto para o consumo, valores menores podem ser aceitos, desde que comprovada sua eficácia.

Dessa forma todos os iogurtes produzidos neste estudo apresentaram contagem dentro do preconizado pela legislação brasileira [25].

Formulações	<i>Lactobacillus</i> LA-5 Log UFC.g <sup>-1</sup>	<i>Bifidobacterium</i> BB-12 Log UFC.g <sup>-1</sup>
N1	8,31	8,09
N2	8,17	7,61
N3	8,69	8,12
N4	8,35	7,95
N5	8,75	8,24

Tabela 4. Logaritmos das médias do número de unidades formadoras de colônias (UFC.g<sup>-1</sup>) de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* observadas nos iogurtes adicionados de ora-pro-nóbis.

Os probióticos são definidos internacionalmente como microrganismos vivos que quando administrados em quantidade adequadas, conferem benefícios a saúde do hospedeiro. Os benefícios dos probióticos sobre o microbioma humano inclui fatores como efeitos antagônicos, competição e efeitos imunológicos, resultando no aumento da resistência contra patógenos. Portanto, com a utilização de culturas bacterianas probióticas há um estímulo da multiplicação de bactérias benéficas, em detrimento da proliferação de bactérias potencialmente prejudiciais, reforçando os mecanismos naturais de defesa do hospedeiro [1, 26].

Os lactobacilos são reconhecidos por sua atuação na promoção de saúde e manutenção equilibrada da microbiota intestinal na qual, pode diminuir os procesos putrefativos por reduzir o acúmulo de substâncias nocivas no trato gastrointestinal. A presença de níveis elevados de bactérias bífidas está relacionado com uma microbiota intestinal saudável em todas as fases de vida da espécie humana [27, 28].

Alguns fatores podem afetar o crescimento e a sobrevivência dos microrganismos probióticos, como, por exemplo, valor de pH, teor de gordura, a concentração e tipo de proteínas, açúcares, minerais e vitaminas [29, 30]. No desenvolvimento de novos produtos com alegação probiótica, esses devem fazer parte da dieta normal do indivíduo, para que seja mantido o nível terapêutico mínimo diário recomendável. As formulações N3 e N5 que continham 0,2% de ora-pro-nóbis apresentam uma contagem superior quando comparada com as demais formulações, independente da concentração de açúcar presente no produto, sugerindo que esta concentração de ora-pro-nóbis tenha, provavelmente, colaborado para o melhor desenvolvimento das bactérias probióticas presentes nos iogurtes.

Na análise sensorial o ser humano é um importante instrumento de medida das características sensoriais dos alimentos. Na Tabela 5 estão expressadas as médias do teste de aceitação e o índice de aceitabilidade dos iogurtes adicionados de ora-pro-nóbis e açúcar.

Formulações	Média	Índice de aceitabilidade (%)
N2	6,74±0,82	74,89
N3	7,78±0,38	86,44
N4	6,98±0,80	77,56
N5	7,66±0,43	85,11

Tabela 5. Resultado (média ± desvio-padrão, n =50) das notas atribuídas pelos julgadores e índice de aceitabilidade das formulações de iogurte adicionado de ora-pro-nóbis.

No desenvolvimento de um novo produto, um dos pontos principais é avaliar sua aceitabilidade, com o intuito de prever sua aceitação frente ao mercado consumidor [31]. Segundo Teixeira et al. [32] e Dutcosky [17], para que o produto seja considerado como aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) de, no mínimo, 70%. Com base nas médias obtidas no teste de aceitação e no cálculo do IA, verifica-se que todas as formulações de iogurte apresentaram boa aceitabilidade. As formulações N3 e N5 apresentaram IA superior a 80%, indicando a tendência de preferência pelos julgadores.

A Tabela 6 apresenta resultados do teste de ordenação-preferência, observa-se que a amostra N2 difere das amostras N3, N4 e N5, sendo que as três últimas não apresentam diferenças entre si. A formulação N5 apresentou uma tendência de preferência, porém não diferiu das demais formulações (N3 e N4).

Formulações	Total	Amostras			
		N2	N3	N4	N5
		159	115	124	102
N2	159	--	44*	35*	57*
N3	115		--	9 <sup>ns</sup>	13 <sup>ns</sup>
N4	124			--	22 <sup>ns</sup>
N5	102				--

\*As amostras diferem entre si; ns = as amostras não diferem entre si a  $p \leq 0,05$

N2 – 0,4% de ora-pro-nóbis e 8% de açúcar; N3 - 0,2% de ora-pro-nóbis e 8% de açúcar; N4 - 0,4% de ora-pro-nóbis e 10% de açúcar; N5 - 0,2% de ora-pro-nóbis e 10% de açúcar.

Tabela 6. Resultado do teste de ordenação-preferência das amostras de iogurte adicionados de ora-pro-nóbis.

Os resultados obtidos no teste de intenção de compra composta de cinco pontos estão apresentados na Tabela 7. Dos 50 participantes do teste sensorial, 48 indicaram que sim, comprariam um iogurte enriquecido com ora-pro-nóbis, sendo que apenas 2 indicaram que não o comprariam. Isso resulta em uma aceitabilidade de 96% dos participantes.

#### 4. Conclusão

A adição de ora-pro-nóbis, mostrou-se uma alternativa interessante para o enriquecimento de iogurte, tendo em vista principalmente o aumento considerável de proteínas. As análises microbiológicas indicaram que a adição de ora-pro-nóbis não influenciou na qualidade e segurança do alimento, pois os resultados foram todos satisfatórios e de acordo com a legislação vigente. Os iogurtes desenvolvidos podem ser considerados como probióticos, uma vez que a contagem de microrganismos está de acordo com a preconizada pela legislação. O índice de aceitação do iogurte também foi satisfatório, principalmente se for levado em conta que todas as quatro formulações foram aceitas pelos julgadores. Vale ressaltar que houve julgadores que gostaram do iogurte, porém acharam um pouco adocicados demais, ou sugeriram a utilização de adoçantes naturais na formulação, por exemplo, mas que no geral acharam a ideia de consumir um produto enriquecido com um produto natural uma alternativa viável.

#### 5. Referências

[1] Richards N.S.P.S. Novos produtos para a indústria de laticínios. In: Martins P.C., Piccinini G.A., Krug E.E.B., Martins C.E., Lopes F.C.F. (eds) Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite. Brasília: EMBRAPA, 2015, p. 329-338. Brasília, Brasil.

- [2] Pederson C.S. Microbiology of Food Fermentations. Starch, Connecticut 1979; 32(4):1-29.
- [3] Tamime A.Y., Robinson R.K. Yoghurt: Science and Technology. Woodhead Publishing Limited, 2007. 808p.
- [4] Buttrius J. Nutritional properties of fermented milk products. International Journal of Dairy Technology 1997; 50:21-27.
- [5] Mercê A.L.R. Fernandes E., Mangrich A.S., Sierakowski M.R., Szpoganicz B. Fe(III): galactomannan solid and aqueous complexes: potentiometric, EPR spectroscopy and thermal data. Journal of Brazilian Chemical Society, Campinas 2001; 12(6):791-798. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532001000600017>.
- [6] Rocha D.R.C., Pereira Junior G.A., Vieira G., Pantoja L., Santos A.S., Pinto N.A.V.D. Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. Alimentos e Nutrição, Araraquara 2008; 19(4):459-465.
- [7] Takeiti C.Y., Antonio G.C., Motta E.M.P., Collares-Queiroz F.P., Park K.J. Nutritive evaluation of non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). International Journal of Food Sciences and Nutrition, Hants 2009; 60(1):148-160. <https://doi.org/10.1080/09637480802534509>.
- [8] Almeida M.E.F. Farinha de folhas de cactáceas do gênero *Pereskia*: caracterização nutricional e efeito sobre ratos wistar submetidos à dieta hipercalórica. Tese de Doutorado - Curso de Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- [9] Mercê A.L.R., Landaluze J.S., Mangrich A.S., Szpoganicz B., Sierakowski M.R. Complexes of arabinogalactan of *Pereskia aculeata* and  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , and  $\text{Ni}^{2+}$ . Bioresource Technology 2001; 76(1):29-37. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00078-X](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00078-X).
- [10] Ribeiro A.S. Estudo de plantas alimentícias não convencionais e aplicação em productos lácteos. Tese de Doutorado. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2019.
- [11] Brasil, Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária (2006). Instrução Normativa nº 68 de 12/12/2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. Disponível em: <https://www.diariodasleis.com.br/busca/exibelink.php?numlink=1-77-23-2006-12-12-68>. Acesso em 13 jun. 2016.
- [12] IAL. Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico químicos para análise de alimentos - 4ª ed. Série Normas e Manuais Técnicos, Ministério da Saúde, ANVISA: Brasília, 2008, 1020 p.
- [13] APHA. American Public Health Association (2001). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington: APHA. 676 p.
- [14] Althaus R.A., Canteri M.G., Giglioti E.A. Tecnologia da informação aplicada ao agronegócio e ciências ambientais: sistema para análise e separação de médias pelos métodos de Duncan, Tukey e Scott-Knott, Anais do X Encontro Anual de Iniciação Científica 2001. Parte 1, Ponta Grossa, 280-281.

- [15] Canteri M.G., Althaus R.A., Virgens Filho J.S., Giglioti E.A., Godoy C.V. SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos de Scott-Knott, Tukey e Duncan. *Revista Brasileira de Agrocomputação* 2001;1(2):18-24.
- [16] ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasil. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em 13 de ago. de 2018.
- [17] Dutcosky S.D. *Análise sensorial de alimentos*. Curitiba: Champagnat, 2007.158p
- [18] Palermo J.R. *Análise sensorial: fundamentos e métodos*. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2015. 158p.
- [19] Mahan L.K., Raymond J.L. *Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia*. 14ªed. 2018, Elsevier. 1160p.
- [20] Carvalho C.M., Luz I.S., Santos D.B., Azevedo D.O., Gomes Filho R.R., Valnir Júnior M. Cultivo Adensado de Ora-Pro-Nóbis Irrigado No Território Do Sisal Baiano. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada - RBAI* 2019; 13(6):3765-3772. <https://doi.org/10.7127/rbai.v13n6001161>.
- [21] Almeida M.E.F., Junqueira A.M.B., Simão A.A., Corrêa A.D. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nóbis. *Bioscience Journal* 2014; 30(1):431-439. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/17555>. 20 ago. 2020.
- [22] Rodrigues A.S. *Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.) e sua aplicação em mortadela*. 2016, Dissertação. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Disponível em: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat00956a&AN=ufsm.00088027&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site>. Acesso em: 11 ago. 2020.
- [23] Oliveira D.C.S., Wobeto C., Zanuzo M.R., Severgnini C. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. *Horticultura Brasileira* 2013; 31(3):472-475. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362013000300021>.
- [24] Lee W.J., Lucey J.A. Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 2010; 23(9):1127-1136. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.r.05>.
- [25] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovada. In: *Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos*. 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Alimentos/Assunto+s+de+Interesse/Alimentos+Com+Alegacoes+de+Propriedades+Funcionais+e+ou+de+Saude/Alegacoes+de+propriedade+funcional+aprovadas>>. Acesso em: 13 jun. 2016.
- [26] Lopez-Garcia E., Leon-Muñoz L., Guallar-Castillon P., Rodríguez-Artalejo F. Habitual Yogurt Consumption and Health-Related Quality of Life: A Prospective Cohort Study. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics* 2015; 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.05.013>.

- [27] Tulk H.M.F., Blonski D.C., Murch L.A., Duncan A.M., Wright A.J. Daily consumption of a synbiotic yogurt decreases energy intake but does not improve gastrointestinal transit time: a double-blind, randomized, crossover study in healthy adults. *Nutrition Journal* 2013; 12(1):87-90. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-12-87>
- [28] Ferreira C.L.L.F. Grupo de bactérias lácticas e aplicação tecnológica de bactérias probióticas. In: Ferreira, C.L.L.F. *Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção*. Rio de Janeiro: Rubio, 2018. p. 1-18.
- [29] Oliveira M.N. Incorporando probióticos em alimentos. In: *In gut ww trust*. São Paulo: Sarvier, 2013. p.55-102.
- [30] Hemarajata P., Versalovic J. Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation. *Therapeutic Advances In Gastroenterology* 2012; 6(1):39-51. <https://doi.org/10.1177/1756283X12459294>
- [31] Moscatto J.A., Prudêncio-Ferreira S.H., Haully, M.C.O. Farinha de yacon e inulina como ingredientes na formulação de bolo de chocolate. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2004; 24(4):634-640. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400026>.
- [32] Teixeira E., Meinert E., Barbata P.A. *Análise sensorial dos alimentos*. Florianópolis: UFSC, 1987. 182 p.

## **Autores**

André Vinícius Pocai<sup>1</sup>, João Borges Laurindo<sup>1</sup>, Maximiliano Segundo Escalona Jiménez<sup>2</sup>, Neila Sílvia Pereira dos Santos Richards<sup>2,\*</sup>

1. Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - EQA, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Reitor João David Ferreira Lima, s/n – Bairro Trindade, 88040-970, Florianópolis - SC, Brasil.
2. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, Prédio 42, sala 3211, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

\* Autor para correspondência: [neilarichardsprof@gmail.com](mailto:neilarichardsprof@gmail.com)

---

## Estudo das características de potencial probiótico de bactérias ácido-láticas isoladas de Kefir produzido artesanalmente

Alice de Souza Ribeiro, Leidi Daiana Preichardt, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-991393-2-1.c5>

### Resumo

Foram analisadas oito amostras de kefir produzidos artesanalmente na região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras coletadas foram cultivadas em laboratório e de cada amostra foram realizadas contagens de bactérias ácido-láticas e isoladas cinco colônias. Posteriormente foram realizados testes fenotípicos de morfologia, coloração de Gram e catalase. Os isolados que apresentaram características de bactérias ácido-láticas foram submetidas aos testes de atividade antagonista frente a bactérias patogênicas, resistência a sais biliares e condições de pH ácido. Com a realização deste trabalho, foi possível observar que o kefir artesanal cultivado e consumido na região de estudo tem características semelhantes entre as diferentes amostras, onde os isolados apresentaram um incipiente potencial probiótico. No entanto, sugerem-se mais estudos, especialmente em relação ao comportamento microbiológico para avaliar detalhadamente parâmetros que classifique esse alimento como funcional.

**Palavras-Chave:** Antagonismo, legislação, probiótico, resistência a pH ácido, resistência a sais biliares.

### 1. Introdução

Nas últimas décadas, as exigências dos consumidores de alimentos mudaram consideravelmente. Os consumidores acreditam cada vez mais que os alimentos contribuem diretamente para a sua saúde [1, 2]. Alimentos hoje não se destinam apenas em satisfazer a fome e fornecer os nutrientes necessários aos seres humanos, mas também, para prevenir doenças relacionadas à nutrição e melhorar o físico e o bem-estar mental dos consumidores [3, 4, 5]. Desta forma, os alimentos funcionais desempenham um papel importante no aumento da procura destes produtos devido ao aumento do custo dos cuidados de saúde, o aumento constante da expectativa de vida e do desejo das pessoas com idade mais avançada de melhorar sua qualidade de vida [6, 7, 8]. Apesar dos benefícios a saúde devido à ingestão de alguns alimentos já ser conhecido há muito tempo, os estudos sobre esses alimentos, denominados de funcionais, é recente.

O kefir é um produto lácteo com característica única, em virtude da combinação do ácido láctico e fermentação alcoólica da lactose no leite. É produzido pela atividade microbiana simbiótica dos grãos de kefir que têm um equilíbrio relativamente estável e específico de bactérias do ácido láctico e leveduras [9, 10]. O leite é fermentado com uma microbiota mista confinada a uma matriz de grãos de kefir descontínuos, que são recuperados depois da fermentação [11].

Diversos autores têm relatado os benefícios que esse produto apresenta, dentre eles: redução dos efeitos de intolerância à lactose, imunomodulação, proteção contra microrganismos patogênicos, balanço da microbiota intestinal, atividade anticarcinogênica, regeneração hepática, entre outros. Da mesma forma, é constatado que até os dias de hoje o consumo do kefir na sua forma microbiana clássica, não demonstrou características patogênicas e foi capaz de suprimir o crescimento de alguns patógenos como *Salmonella* e *Shigella* [12, 13].

O kefir ainda hoje é utilizado no Brasil como um produto da medicina popular, tendo hoje diversos efeitos probióticos relacionados à sua utilização. As características do produto dependem do tipo de substrato (leite) utilizado, do processo de produção e da composição de microrganismos presente nos grãos [14]. No entanto, o kefir, como bebida fermentada, tem divulgação recente no Brasil, em 2018 começou sua comercialização, até então, sua fabricação e consumo eram exclusivamente artesanais, sendo obtido pela fermentação do grão em leite ou em água adicionada de açúcar mascavo.

A maioria das pessoas em nosso país desconhece o produto, bem como os possíveis benefícios da inclusão deste alimento probiótico na dieta [14, 15]. Existe legislação específica para o kefir, o Artigo 386 do Decreto nº 9.013, de março de 2017 (RIISPOA) define leites fermentados, o que inclui o kefir, como produtos lácteos ou produtos lácteos compostos obtidos por meio da coagulação e da diminuição do pH do leite ou do leite reconstituído por meio da fermentação láctea, mediante ação de cultivos de microrganismos específicos, com adição ou não de outros produtos lácteos ou de substâncias alimentícias, sendo considerados leites fermentados o iogurte, o leite fermentado ou cultivado, o leite acidófilo ou acidofilado, o kumys, o kefir e a coalhada [16].

A Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007 estabelece a definição de kefir como o leite fermentado cuja fermentação se realiza com cultivos ácido-lácticos elaborados com grãos de Kefir, *Lactobacillus kefir*, espécies dos gêneros *Leuconostoc*, *Lactococcus* e *Acetobacter* com produção de ácido láctico, etanol e dióxido de carbono. Os grãos de Kefir são constituídos por leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnispurus* e *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp e *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* [17].

Algumas empresas já comercializam a cultura *starters* liofilizadas de kefir contendo bactérias ácido-lácticas (BALs) como *Lactococcus lactis* subsp., *Leuconostoc* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus thermophilus*, microflora de grãos de kefir e leveduras [18].

As BALs são encontradas em abundância no kefir e constituem sua microbiota natural. Trata-se de um grupo de microrganismos Gram-positivos comumente utilizados na indústria de laticínios na elaboração de produtos lácteos fermentados, como queijos e iogurtes [19, 20]. Produzem um grande número de enzimas glicolíticas, proteolíticas e lipolíticas, transformando os nutrientes do meio em compostos com propriedades sensoriais complexas, os quais modificam gradativamente a textura e o aroma dos alimentos fermentados [21, 22, 23].

Atividades antagônicas de cepas probióticas são essenciais para prevenir a infecção ou invasão de bactérias patogênicas. As cepas do gênero *Bacillus*, por exemplo, são conhecidas por produzir uma ampla gama de substâncias antimicrobianas, incluindo antibióticos peptídicos e lipopeptídicos [24, 25]. É reconhecido o papel da alimentação

na promoção da saúde e proteção contra doenças. A comunidade científica já reconhece que os efeitos da alimentação inadequada em etapas precoces da vida podem acarretar consequências na saúde na vida adulta [26, 27].

Desta forma, este trabalho tem como objetivos estudar as características do kefir produzido na região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, a fim de estabelecer uma identidade inicial da “*house flora*” dos grãos de kefir, avaliando seu potencial probiótico, através de teste de antagonismo frente a bactérias patogênicas e testes de resistência a condições ácidas e sais biliares, para selecionar cepas que servirão de *starter* na elaboração de produtos lácteos funcionais.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Matérias-primas

Foram coletadas oito amostras de kefir, oriundas de produção caseira da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul.

Fabricação do leite fermentado:

A fabricação dos leites fermentados foi feita no laboratório de microbiologia do IF Farroupilha – Câmpus Santo Augusto. Para a fabricação dos mesmos, utilizou-se leite integral UHT (Santa Clara®) a temperatura ambiente ( $25\pm 2$  °C). Em ambiente asséptico o leite foi transferido para oito *shots* e, inoculou-se assepticamente os grãos das amostras de kefir na proporção de 10% do volume de leite. Em seguida, as amostras (leite + grãos de kefir) foram incubadas em estufa a 27 °C em *over night* (aproximadamente 12 horas), até pH 4,5, monitorando através de medida em potenciômetro digital de hora em hora, após as 8 primeiras horas de fermentação.

#### 2.1.1. Determinação da atividade antagonista das BALs frente a microrganismos patogênicos

A partir dos 8 isolados de bactérias lácticas foram coletadas cinco colônias aleatoriamente totalizando quarenta alíquotas, estas foram purificadas em ágar MRS (Oxoid®) e avaliadas quanto à morfologia, coloração de Gram e catalase. Posteriormente, os isolados identificados como Gram positivos e catalase negativa, foram transferidos para caldo MRS (Oxoid®), onde foram cultivadas por 18 – 24h e, ainda com a cultura fresca, foi realizada a determinação da atividade antagonista [28].

A atividade antagonista foi testada frente a linhagens de referência Gram positivas: *Listeria monocytogenes* ATCC 7466 e *Staphylococcus aureus* ATCC 1901, bem como Gram negativas: *E. coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 13076 e *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

O teste de antagonismo e a leitura dos halos de inibição foram realizados de acordo com o teste da gota (*spot-on-the-lawn*) proposto por Jacobsenet al. [29]. Uma alíquota de 5 µL de cada cultivo, em caldo MRS (Oxoid®), foi inoculada, em forma de gotas, em placas contendo ágar MRS (Oxoid®). Após a absorção das gotas, as placas foram incubadas a 35 °C em jarra de anaerobiose por 24 h. Decorrido este período, cada placa recebeu uma sobrecamada de 10 mL de ágar BHI (Oxoid®) semi-sólido (0,8%) contendo aproximadamente  $10^6$  UFC/mL da cultura de referência previamente cultivada em caldo BHI (Oxoid®) por 24 h. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas, em aerobiose, a 35 °C por 24 h. O resultado positivo para atividade antagonista em relação à cultura de referência e controle positivo foi determinado pela

formação de halo de inibição. O diâmetro dos halos foi medido utilizando um paquímetro digital 200 MM<sup>-8</sup> (Marca Marberg® – China).

### **2.1.2. Resistência a condições ácidas e sais biliares**

A resistência dos isolados sob diferentes condições ácidas foi utilizada como critério de seleção dos isolados mais resistentes para realização sequencial dos demais experimentos, já que inicialmente as BALs probióticas devem resistir às condições ácidas estomacais. Ressalta-se que esta é uma condição essencial quando os microorganismos não são protegidos por meio de encapsulação. Assim, a resistência dos isolados foi avaliada em caldo MRS (pH 6,5) (Oxoid®) ajustado a pH 2 e 2,5 com HCl concentrado e, ainda, a pH 2,5 + pepsina (Sigma®) (3 mg/mL).

A avaliação da tolerância bacteriana a sais biliares foi realizada em caldo MRS (Oxoid®) suplementado com bile bovina (Sigma®) a 0,3% e 1,0% (m/v). Após preparação dos caldos, conforme tratamentos mencionados anteriormente, culturas de 24 h com concentração final entre 10<sup>6</sup> e 10<sup>7</sup> UFC/mL foram inoculadas. A sobrevivência sob diferentes condições foi avaliada por contagem em placas com limite de detecção de 1,7 log<sub>10</sub> UFC/mL, ambas as avaliações seguiram o protocolo de Perelmutter et al. [30]. O percentual de sobrevivência dos isolados frente às diferentes condições ácidas e aos sais biliares foi calculado com base nas contagens de células viáveis iniciais, anterior ao período de incubação.

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1. Isolamento**

Foram selecionadas e purificadas 40 colônias características de BALs das placas de ágar MRS utilizadas para o isolamento. Destas, 100% sobreviveram e foram submetidas à caracterização morfológica e teste da catalase. Observou-se, então, que todos os isolados apresentaram morfologia de cocobacilo, Gram positivos e catalase negativos.

Segundo Moraes et al. [31], a população microbiana de cada produto lácteo varia de acordo com a região geográfica onde este é produzido, podendo ser atribuídas variações em razão do leite utilizado, do clima predominante e dos métodos empregados no processamento. Sabe-se que a microbiota nativa encontrada em produtos provenientes de fermentação natural de alimentos de origem animal é bastante diversificada.

#### **3.1.1. Determinação da atividade antagonista das BALs frente a microrganismos patogênicos**

Foram testados cinco isolados de cada amostra, conforme Tabela 1, onde foi possível observar a formação de halos de inibição em todos os isolados. Os resultados demonstram que a sensibilidade às substâncias produzidas pelas bactérias lácticas e liberadas no meio extracelular varia de acordo com o patógeno e com o isolado do kefir. Muitas espécies de BALs são capazes de produzir uma variedade de compostos antimicrobianos, como ácidos orgânicos, dióxido de carbono, etanol, polissacarídeos e bacteriocinas que apresentam potencial no controle de patógenos e bactérias de deterioração durante a produção e armazenamento dos alimentos [32].

A ação antagonista de BALs nativas já foi descrita por diversos autores [33, 34, 35, 36, 37], principalmente em relação a patógenos Gram positivos. A presença da dupla camada lipídica (membrana externa) de bactérias Gram negativas impede a interação

das substâncias antagonistas específicas, como bacteriocinas, com a parede e a membrana plasmática. Porém, outros trabalhos demonstram a existência de BALs nativas com potencial antagônico também contra patógenos Gram negativos [35, 38].

As médias dos halos de inibição observadas frente ao *Clostridium sp.*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* foram, respectivamente 19,76 mm, 26,38 mm, 25,60 mm, 19,57 mm e 20,67 mm. A diferença nas medidas dos halos de inibição dos isolados é sugestiva de que os microorganismos pertencem a diferentes espécies ou linhagens, onde houve variação inclusive em cepas isoladas da mesma amostra de leite fermentado.

Em estudos similares, Santos et al. [39], trabalhando com microrganismos de grãos de kefir, isolaram *Lactobacillus* com atividade antimicrobiana contra *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* e *S. enteritidis* observaram maiores halos de inibição contra *L. monocytogenes*. Já Dias [40], em estudo similar obteve maiores halos de inibição contra *Salmonella enteritidis*, enquanto no presente estudo foi observado maiores halos de inibição das cepas de BALs isoladas frente à bactéria *Salmonella typhimurium*, o que pode ser justificado pela ampla diversidade dessas bactérias, que se diferenciam pelo modo de cultivo, origem geográfica, entre outros fatores.

### 3.1.2. Resistência a condições ácidas e sais biliares

Para a triagem inicial de potenciais bactérias probióticas, testes *in vitro* são recomendados pela FAO/WHO [41].

As bactérias probióticas fornecidas por meio de sistemas alimentares devem primeiro sobreviver durante a passagem pelo trato gastrointestinal para, então, persistirem no intestino e promover efeitos benéficos ao hospedeiro. Para isso, devem apresentar como critérios funcionais: tolerância à acidez e a sais biliares e capacidade de adesão à mucosa intestinal. Adicionalmente, atividade antagonista é outro requisito fundamental para a sobrevivência no intestino [42, 43, 44].

### 3.1.3. Tolerância ao pH ácido

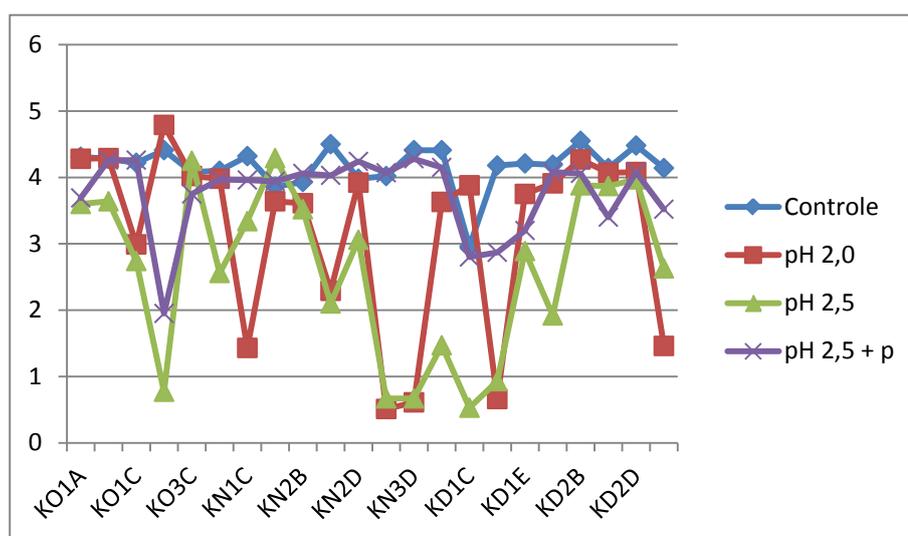
Antes das culturas probióticas serem capazes de exercer efeito no intestino, devem permanecer vivas durante a ingestão em ambientes agressivos do trato gastrointestinal, que inclui condições ácidas do estômago. A sobrevivência dos microrganismos no suco gástrico depende de sua capacidade de tolerar pH ácido. Nas Figuras que seguem (1, 2, 3, 4 e 5) estão apresentados o comportamento somente dos isolados que suportaram os tratamentos frente aos diferentes tempos e pHs.

Cepa	<i>Clostridium sp.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
KO1A	18,72±0,51	22,19±0,03	19,85±0,14	13,07 ±0,00	26,73 ±0,12
KO1B	25,25±0,71	27,09±0,23	17,76±0,28	13,00 ±0,50	16,32 ±0,45
KO1C	27,11±0,21	25,28±0,31	19,46±0,04	12,81 ±0,20	22,72 ±0,54
KO1D	25,02±0,92	32,20±0,01	16,54±0,63	14,22 ±0,10	26,52 ±0,78
KO1E	24,66±0,25	20,51±0,98	13,86±0,35	13,96 ±0,10	23,95 ±0,08
KO2A	15,73±0,20	24,24±0,57	34,84±0,09	22,15 ±0,47	24,48 ±0,36
KO2B	17,12±0,01	32,43±0,51	33,03±0,73	21,47 ±0,25	22,61 ±0,11
KO2C	16,21±0,72	30,88±0,62	33,52±0,56	19,82 ±0,90	23,12 ±0,01
KO2D	14,12±0,02	15,20±0,05	27,25±0,53	16,76 ±0,15	21,80 ±0,14
KO2E	11,90±0,04	27,40±0,78	34,01±0,65	17,19 ±0,53	19,85 ±0,28
KO3A	21,79±0,20	30,77±0,05	25,25±0,11	27,84 ±0,15	19,67 ±0,28

KO3B	18,12±0,83	33,01±0,18	33,57±0,48	28,98 ±0,26	29,32 ±0,62
KO3C	23,26±0,36	34,45±0,55	30,94±0,31	28,42 ±0,71	14,45 ±0,39
KO3D	27,67±0,32	37,70±0,42	32,55±0,67	32,95 ±0,13	16,82 ±0,85
KO3E	23,36±0,25	34,73±0,74	37,25±0,14	25,89 ±0,32	13,13 ±0,86
KN1A	20,13±0,32	34,74±0,56	24,57±0,83	20,13 ±0,14	12,47 ±0,75
KN1B	24,54±0,61	36,72±0,49	26,40±0,38	24,54 ±0,65	23,30 ±0,31
KN1C	23,32±0,62	24,02±0,17	28,02±0,04	23,32 ±0,96	21,59 ±0,93
KN1D	14,61±0,14	32,49±0,52	25,11±0,13	14,61 ±0,56	17,34 ±0,69
KN1E	15,32±0,26	37,37±0,51	22,03±0,80	18,41 ±0,94	23,11 ±0,84
KN2A	19,01±0,51	27,24±0,65	28,52±0,59	19,53 ±0,46	27,71 ±0,35
KN2B	16,06±0,19	24,19±0,57	30,14±0,12	24,54 ±0,65	28,34 ±0,28
KN2C	16,48±0,23	18,14±0,25	27,92±0,44	16,39 ±0,86	24,98 ±0,67
KN2D	15,56±0,02	19,14±0,57	29,65±0,13	15,12 ±0,05	20,70 ±0,13
KN2E	16,34±0,05	25,29±0,73	32,67±0,66	15,86 ±0,14	17,01 ±0,38
KN3A	21,45±0,98	23,90±0,81	21,45±0,98	18,83 ±0,20	17,21 ±0,34
KN3B	18,06±0,27	24,27±0,24	22,67±0,35	22,06 ±0,28	17,10 ±0,08
KN3C	17,85±0,85	24,80±0,40	21,56±0,14	21,16 ±0,02	14,72 ±0,39
KN3D	21,20±0,25	23,53±0,08	21,20±0,25	20,40 ±0,29	18,41 ±0,79
KN3E	21,45±0,09	20,18±0,08	21,76±0,40	15,47 ±0,20	19,10 ±0,17
KD1A	16,04±0,91	13,36±0,17	26,92±0,82	21,08 ±0,71	21,97 ±0,23
KD1B	14,52±0,13	14,07±0,14	29,85±0,09	20,74 ±0,23	10,67 ±0,26
KD1C	15,46±0,49	13,83 ±0,14	18,69±0,55	21,69 ±0,05	14,88 ±0,19
KD1D	15,11±0,26	16,40 ±0,84	25,58±0,80	21,17 ±0,37	15,39 ±0,83
KD1E	15,23±0,25	16,38 ±0,14	14,40±0,24	22,52 ±0,07	13,60 ±0,01
KD2A	27,76±0,53	31,30 ±0,73	31,59±0,89	15,29 ±0,81	29,61 ±0,04
KD2B	23,80±0,00	34,22 ±0,92	30,51±0,18	14,15 ±0,04	17,93 ±0,89
KD2C	26,51±0,57	30,64 ±0,56	18,04±0,33	15,05 ±0,21	28,61 ±0,52
KD2D	19,77±0,47	32,23 ±0,93	16,71±0,68	16,24 ±0,03	27,31 ±0,02
KD2E	24,96±0,52	28,82 ±0,43	18,19±0,73	15,78 ±0,52	29,00 ±0,15

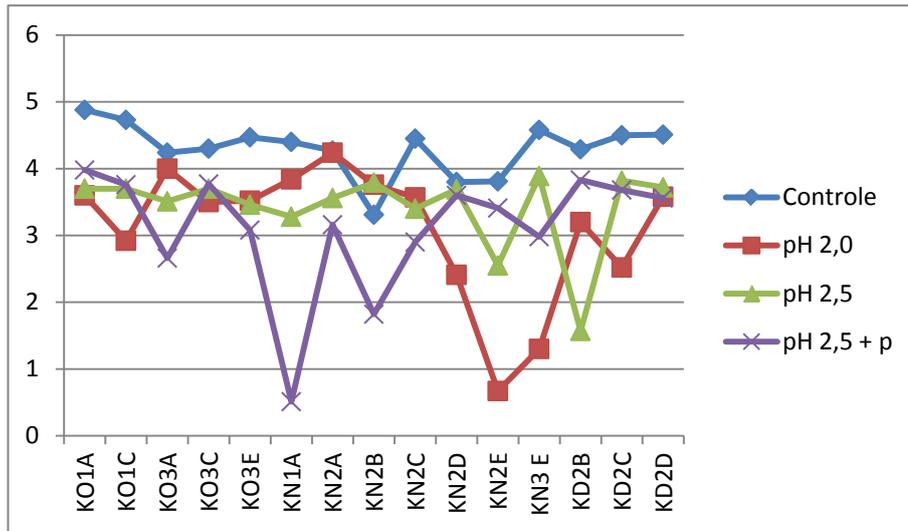
Valores expressos como médias e desvio padrão de triplicatas.

Tabela 1. Atividade antagonista de BALs nativas de kefir de produção artesanal da região Noroeste do RS, frente a patógenos de referência, com base na medida dos halos de inibição (mm).

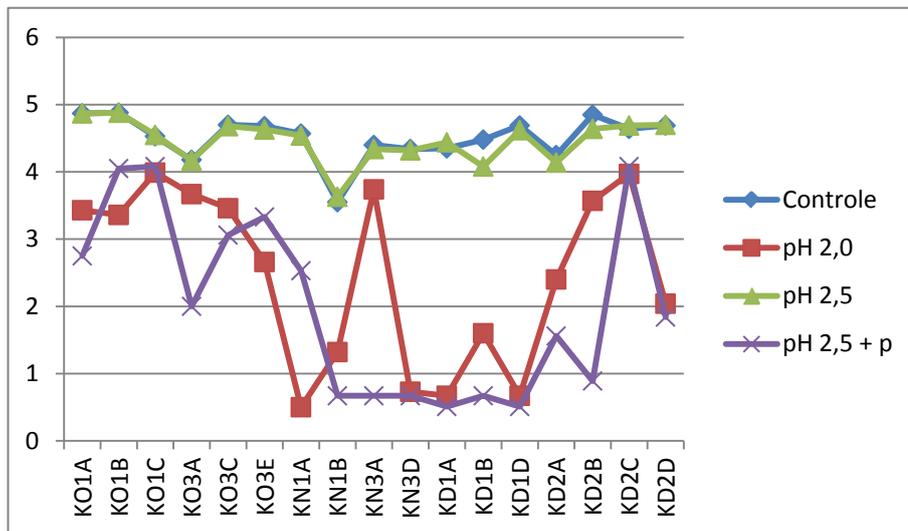


Controle: amostra sem tratamento. pH 2,5 + p: tratamento com pH 2,5 e enzima pepsina.

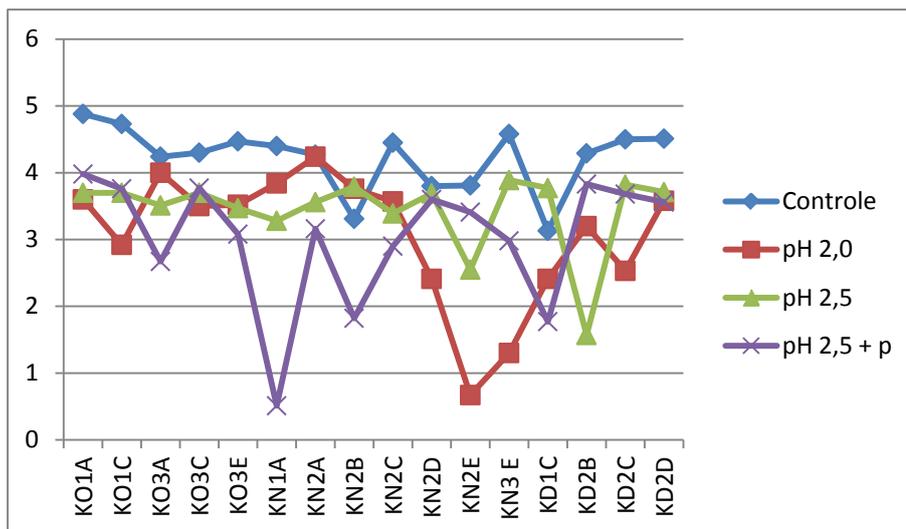
Figura 1. Comportamento dos isolados de BALs frente a condições ácidas no tempo zero (sem incubação).



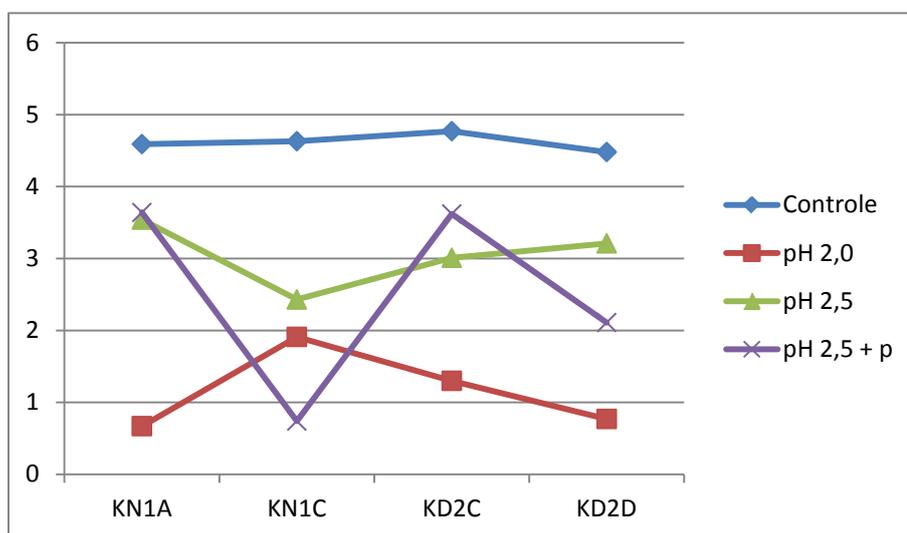
Controle: amostra sem tratamento. pH 2,5 + p: tratamento com pH 2,5 e enzima pepsina.  
 Figura 2. Comportamento dos isolados de BALs frente a condições ácidas no tempo um (após uma hora de incubação).



Controle: amostra sem tratamento.  
 pH 2,5 + p: tratamento com pH 2,5 e enzima pepsina.  
 Figura 3. Comportamento dos isolados de BALs frente a condições ácidas no tempo dois (após duas horas de incubação).



Controle: amostra sem tratamento. pH 2,5 + p: tratamento com pH 2,5 e enzima pepsina. Figura 4. Comportamento dos isolados de BALs frente a condições ácidas no tempo três (após três horas de incubação).



Controle: amostra sem tratamento. pH 2,5 + p: tratamento com pH 2,5 e enzima pepsina. Figura 5. Comportamento dos isolados de BALs frente a condições ácidas no tempo quatro (após quatro horas de incubação).

Conforme as Figuras 1, 2, 3, 4 e 5, é possível observar que parte dos isolados avaliados apresentaram comportamento similar nos tratamentos, onde 4 deles resistiram em até 4 horas de exposição aos diferentes pHs ácidos. Isso indica que os isolados avaliados, foram capazes de suportar condições ácidas, o que é uma importante característica probiótica.

De acordo com Charteris et al. [45], o percentual de redução inferior a 30% da população inicial, torna-se condição essencial para classificação de um microrganismo como resistente às condições de estresse estomacal. Redondo [46], investigando características probióticas *in vitro* de *E. faecium* CRL 183, encontrou perda de viabilidade, deste isolado, de aproximadamente 20% ao final das 3 horas, similarmente ao comportamento obtido pelos isolados desse estudo.

A Tabela 2 apresenta a porcentagem de sobrevivência de 27 isolados que apresentaram-se mais viáveis ao longo dos testes. De acordo com os dados

apresentados pode-se observar que houve maior taxa de sobrevivência nos pHs 2,5 e 2,5 com pepsina, onde de um total de 27 isolados, 44% sobreviveram em pH 2,5 e 40% em pH 2,5 com pepsina. Dados similares foram encontrados por Carasi et al. [47], onde ao submeterem seis isolados de bactérias ácido-láticas de kefir obtiveram 50% de sobrevivência nas mesmas condições de pH. Santos et al. [39] ao submeterem isolados de bactérias ácido-láticas de kefir ao pH 2,5 observaram que houve sobrevivência dos mesmos, porém sem apresentarem crescimento. Já Zatiní et al. [48] ao aplicarem a mesma avaliação em 52 isolados de bactérias ácido-láticas de kefir em pH 2,5, obtiveram apenas 19% de sobrevivência dos mesmos.

### 3.1.4. Tolerância a sais biliares

Outra barreira que as bactérias probióticas devem transpor no organismo é a bile presente no intestino delgado, no qual o tempo de trânsito do alimento é geralmente entre 1 a 4 horas. Os sais biliares são os principais componentes da bile, capazes de desorganizar a estrutura de membranas celulares e, dessa forma, tóxicos às células vivas [49]. Na Tabela 4 é possível observar a tolerância dos isolados de BALs frente à bile bovina a 0,3% e 1,0%, após uma e quatro horas de incubação.

De acordo com os dados obtidos, verifica-se que os isolados avaliados quanto à resistência aos sais biliares obtiveram comportamento semelhante entre si, em relação à capacidade de sobrevivência a essas condições nos tempos avaliados. Estes resultados são promissores e demonstram o potencial de tais isolados serem utilizados como probióticos, já que a concentração de sais biliares entre 0,15% e 0,3% tem sido recomendada para a avaliação *in vitro* da passagem pelo intestino delgado [43, 50].

Na Tabela 3, é possível observar a contagem das BALs de 27 isolados selecionados frente aos diferentes tratamentos com bile bovina, onde apenas o isolado KN2D não sobreviveu aos tratamentos. No tratamento com bile a 0,3%, 48% dos isolados, além de resistirem a essa condição, ainda apresentaram crescimento. Já no tratamento com 1% de bile bovina, 30% dos isolados apresentaram crescimento. Destaca-se o isolado KN2B que apresentou crescimento nos dois tratamentos, o que indica uma grande resistência a essas condições. Carasi et al. [47] ao submeterem 52 isolados de bactérias ácido-láticas de kefir ao teste de resistência à condições biliares, observaram 79% de sobrevivência das mesmas, resultado muito semelhante à Santos et al. [39], onde obtiveram 80% de sobrevivência ao submeterem 58 isolados de bactérias ácido-láticas de kefir aos mesmos tratamentos.

Isolado	Controle log/UFC	pH 2,0		pH 2,5		pH 2,5 + pepsina	
		log/UFC	%ST	log/UFC	%ST	log/UFC	%ST
KO1A	4,87	0	0,00	3,83	78,64	0	0,00
KO1B	4,88	4,1	84,02	3,53	72,34	0	0,00
KO1C	4,53	4,1	90,51	3,53	77,92	0	0,00
KO3A	4,95	0	0,00	0	0,00	0,74	14,94
KO3C	4,7	0,71	15,11	2,23	47,45	0	0,00
KO3E	4,74	0	0,00	3,39	71,52	3,65	77,00
KN1A	4,57	0,67	14,66	3,54	77,46	3,64	79,64
KN1B	3,95	0	0,00	0	0,00	3,02	76,45
KN1C	4,4	1,91	43,41	2,43	55,23	0,74	16,81
KN2A	4,39	0	0,00	0	0,00	2,28	51,93
KN2B	4,42	0	0,00	0	0,00	0	0,00

KN2C	4,37	0	0,00	1,85	42,33	0,81	18,54
KN2D	4,18	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KN2E	4,41	0	0,00	0	0,00	0,67	15,19
KN3B	4,35	0	0,00	3,39	77,93	0,84	19,31
KN3C	4,39	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KN3D	4,34	0	0,00	0	0,00	1,19	27,42
KN3 E	4,4	0	0,00	3,38	76,82	0	0,00
KD1A	4,35	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KD1B	4,48	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KD1C	4,32	0	0,00	0	0,00	0,81	18,75
KD1D	4,69	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KD1E	4,23	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KD2A	4,25	0	0,00	0	0,00	0	0,00
KD2B	4,85	1,3	0,00	0	0,00	1,95	40,21
KD2C	4,64	0,77	26,80	3,01	64,87	3,62	78,02
KD2E	4,68	0	0,00	0	64,32	0	0,00

Tabela 2. Avaliação da sobrevivência total (%ST) de BALs frente a diferentes pHs, com base na contagem de células viáveis, após quatro horas de incubação.

Amostras	Tempo	Bile 0,3% log <sub>10</sub> UFC/mL	Bile 1,0% log <sub>10</sub> UFC/mL	Amostras	Tempo	Bile 0,3% log <sub>10</sub> UFC/mL	Bile 1,0% log <sub>10</sub> UFC/mL
KO1 A	T0	3,04 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KO1 A	T4	5,43 <sup>b</sup>	3,20 <sup>a</sup>
KO1 B	T0	3,15 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KO1 B	T4	3,88 <sup>cd</sup>	3,64 <sup>a</sup>
KO1 C	T0	3,23 <sup>b</sup>	3,98 <sup>ef</sup>	KO1 C	T4	3,93 <sup>bcd</sup>	3,53 <sup>a</sup>
KO1 D	T0	3,91 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KO1 D	T4	3,92 <sup>bcd</sup>	3,52 <sup>a</sup>
KO1 E	T0	3,97 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KO1 E	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,22 <sup>a</sup>
KO2 D	T0	4,16 <sup>b</sup>	2,10 <sup>g</sup>	KO2 D	T4	3,65 <sup>cd</sup>	3,50 <sup>a</sup>
KO3 A	T0	4,95 <sup>b</sup>	4,60 <sup>bcdef</sup>	KO3 A	T4	4,79 <sup>bc</sup>	3,32 <sup>a</sup>
KO3 B	T0	2,44 <sup>b</sup>	4,84 <sup>bcde</sup>	KO3 B	T4	4,27 <sup>bcd</sup>	4,16 <sup>a</sup>
KO3 C	T0	3,59 <sup>b</sup>	4,80 <sup>bcdef</sup>	KO3 C	T4	4,27 <sup>bcd</sup>	4,25 <sup>a</sup>
KO3 D	T0	5,05 <sup>b</sup>	5,00 <sup>bcde</sup>	KO3 D	T4	4,50 <sup>bcd</sup>	0,00 <sup>b</sup>
KO3 E	T0	4,74 <sup>b</sup>	4,80 <sup>bcdef</sup>	KO3 E	T4	4,27 <sup>bcd</sup>	4,02 <sup>a</sup>
KN1 A	T0	4,24 <sup>b</sup>	5,01 <sup>bcde</sup>	KN1 A	T4	3,16 <sup>d</sup>	3,95 <sup>a</sup>
KN1 B	T0	3,95 <sup>b</sup>	5,97 <sup>b</sup>	KN1 B	T4	Inc. <sup>a</sup>	3,24 <sup>a</sup>
KN1 C	T0	4,40 <sup>b</sup>	5,57 <sup>bcd</sup>	KN1 C	T4	3,85 <sup>cd</sup>	4,10 <sup>a</sup>
KN1 D	T0	4,02 <sup>b</sup>	5,12 <sup>bcde</sup>	KN1 D	T4	3,90 <sup>cd</sup>	0,00 <sup>b</sup>
KN1 E	T0	3,48 <sup>b</sup>	0,52 <sup>h</sup>	KN1 E	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,62 <sup>a</sup>
KN2 A	T0	3,67 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KN2 A	T4	3,89 <sup>cd</sup>	4,16 <sup>a</sup>
KN2 B	T0	3,67 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KN2 B	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,63 <sup>a</sup>
KN2 C	T0	3,71 <sup>b</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KN2 C	T4	Inc. <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>
KN2 D	T0	3,57 <sup>b</sup>	0,00 <sup>h</sup>	KN2 D	T4	0,00 <sup>e</sup>	0,00 <sup>b</sup>
KN2 E	T0	4,32 <sup>b</sup>	5,17 <sup>bcde</sup>	KN2 E	T4	Inc. <sup>a</sup>	3,89 <sup>a</sup>
KN3 A	T0	Inc. <sup>a</sup>	Inc. <sup>a</sup>	KN3 A	T4	4,21 <sup>bcd</sup>	3,67 <sup>a</sup>
KN3 B	T0	4,40 <sup>b</sup>	4,67 <sup>bcdef</sup>	KN3 B	T4	4,37 <sup>bcd</sup>	3,04 <sup>a</sup>
KN3 C	T0	4,58 <sup>b</sup>	5,45 <sup>bcde</sup>	KN3 C	T4	3,73 <sup>cd</sup>	2,97 <sup>a</sup>
KN3 D	T0	4,03 <sup>b</sup>	5,53 <sup>bcd</sup>	KN3 D	T4	4,01 <sup>bcd</sup>	2,69 <sup>a</sup>
KN3 E	T0	3,45 <sup>b</sup>	5,31 <sup>bcde</sup>	KN3 E	T4	3,98 <sup>bcd</sup>	3,47 <sup>a</sup>
KD1 A	T0	4,25 <sup>b</sup>	4,98 <sup>bcde</sup>	KD1 A	T4	4,11 <sup>bcd</sup>	3,53 <sup>a</sup>

KD1 B	T0	4,49 <sup>b</sup>	5,20 <sup>bcde</sup>	KD1 B	T4	5,10 <sup>bc</sup>	3,69 <sup>a</sup>
KD1 C	T0	3,82 <sup>b</sup>	5,23 <sup>bc</sup>	KD1 C	T4	4,19 <sup>bcd</sup>	3,24 <sup>a</sup>
KD1 D	T0	5,00 <sup>b</sup>	5,67 <sup>fg</sup>	KD1 D	T4	3,82 <sup>cd</sup>	3,21 <sup>a</sup>
KD1 E	T0	5,04 <sup>b</sup>	3,31 <sup>fg</sup>	KD1 E	T4	4,28 <sup>bcd</sup>	3,89 <sup>a</sup>
KD2 A	T0	5,02 <sup>b</sup>	4,36 <sup>cdef</sup>	KD2 A	T4	4,65 <sup>bcd</sup>	3,75 <sup>a</sup>
KD2 B	T0	4,32 <sup>b</sup>	4,08 <sup>def</sup>	KD2 B	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,37 <sup>a</sup>
KD2 C	T0	4,52 <sup>b</sup>	4,14 <sup>def</sup>	KD2 C	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>
KD2 D	T0	Inc. <sup>a</sup>	5,00 <sup>bcde</sup>	KD2 D	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,00 <sup>a</sup>
KD2 E	T0	3,84 <sup>b</sup>	4,53 <sup>bcdef</sup>	KD2 E	T4	Inc. <sup>a</sup>	4,41 <sup>a</sup>

Valores de contagem de células viáveis expressos como médias de triplicatas ( $\log_{10}$ UFC/mL). Médias seguidas de letras distintas, na coluna, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 3. Contagem de BALs nos tempos 1 (após 1 hora de incubação) e 4 (após quatro horas de incubação), sob exposição a sais biliares.

Isolado	Bile bovina 0,3%			Bile bovina 1%	
	Controle log/UFC	log/UFC	%ST	log/UFC	%ST
KO1A	4,87	5,43	>100	3,2	65,71
KO1B	4,88	3,88	79,51	3,64	74,59
KO1C	4,53	3,93	86,75	3,53	77,92
KO3A	4,95	4,79	96,77	3,32	67,07
KO3C	4,7	4,27	90,85	4,25	90,43
KO3E	4,74	4,27	90,08	4,02	84,81
KN1A	4,57	3,16	69,15	3,95	86,43
KN1B	3,95	Inc.	>100	3,24	82,03
KN1C	4,4	3,85	>100	4,1	93,18
KN2A	4,39	3,89	87,50	4,16	94,76
KN2B	4,42	Inc.	>100	4,63	>100
KN2C	4,37	Inc.	>100	3,52	80,55
KN2D	4,18	3,57	85,40	0	0,00
KN2E	4,41	Inc.	>100	3,89	88,21
KN3B	4,35	4,37	>100	3,04	69,89
KN3C	4,39	3,73	>100	2,97	67,65
KN3D	4,34	4,01	84,97	2,69	61,98
KN3 E	4,4	3,98	92,40	3,47	78,86
KD1A	4,35	4,11	90,45	3,53	81,15
KD1B	4,48	4,19	94,48	3,69	82,37
KD1C	4,32	3,82	93,53	3,24	75,00
KD1D	4,69	4,28	88,43	3,21	68,44
KD1E	4,23	4,65	91,26	3,89	91,96
KD2A	4,25	Inc.	>100	3,75	88,24
KD2B	4,85	Inc.	>100	4,37	90,10
KD2C	4,64	Inc.	>100	4,21	90,73
KD2E	4,68	Inc.	>100	4,41	94,23

Tabela 4. Avaliação da sobrevivência total (%ST) de BALs frente a diferentes concentrações de bile, com base na contagem de células viáveis, após quatro horas de incubação.

#### 4. Conclusões

Os isolados de bactérias ácido lácticas avaliados nesse estudo apresentaram características fenotípicas idênticas, o que é um indicativo de que se trata de um mesmo grupo de microrganismos apresentando sobrevivência a condições extremas de estresse, como o sistema intestinal que tem como características o baixo pH e presença de sais biliares, além de apresentarem formação de halo de inibição frente a cepas de bactérias patogênicas, o que é uma importante potencialidade probiótica e torna esses isolados uma interessante fonte de estudos, para que posteriormente possam servir de cultura *starter* e serem introduzidos em produtos lácteos.

Dos 40 isolados inicialmente, apenas 27 sobreviveram até o final das avaliações, no entanto, todos possuem a propriedade de formar halos de inibição frente aos patógenos testados. Dos 27 isolados, 48% resistiram até os testes finais, além de sobreviverem ao tratamento de 0,3% de bile bovina, ainda apresentaram crescimento nessa condição, bem como 30% cresceram no tratamento com 1% de bile bovina. Já para a condição de pH ácido os mesmos 27 isolados, apresentaram pouca resistência ao tratamento com pH 2,0, onde apenas 6 isolados sobreviveram, porém 44% sobreviveram aos tratamentos em pH 2,5 e 2,5 com pepsina. Vale ressaltar que os isolados que não apresentaram condições favoráveis de desenvolvimento em pH ácido, bem como os isolados que apresentaram atividade antagônica à bactérias patogênicas, porém não sobreviveram até o final das avaliações, não devem ser descartados como potenciais probióticos, visto que podem ser inseridos em alimentos através de técnicas de proteção, como a microencapsulação. Mais estudos são necessários para a verificação dessa potencialidade probiótica.

#### 5. Referências

- [1] Nystrand B.T., Olsen S.O. Consumers' attitudes and intentions toward consuming functional foods in Norway. *Food Quality and Preference* 2020; 80:103827, <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.103827>.
- [2] Díaz L.D., Fernández-Ruiz V., Cámara M. An international regulatory review of food health-related claims in functional food products labeling. *Journal of Functional Foods* 2020; 68:103896, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103896>.
- [3] Lenssen K.G.M., Bast A., Boer A. Clarifying the health claim assessment procedure of EFSA will benefit functional food innovation. *Journal of Functional Foods* 2018; 47:386-396. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.05.047>.
- [4] Hunter D.C., Jones V.S., Hedderley D.I., Jaeger S.R. The influence of claims of appetite control benefits in those trying to lose or maintain weight: The role of claim believability and attitudes to functional foods 2019; 119:715-724. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.051>.
- [5] Venkatakrisshann K., Chiu H.F., Wang C.K. Popular functional foods and herbs for the management of type-2-diabetes mellitus: A comprehensive review with special reference to clinical trials and its proposed mechanism. *Journal of Functional Foods* 2019; 57:425-438. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.039>.
- [6] Farag M.A., Abdelwareth A., Sallam I.E., Shorbagi M., Jehmlich N., Fritz-Wallace K., Schäpe S.S., Rolle-Kampczyk U., Ehrlich A., Wessjohann L.A., Bergen M. Metabolomics reveals impact of seven functional foods on metabolic pathways in a gut microbiota model. *Journal of Advanced Research* 2020; 23:47-59, <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.01.001>.

- [7] Ashaolu T.J. Immune boosting functional foods and their mechanisms: A critical evaluation of probiotics and prebiotics. *Biomedicine & Phamacotherapy* 2020; 130:110625. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110625>
- [8] Kotilainen L., Rajalahti R., Ragasa C., Pehu, E. Health enhancing foods: Opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development Discussion* 2006; 82p.
- [9] Guzel-Seydim Z., Kok-Tas T., Grene A.K. Review: functional properties of kefir. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2011; 51(3): 261-268. <https://doi.org/10.1080/10408390903579029>.
- [10] Leite A.M.O., Miguel M.A.L., Peixoto R.S., Rosado A.S., Silva J.T., Paschoalin V.M.F. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology* 2013; 44: 341-349. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000200001>.
- [11] Kolling F.F., Richards N.S.P.S. Kefir - um alimento milagroso? *Food Ingredients* 2004; 6(33):62-71.
- [12] Koroleva N.S. Technology of kefir and kumys. *IDF Bul* 18; 227:96-100.
- [13] Anselmo R.J., Vitoria S.S., Lausada, L. I. Effect of kefir bactericide on *Salmonella* spp. *Informacion Tecnologica* 2001; 12(5):91-95.
- [14] Ribeiro A.S. Caracterização de mico-organismos com potencial probiótico isolados a partir de kefir produzido na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. *Dissertação*. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2015.
- [15] Carneiro R.P. Desenvolvimento de uma cultura iniciadora para produção de kefir. *Dissertação*. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.
- [16] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Brasil, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/noticias/diariooficial-publica-decreto-do-novo-regulamento-de-inspecao-industrial-e-sanitaria>. Acesso em 13 Ago. 2017.
- [17] Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Brasil, 2007. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=13515>. Acesso em 13 Ago 2017.
- [18] DUPONT. Kefir-D Cultures. Disponível em: <https://www.dupontnutritionandbiosciences.com/products/kefir-d-cultures.html>. Acesso em 13 de Ago. de 2020.
- [19] Madera C., García P., Janzen T., Rodríguez A., Suárez J.E. Characterization of technologically proficient wild *Lactococcus lactis* strains resistant to phage infection. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 86(3):213-222. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00042-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00042-4).
- [20] Piard J.C., Desmazeaud M. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2-Bacteriocins and other antimicrobial substance. *Lait* 1992; 72:113-142. <https://doi.org/10.1051/lait:199229>.

- [21] Bengoa A.A., Iraporda C., Garrote G.L., Abraham A.G. Kefir micro-organisms: Their role in grain assembly and health properties of fermented milk. *Journal of Applied Microbiology* 2019; 126(3):686–700. <https://doi.org/10.1111/jam.14107>.
- [22] Ferrocino I., Reale A, Sabbatini R, Milanović V, Alkić-Subašić M, Boscaino F, Aquilanti L, Pasquini M, Trombetta M.F., Tavoletti S., Coppola R., Cocolin L., Blesić M., Sarić Z., Clementi F., Osimani A. Study of kefir drinks produced by backslopping method using kefir grains from Bosnia and Herzegovina: Microbial dynamics and volatilome profile. *Food Research International* 2020; 137:1–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109369>.
- [23] Davras F., Guzel-Seydim Z. B., Tas T. K. Immunological effects of Kefir produced from Kefir grains versus starter cultures when fed to mice. *Functional Foods in Health and Disease* 2018; 8(8):412–423. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v8i8.533>.
- [24] Moreira M.E.C., Santos M.H., Marcelo H., Pereira I.O., Ferraz V., Barbosa L.C.A., Schneedorf J. Atividade anti-inflamatória de carboidrato produzido por fermentação aquosa de grãos de quefir. *Química Nova* 2008; 31(7). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700027>.
- [25] Abriouel H., Franz C.M.A.P., Omar N.B., Gálvez A. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocinas. *FEMS Microbiology Reviews* 2011; 35:201-232. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2010.00244.x>
- [26] Richards N.S.P.S. Novos produtos para a indústria de laticínios. In: Martins P.C., Piccinini G.A., Krug E.E.B., Martins C.E., Lopes F.C.F. (eds) *Sustentabilidade ambiental, social e econômica da cadeia produtiva do leite*. Brasília: EMBRAPA, 2015, p. 329-338. Brasília, Brasil.
- [27] Delgado-Fernandez P., Corzo N., Lizasoain S., Olano A., Moreno F. J. Fermentative properties of starter culture during manufacture of kefir with new prebiotics derived from lactulose. *International Dairy Journal* 2019; 93:22–29. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.01.014>.
- [28] APHA. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington, 2002.
- [29] Jacobsen C. N., Nielsen V.R., Hayford A., ~~Atter~~ ~~W.L.~~, Michaelsen K.F., Pærregaard A., Sandström B., Tvede M., Jakobsen M. Strains in humans the colonization ability of five selected by in vitro techniques and evaluation of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. screening of probiotic activities of the colonization ability of five selected strains in humans. *Applied Environmental Microbiology* 1999; 65(11):4949-4956.
- [30] Perelmuter K., Fraga M., Zunino P. In vitro activity of potential probiotic *Lactobacillus murinus* isolated from the dog. *Journal of Applied Microbiology* 2008; 104:1718- 1725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03702.x>.
- [31] Moraes P.M., Perin L.M., Ortolani M.B.T., Yamazi, A.K., Viçosa G.N., Nero L.A. Protocols for the isolation and detection of lactic acid bacteria with bacteriocinogenic potential. *LWT - Food Science and Technology* 2010; 43:1320-1324. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.005>.
- [32] Santos G., Costa J.A.M., Cunha V.C.M., Barros M.O., Castro A.A. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do leite fermentado probiótico desnatado

adicionado de jenipapo desidratado osmoticamente. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes* 2012; 67(388):61-67. <https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120066>.

[33] Schillinger U., Lucke F.K. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology* 1989; 55(8):1901-1906.

[34] Jones R.J., Hussein H.M., Zagorec M., Brightwell G., Tagg J.R. Isolation of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogens and spoilage organisms associated with fresh meat. *Food Microbiology* 2008; 25:228–234. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.11.001>.

[35] Nero L.A., Mattos M.R. de, Barros M.A.F., Ortolani M.B.T., Beloti V., Franco B.D.G.M. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. *Zoonoses Public Health* 2008; 55:299–305. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01130.x>.

[36] Ortolani M.B.T. Bactérias ácido-láticas autóctones de leite cru e queijo minas frescal: Isolamento de culturas bactericinogênicas, caracterização da atividade antagonista e identificação molecular. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

[37] Sawitzki M.C., Fiorentini A.M., Bertol T.M., Sant'Anna E.S. *Lactobacillus plantarum* strains isolated from naturally fermented sausages and their technological properties for application as starter cultures. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2009; 29(2):340-345. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000200016>.

[38] Meira S.M.M., Helfer V.E., Medina L.F.C., Brandelli A. Atividade antagonística de *Lactobacillus* frente a bactérias de importância em alimentos. In: 3º Simpósio de Segurança Alimentar, 2010, Florianópolis. Anais do 3º Simpósio de Segurança Alimentar 2010. Florianópolis: SBCTA.

[39] Santos A., Mauro S., Sanchez A., Torres J.M., Marquina D. The Antimicrobial Properties of Different Strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from Kefir. *Systematic and Applied Microbiology* 2003; 26:434–437. <https://doi.org/10.1078/072320203322497464>.

[40] Dias P.A. Atividade Antimicrobiana de Microrganismos Presentes em Grãos de Kefir. 2011. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Veterinária) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

[41] FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Joint Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report 2001, Córdoba, Argentina.

[42] Vinderola C.G., Reinheimer J.A. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative “in vitro” study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International* 2003; 36:895–904. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00098-X).

[43] Huang Y., Adams, M.C. In vitro assessment of the upper gastrointestinal tolerance of potential probiotic dairy propionibacteria. *International Journal of Food Microbiology* 2004; 91:253– 260. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.07.001>.

- [44] Schillinger U., Guigas C., Holzapfel W.H. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. *International Dairy Journal* 2005; 15(12):1289-1297. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.12.008>.
- [45] Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in mixed bacterial populations. *International Journal of Food Microbiology* 1997; 35:1-27. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(96\)01222-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(96)01222-6).
- [46] Redondo N.C. Avaliação in vitro de características probióticas do *Enterococcus faecium* CRL183 e do *Lactobacillus helveticus* sspjugurti. 2008. Dissertação. (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, Brasil). 109p.
- [47] Carasi P., Jacquot C., Romanin D.E., Elie A., De Antoni G.L., Urdaci M.C., Serradell M.A. Safety and potential beneficial properties of *Enterococcus* strains isolated from kefir. *International Dairy Journal* 2014; 39:193-200. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.06.009>.
- [48] Zanirati D.F., Abatemarco M., Sandes S.H.C., Nicoli J.R., Nunes A.C., Neumann E. Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe* 2015; 32:70-76. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.12.007>.
- [49] Begley M., Hill C., Gahan C.G.M. Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. *Applied and Environmental Microbiology* 2006; 72(3):1729–1738. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006>.
- [50] Golowczyc M.A., Silva J., Teixeira P., De Antoni G., Abraham A.G. Cellular injuries of spray-dried *Lactobacillus* spp. Isolated from kefir and their impact on probiótica properties. *International Journal of Food Microbiology* 2011; 144:556-560. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.005>.

## **Autores**

Alice de Souza Ribeiro<sup>1</sup>, Leidi Daiana Preichardt<sup>1</sup>, Neila Silvia Pereira dos Santos Richards<sup>2,\*</sup>

1. Instituto Federal Farroupinha, Rua Fábio João Andolhe, 1100, 98590-000, Santo Augusto – RS, Brasil.
2. Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - DTCA/UFSM, Avenida Roraima, 1000, Prédio 42, sala 3211, 97105-900, Santa Maria - RS, Brasil.

\* Autor para correspondência: [neilarichardsprof@gmail.com](mailto:neilarichardsprof@gmail.com)

