
Estudo da composição nutricional e viabilidade de *Lactobacillus helveticus* em queijo fresco probiótico

Bárbara Raquel dos Santos Cruz, Daniela Cavalcante dos Santos Campos, Lailson Oliveira de Sousa, Alice Victoria Silva Cardoso, Ralane Gomes da Silva, Stherfany Mac Donald da Silva.

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-84548-09-1.c1>

Resumo

Alimentos probióticos fazem parte do grupo dos alimentos funcionais, a exemplo dos vários tipos de queijo que apresentam potencial frente a outros produtos probióticos. O objetivo deste trabalho foi estabelecer a composição nutricional e o estudo de pós acidificação de queijos probióticos. Para obtenção dos queijos, foi adicionado ao leite pasteurizado, 40 mL 100 L⁻¹ de CaCl₂ a 50%, 30 mL 100 L⁻¹ de coagulante e *Lactobacillus helveticus*. Após coagulação, fez-se corte da massa, mexedura, dessoragem, adição ou não de sal, embalagem e refrigeração a 4 °C. As análises pós-acidificação, pH e acidez titulável (AT), as contagens dos *L. helveticus* foram realizadas nos dias 1, 6, 12, 18, 24 e 30 de armazenamento. As análises de composição nutricional envolveram, umidade, proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos totais, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD) e valor calórico total. A análise de pós-acidificação mostrou redução significativa nos valores de pH e aumento na AT até o dia 12 de armazenamento. As contagens de microrganismos probióticos atenderam a legislação e aumentaram até o dia 12 de avaliação, concordando com os dados de acidificação pode-se afirmar que os 12 primeiros dias apresentam período ótimo de desenvolvimento dos *L. helveticus*. Os queijos foram classificados como de média umidade e magros de acordo com a legislação vigente. Não foi possível atender ao tempo de prateleira de 30 dias proposto, devido à contaminação dos queijos por microrganismos deterioradores. Pode-se concluir que o uso de microrganismos probióticos em queijos frescos é viável, porém com prazo de validade curto.

Palavras-chave: Alimentos funcionais, produtos lácteos, vida de prateleira.

1. Introdução

No setor lácteo, os alimentos funcionais já são uma realidade, e muitas empresas alimentícias desenvolvem suas linhas de produtos tendo a promoção da saúde como principal objetivo. Isso se deve ao fato de que os consumidores estão cada vez mais preocupados com a saúde, e porque os alimentos funcionais constituem-se hoje, como prioridade de pesquisa em todo o mundo, com a finalidade de elucidar as propriedades e os efeitos benéficos que estes produtos podem proporcionar à saúde e ao bem-estar (BELCHIOR, 2004).

Os microrganismos utilizados como probióticos são, predominantemente, de diferentes espécies e linhagens dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. A principal razão para esta escolha é o fato destes dois gêneros serem habitantes predominantes do intestino humano, sendo os *Lactobacillus* do intestino delgado e os *Bifidobacterium* do intestino grosso. (O'SULLIVAN, 2006).

Os probióticos utilizados em alimentos devem se multiplicar e sobreviver aos processos de elaboração, maturação e estocagem do produto, bem como não afetar negativamente sua qualidade e ser seguro à saúde do consumidor (ISOLAURI et al., 2001; STANTON et al., 2001; ZALAZAR et al., 2004).

Lactobacillus helveticus é uma bactéria homofermentativa de ácido láctico termofílica amplamente utilizada na fabricação de queijos do tipo suíço e italianos envelhecidos e bebidas lácteas fermentadas (GATTI et al., 2004; VINDEROLA et al., 2007). Os *L. helveticus* tem a capacidade de reduzir o amargor e dar sabor característico ao queijo, o que torna esta bactéria um importante componente de culturas starter para a indústria de laticínios. O interesse do consumidor por alimentos funcionais motivou os pesquisadores a se concentrarem nos compostos bioativos formados durante a fermentação de produtos lácteos por bactérias de ácido láctico (BAL), como *L. helveticus* (MATAR et al., 2003; VINDEROLA et al., 2007; RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2010; WAKAI e YAMAMOTO, 2012).

As proteínas do leite são consideradas fonte mais importante de peptídeos bioativos que podem ser liberados através da hidrólise por microrganismos proteolíticos, como *L. helveticus* (MEISEL e BOCKELMANN, 1999; MATAR et al., 2001; LEBLANC et al., 2002; FITZGERALD e MEISEL, 2003; KENNY et al., 2003; DE LEBLANC et al., 2008). Além disso, os microrganismos probióticos devem apresentar células viáveis em quantidades

adequadas no alimento durante toda a estocagem do produto, sendo a dose diária de consumo recomendada de 10^8 - 10^9 unidades formadoras de colônia (UFC) (BRASIL, 2007).

Em relação a sobrevivência das bactérias probióticas no produto queijo, estudos mostraram maior prevalência destas bactérias em queijos frescos do que em queijos maturados. Essa maior viabilidade estaria relacionada ao menor tempo de armazenamento dos queijos frescos, ao menor teor de sal, ao maior teor de umidade e à atividade de água, que não limitaram a multiplicação do probiótico (BURITI, 2005).

Dentre os benefícios à saúde produzidos por bactérias probióticas, podem-se citar: redução da intolerância à lactose; inibição de microrganismos patogênicos; prevenção de diarreia; redução dos níveis de colesterol; aumento da resposta imunológica; e prevenção de câncer de cólon (SAARELA et al., 2002; SANDERS, 2003; SCHMID et al., 2006).

Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi estabelecer a composição nutricional, o comportamento de pós-acidificação do queijo frescal adicionado de *Lactobacillus helveticus* e a contagem desses microrganismos probióticos, durante 30 dias de estocagem.

2. Materiais e Métodos

2.1. Fabricação dos queijos

O leite reconstituído foi submetido à pasteurização lenta a 65 °C por 30 minutos. Após o tratamento térmico, procedeu-se o resfriamento a 39 °C, temperatura em que foram adicionados (40 mL 100 L^{-1}) da solução aquosa de cloreto de cálcio (CaCl_2) a 50%, (30 mL 100 L^{-1}) de agente coagulante (coágulo líquido) da marca HÁ-LÁ (Chr. Hansen Indústria, São Paulo, SP, Brasil) e a cultura probiótica com um envelope com a dosagem de 5 U contendo *Lactobacillus helveticus* da marca Docina (Docina., Brasil), que passou por processo de ativação em (500 mL) de leite a 42° C por 8 horas em demanda biológica de oxigênio (B.O.D) até pH 5,0. Após 40 a 60 minutos, foi feito o corte da massa em cubos de 1,5 a 2 cm, intercalando a mexedura e o repouso para promover a dessoragem da massa. Após essa etapa, foi feita a drenagem de cerca de 80% soro para então ser realizada a salga da massa (700 g 100 L^{-1} de sal branco refinado) nos tratamentos com sal e para as amostras sem sal,

passou-se para a etapa de dessoragem. Os queijos com e sem adição de sal, foram dispostos em dessoradores plásticos com capacidade de (250 g), por 1 hora com tempo de viragem de 30 minutos, para então, serem embalados em sacos plásticos de polietileno, conservados a 4 °C em B.O.D e armazenados durante o período de análise de estudo da viabilidade da cultura probiótica.

2.2. Análise de pós acidificação dos queijos frescos probióticos

Foram realizadas em triplicata nos queijos frescos, nos dias 1, 6, 12, 18 e 24 de armazenamento refrigerado as seguintes análises: pH, acidez titulável (AT), (IAL, 2008) e atividade de água (Aw) por leitura direta em analisador de atividade de água (LABSWIFT, Novasina).

2.3. Contagem dos microrganismos probióticos

Para contagem dos *L. helveticus* foram retirados (25 g) do queijo, tanto da superfície quanto da parte interna da massa. As amostras foram adicionadas de (225 mL) de água peptonada estéril a 0,1%, homogeneizadas e diluídas sequencialmente até 10^{-7} . A proposta inicial era que as contagens fossem realizadas até dia 30 dia de armazenamento refrigerado, porém as amostras apresentaram contaminações fúngicas a partir do dia 24 de armazenamento, sendo, portanto, consideradas as contagens até o dia 18 de armazenamento. Foi utilizado como meio de cultura o ágar MRS (Man, and Sharpe – Maltose) (ACUMEDIA - Brasil), sendo o plaqueamento realizado em profundidade (*pour plate*) e a incubação em jarra de anaerobiose a 37°C por 72 horas em B.O.D. Os resultados foram expressos em log unidade formadora de colônia por grama (log UFC g⁻¹) (VINDEROLA; REINHEIMER, 1999). A contagem dos *Lactobacillus helveticus* foram realizadas em duplicata nos queijos frescos, nos dias 1, 6, 12, 18 e 24 de armazenamento refrigerado, para verificar a viabilidade das culturas no produto ao longo do período de avaliação e estocagem.

2.4. Análises de composição nutricional

As análises de composição nutricional foram realizadas em triplicata e no dia 0, estão descritas a seguir: Umidade - determinada pelo método de secagem em estufa com circulação de ar a 105 °C (AOAC, 2012); Proteínas determinadas pelo método Kjeldahl (AOAC, 2012). O fator geral de conversão de 6,38 foi

aplicado para calcular as proteínas nos produtos derivados de leite; Lipídios totais - determinados pelo método de Bligh; Dyer (BLIGH, E. G.; DYER, 1959); Cinzas - determinadas por incineração em mufla a 550°C (AOAC, 2012); Carboidratos- calculado pela diferença: 100 menos todos os constituintes; Extrato seco total - determinado pelo método de secagem em estufa à 105°C (AOAC, 2012); Cálculo de valor calórico (Kcal): foi obtido aplicando-se os fatores de Atwater 4 - 9 – 4 kcal/g para os valores de proteínas, lipídios e carboidratos totais, respectivamente, segundo ANDERSON et al. (1988) e a Brasil (2003).

2.5. Análise estatística

Os dados de composição nutricional foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Para análise da pós acidificação e contagem de *Lactobacillus helveticus* dos queijos foi estabelecido delineamento inteiramente casualizado em fatorial duplo 2 x 5 (presença e ausência de sal x 5 períodos de avaliação). Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias avaliadas por regressão a 5%. Todos os dados foram avaliados utilizando o programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. Resultados e Discussão

De acordo com a análise de variância (Tabela 1) verificou-se diferença significativa de 5% de probabilidade para as variáveis analisadas considerando as fontes de variação (FV): ausência e presença de sal (tratamento), dias de armazenamento refrigerado e interação tratamento x dias.

Tabela 1. Resumo da análise de variância das características físico-químicas, pH, acidez titulável (AT), atividade de água (Aw), e das contagens de *L. helveticus* em queijo frescal probióticos (Log UFC g⁻¹).

FV	GL	Quadrados médios			
		pH	AT	Aw	Log UFC g ⁻¹
Ausência e Presença de Sal	1	0,06 ^{ns}	0,0002 ^{ns}	0,0005 ^{ns}	0,071*
Dias	4	0,12 ^{ns}	0,001*	0,0005 ^{ns}	0,142*
Tratamento x Dias	4	0,05*	0,0007 ^{ns}	0,00006 ^{ns}	0,0007 ^{ns}
Resíduo	20	0,01	0,0003	0,0002	0,001
CV (%)	-	2,05	22,02	2,09	0,40

*Efeito significativo a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). ^{ns}. não significativo.

Considerando o fator isolado períodos de avaliação, observou-se redução significativa nos valores de pH até o dia 12 de avaliação (Figura 1), concordando com os trabalhos de Buriti et al. (2005) e Ribeiro et al. (2009), que também observaram redução significativa no pH dos queijos produzidos com *L. acidophilus*. Este comportamento revela que as bactérias promoveram acidificação mais evidentes nos primeiros 12 dias de armazenamento reduzindo os valores de 5,77 no dia 1 para 5,43 no dia 12 de armazenamento. Tal fato se explica devido a maior produção de ácido láctico, que é o principal produto do metabolismo das bactérias lácticas, sendo cerca de 70% a 90% dos compostos gerados e é sintetizado durante todo o processo e maturação dos queijos a partir da fermentação da lactose (SALMINEN; VON WRIGHT, (1993).

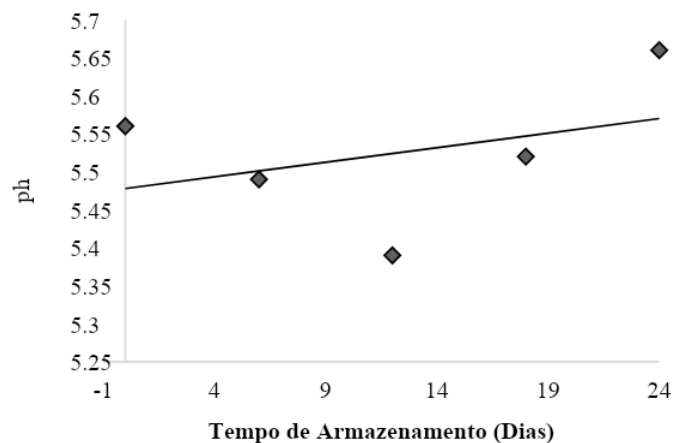


Figura 1. Valores de pH de queijo fresco probiótico em 24 dias de armazenamento.

Considerando a acidez titulável entre os dias de avaliação, os resultados não apresentaram diferença estatística para queijos com sal, entretanto para os queijos sem sal observou-se aumento significativo até o dia 12 de avaliação, concordando com resultados obtidos por Alves et al. (2011) que observaram acréscimos de acidez até o dia 12 de prateleira em queijos probióticos com *L. acidophilus*. Os valores obtidos neste experimento não se ajustaram em nenhum dos modelos de regressão propostos então desta maneira estão sendo apresentados na tabela a seguir (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de acidez titulável do queijo fresco probiótico.

Dias de Avaliação	Acidez titulável g de ácido láctico 100g ⁻¹	
	Com Sal	Sem Sal
1	0,09aA	0,05bC
6	0,06aA	0,06aBC
12	0,09aA	0,11aA
18	0,08aA	0,08aABC
24	0,09aA	0,10aAB

Letras minúsculas na mesma linha indicam diferença significativa a 5%.

Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5%.

Souza (2006) estudando a acidez desenvolvida em queijos frescos observaram aumento nos valores de acidez de 0,17% a 0,80% em queijos com *L. acidophilus* e 0,19% e 0,38% em queijos com associação de *L. acidophilus* e *S. Thermophilus*, nos dias 1 e 21 de armazenamento, diferindo dos valores observados neste trabalho, mostrando que os *L. helveticus* promoveram acidificação mais discretas que os *L. acidophilus* e os *L. acidophilus* com *S. thermophilus* em associação.

Os resultados para atividade de água (A_w) não foram significativos para os fatores isolados ausência e presença de sal e períodos de avaliação e nem para a interação dos fatores (Tabela 3). Os dados encontrados neste trabalho (A_w 0,790) foram inferiores aos de Souza (2017) que avaliou a qualidade microbiológica de queijo Minas fresco, tendo como média de A_w , 0,963. Segundo Taveira (2013) a atividade de água é influenciada pelo teor de sal dos queijos e pela capacidade dos solutos em interagir com as moléculas de água presentes nos queijos (McSWEENEY, 2007).

Nesse sentido, como o teor de sal adicionado nos queijos foi igual ou não houve adição de sal, não se observou variação nos valores. Além disso, a não variação dos valores de atividade de água durante os dias mostraram estabilidade referente a dessoragem dos queijos durante o período avaliado.

A A_w é um fator intrínseco fundamental para os microrganismos, logo, eles dependem da água livre presente nos alimentos para se desenvolverem, desta forma existindo uma atividade de água elevada as chances de contaminações desse alimento também serão. A faixa de atividade de água (0,7) encontrada neste experimento o classifica como um queijo de umidade média.

Na faixa de atividade 0,7 o crescimento de microrganismos patogênicos é inibido aumentando a estabilidade deste alimento por um período mais prolongado. Mesmo assim, alguns microrganismos como *Coliformes*, *Estafilococos*, *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes* podem crescer lentamente (MAPA, 1996).

Tabela 3. Atividade de água em queijo fresco probiótico com e sem adição de sal.

Dias de Avaliação	Aw	
	Com Sal	Sem Sal
1	0,787	0,795
6	0,793	0,797
12	0,796	0,798
18	0,792	0,800
24	0,765	0,784

Em relação às contagens de *L. helveticus*, os fatores isolados períodos de avaliação e presença e ausência de sal foram significativos a 5% de significância. Considerando o fator isolado períodos de avaliação, verificou-se aumento nas contagens de microrganismos probióticos nos queijos frescos até o dia 12 de avaliação, concordando com os resultados de pós-acidificação obtidos a partir da análise do pH e da AT (Figura 2).

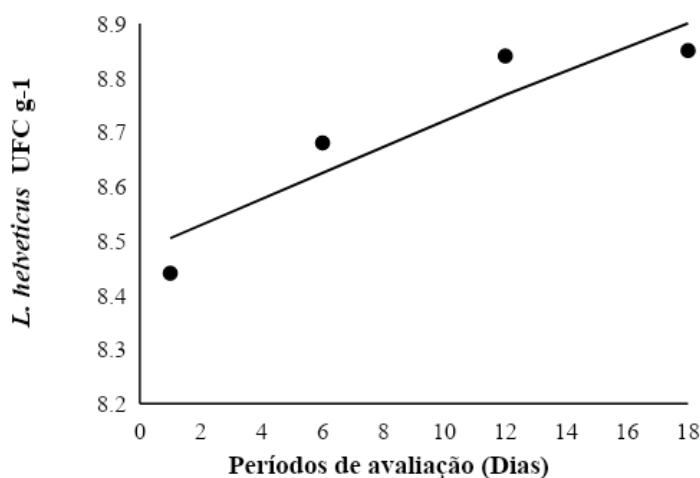


Figura 2. Contagem de *Lactobacillus helveticus* em queijos probióticos em 18 dias de avaliação.

Mesmo com acidificação discretas, os *L. helveticus* aumentaram o número de colônias de 8,44 UFC g⁻¹ no dia 1, para 8,85 UFC g⁻¹ no dia 18 de prateleira, revelando boa adaptação desses microrganismos aos queijos frescais durante o período de estudo. Alves et al. (2011), estudando as contagens de *L. acidophilus* em queijo de minas frescal por 21 dias, não observaram aumento e nem redução significativa no número de colônias destes microrganismos, mostrando que os *L. helveticus* são capazes de se multiplicar e se manter em contagem viável entre 10⁸ e 10⁹ UFC por porção diária do produto (BRASIL, 2008).

Em relação ao fator isolado presença ou ausência de sal, observou-se que os queijos adicionados de sal tiveram número de colônias superior aos dos queijos sem adição de sal (Tabela 4).

Tabela 4. Contagens de *Lactobacillus helveticus* em queijos frescais na presença e ausência de sal em 18 dias de avaliação.

Tratamentos	Log UFC g ⁻¹
Queijos probióticos sem sal	8,64B
Queijos probióticos com sal	8,77 ^a

* Letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferença significativa a 5%.

Na Tabela 5, estão apresentados os resultados obtidos para composição nutricional para umidade, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD), cinzas, lipídeos, proteínas, carboidratos totais e valor calórico.

Analisando os resultados para umidade (44,26%), EST (55,74%), de acordo com a Portaria do MAPA nº 146/1996, o queijo frescal probiótico elaborado no trabalho classifica-se como queijo de média umidade e magro quanto ao teor de matéria gorda.

Os valores de proteínas, gordura e cinzas, determinados nesse estudo foram superiores aos encontrados por Ribeiro et al. (2009), (proteínas entre 13,47% e 13,91%, cinzas 2,3% e 2,5% e gordura de 13,0% a 13,5%), que elaboraram queijo Minas Frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* a partir de retentados de ultrafiltração. Verificou-se que o queijo Minas frescal analisado, poderia ser considerado como uma fonte de proteínas. Uma porção de 50 gramas (3 fatias) do queijo Minas frescal, por exemplo, proporciona a ingestão

de, aproximadamente, 11% do consumo proteico diário recomendado pela ANVISA (75g de proteína/dia) (SILVA; FERREIRA, 2010).

Tabela 5. Composição físico-química do queijo fresco probiótico com sal.

Variáveis	Valor	PORTARIA Nº 146, DE 7 DE MARÇO DE 1996
Umidade (%)	44,26	Queijos de média umidade 36,0% e 45,9%.
EST (%)	55,74	-
ESD (%)	43,34	-
Cinzas (%)	4,52	-
Lipídeos (%)	12,40	Magros 10,0 e 24,9%.
Proteínas (%)	26,85	-
Carboidratos (%)	11,98	-
Valor Calórico (Kcal)	343,10	-

De acordo com a Tabela 5, os teores de carboidratos nas amostras de queijos Minas fresco (11,98%), foram inferiores aos teores encontrados na TACO (2011), é superior aos valores encontrados por SILVA (2010). Este resultado pode ser indicativo de adulteração ou do tipo de matéria prima empregada na fabricação deste produto.

4. Conclusão

A pós acidificação e as contagens de *L. helveticus* mostraram crescimento exponencial das colônias até o dia 12 de avaliação, sendo este, o melhor período de consumo dos queijos frescos probióticos.

Os queijos frescos obtidos mantiveram-se probióticos, ou seja, com contagem entre 10^8 a 10^9 UFC g⁻¹, durante 18 dias de refrigeração.

Em relação às características nutricionais, os queijos classificaram-se como de média umidade e magro em relação à matéria gorda, podendo ser considerado um alimento com uma boa fonte proteica.

Os *L. helveticus* tem excelente potencial de inclusão em queijos frescos,

podendo ser aplicado a fim de restabelecer transtornos gastrointestinais como diarreia, responsáveis pela má absorção de nutrientes, estresse, obesidade, fadiga, constipação e síndrome do intestino irritável, diabetes mellitus e intolerância à lactose. Outro benefício que os probióticos também podem proporcionar é a inibição da proliferação excessiva de bactérias intestinais patogênicas.

Deste modo podemos afirmar que queijos suplementados com bactérias probióticas podem ser uma alternativa adequada para indústrias de laticínios visando diversificar seus produtos em um mercado consumidor cada vez mais competitivo.

5. Referências

ALVES, C. C. C.; GEMAL, N.D.H.; CORTEZ, M. A. S.; FRANCO, R. M.; MANO, S.B. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, p. 1559-1566, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352011000600038>

ANDERSON, L., DIBBLE, M.V., TURKKI, P.R., MITCHELL, H.S., RYNBERGEN, H.J. **Nutrição**. 17.ed. Tradução por Nadia Maria Frizzo Trugo. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 737p. Tradução de: Nutrition in Health and Disease. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732000000300003>

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official Method 972.32 (16.5.11). In: Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International**. 19 ed. Maryland: AOAC, 2012. Rev. 2013. Cap. 16. p. 23. <https://rd.uffs.edu.br/handle/prefix/3727>

BELCHIOR, F. **O ingrediente do lácteo saudável**. Leite e Derivados, São Paulo, v. 13, n. 76, p. 54-64, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100030>

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. doi: 10.1139/o59-099. <https://doi.org/10.11402/cookeryscience.46.372>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 360 de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003. Seção 1, p. 33-34. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200049>

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com

Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/ Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2007. <https://doi.org/10.1590/0102-469834023>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Atualizado em Julho de 2008. (Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas). 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm >.

BURITI, F. C. A. Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Área de Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo (USP). 86 p. São Paulo, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000100030>

BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; SAAD, S.M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **Int. Dairy J.**, v. 15, p.1279-1288, 2005. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.12.011.

DE LEBLANC, A, CHAVES, S, CARMUEGA, E, WEILL, R, ANTOINE, J.; PERDIGON, G Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mucosal immunity and the activity of peritoneal macrophages. **Imunobiologia** v. 213, p. 97 –108, 2008. DOI: 10.1016/j.imbio.2007.07.002.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n.6, p. 1039- 1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FITZGERALD, R.J., and MEISEL, H. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. **Advanced Dairy Chemistry**, vol.1, p. 675–698, 2003. DOI: 10.1007/978-1-4419-8602-3_20. DOI: 10.1007/978-1-4419-8602-3_20

GATTI, M., TRIVISANO, C., FABRIZI, E., NEVIANI, E., AND GARDINI, F. Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from diferente natural whey starter cultures as revealed by classification trees. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 70, p. 182–190, 2004. Doi: 10.1128/AEM.70.1.182-190.2004.

Instituto Adolfo Lutz (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea, São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020

ISOLAURI, E., SUTAS, Y., KANKAANPÄÄ, P., ARVILOMMI, H., SALMINEN, S.; Probiotics: effects on immunity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Houston, USA, v. 73, n. 3, p. 444-450, 2001. DOI: 10.1093/ajcn/73.2.444s.

KENNY, O., FITZGERALD, R. J., O'CUINN, G., BERESFORD, T., and JORDAN,

K. Growth phase and growth medium effects on the peptidase activities of *Lactobacillus helveticus*. **Int. Dairy J.** 13, p. 509–516, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00073-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00073-6)

LEBLANC, J. G., MATAR, C., VALDEZ, J. C., LEBLANC, J., and PERDIGON, G. **Immunomodulating effects of peptidic fractions issued from milk fermented with *Lactobacillus helveticus***. **J. Dairy Sci.** v.85, p. 2733–2742, 2002. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74360-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74360-9)

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 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, DF, em 07 mar. 1996. <https://doi.org/10.18241/0073-98552014731592>

MATAR, C., LEBLANC, JG, MARTIN, L., E PERDIGON, G. “Peptídeos biologicamente ativos liberados do leite fermentado: papel e funções”, no Handbook of Fermented Functional Foods. 1ª Edn., ed ER Farnworth (Boca Raton, FL: CRC Press), p. 177–201, 2003. <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/2651>

MATAR, C., VALDEZ, J. C., MEDINAS, M., RACHID, M., and PERDIGON, G. **Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and its non-proteolytic variant**. **J. Dairy Res.** v. 68, p. 601–609, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022029901005143>

McSWEENEY, P. L. H. **Cheese problems solved**. Woodhead Publishing Limited, England, 425p., 2007.

MEISEL, H., and BOCKELMANN, W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and tropho- functional properties. *Antoine Van Leeuwenhoek*, v. 76, p. 207–215, 1999. DOI: 10.1023/A:1002063805780.

O’SULLIVAN, D. J. Primary Sources of Probiotic Cultures. In: **Probiotics in food safety and human health**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

RATTANACHAIKUNSOPON, P., PHUMKHACHORN, P. (2010). Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production. *Ann. Biol. Res.* 1, 218–228. DOI: 10.1007/978-1-4615-3522-5_9

RIBEIRO, E.P.; SIMÕES, L.G.; JURKIEWICKZ, C.H. Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 19-23, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612009000100004>

SAARELA, M. LÄHTEENMÄKI, R., CRITTENDEN, S., SALMINEN, T. and MATTILA-SANDHOLM. Gut bacteria and health foods – the European perspective. **International Journal of Food Microbiology**, v. 78, n. 1-2, p. 99-117, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00235-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00235-0)

SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A., eds. Lactic acid bacteria New York: Marcel Dekker, 1993. 442p. <https://doi.org/10.1007/s002530051365>

SANDERS, M. E. Probiotics: Considerations for Human Health. **Nutrition Reviews**, v. 61, n. 3, p. 91-99, 2003. <https://doi.org/10.1301/nr.2003.marr.91-99>

SCHMID, K. SCHLOTHAUER, R. C., FRIEDRICH, U., STAUDT, C., APAJALAHATI, J and HANSEN, E.; Development of probiotic food ingredients. In: **Probiotics in food safety and human health**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

SILVA, L. F. M.; FERREIRA, K. S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas fresco, queijo minas fresco "light" e ricota. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 437-442, 2010. <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/.../1372>.

SOUZA, C. H. B. **Influência de uma cultura starter termofílica sobre a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* e as características de queijo minas fresco probiótico**. 2006. 111f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica). Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica. Área de Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. DOI: 10.11606/D.9.2006.tde-07122006-153517

SOUZA, I. A; G, A. C.; S, LG; G, S.O; M, M.L; R, AL. Qualidade Microbiológica de queijo minas fresco comercializado na zona da mata mineira, **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n.3, 2017. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v72i3.598>

STANTON, C., GARDINER, G., MEEHAN, H., COLLINS, K., FITZGERALD, G., LYNCH, P., ROSS, R.; Market potential for probiotics. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 476-483, 2001. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)70019-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)70019-3)

TAVEIRA, L. B. **Aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo reino maturado sob diferentes condições, visando à exportação**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.008>

VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 497-505, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00120-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00120-X)

VINDEROLA, G., MATAR, C., E PERDIGON, G. (2007a). Leite fermentado por *Lactobacillus helveticus* R389 e sua fração não bacteriana conferem maior proteção contra infecção por *Salmonella enteritidis* sorovar *Typhimurium* em camundongos. **Imunobiologia**. v. 212, p. 107-118. <http://hdl.handle.net/1843/BUOS-8MRJ2E>.

VINDEROLA, G., MATAR, C., PALACIOS, J., AND PERDIGON, G. (2007b). Mucosal Immuno modulation by thenon- bacterial fraction of milk fermented by *L. helveticus* R389. **Int. J. Food Microbiol.** v. 115, p. 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.020>

WAKAI, T., and YAMAMOTO, N. (2012). "Antihypertensive peptides specific to *Lactobacillus helveticus* fermented milk," in *Biotechnology – Molecular Studies and Novel Aplicativos for Improved Quality of Human Life, Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*, ed R. H. Sammour (InTech), ISBN 978-953-51-0151-2. <https://books.google.com.br/books?id=LeKdDwAAQBAJ&lpg=PA159&ots=Puf3FOLxLx&lr&hl=pt-BR&pg=PA159#v=onepage&q&f=false>

ZALAZAR, C. A., BERGAMINI, E.R., HYNES, A., QUIBERONI, V.B., and SUÁREZ. Probiotic bacteria as adjunct starters: influence of the addition methodology on their survival in a semi-hard Argentinean cheese. **Food Research International**. v. 38, n. 8, p. 597-604, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004>.

Autores

Bárbara Raquel dos Santos Cruz¹, Daniela Cavalcante dos Santos Campos^{1,*}, Lailson Oliveira de Sousa¹, Alice Victoria Silva Cardoso¹, Ralane Gomes da Silva¹, Stherfany Mac Donald da Silva²

1. Escola Agrotécnica da Universidade Federal de Roraima. Endereço: BR 174, km 37, CEP: 69300-000, Boa Vista-RR, Brasil.
2. Universidade Federal de Roraima. Avenida Ene Garcês, 2413, CEP: 69310-000, Boa Vista-RR, Brasil.

* Autor para correspondência: daniela.campos@ufr.br