

## **AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DO PROBIÓTICO BIFIDOBACTÉRIA COM E SEM ADIÇÃO DO PREBIÓTICO INULINA NO QUEIJO MINAS PADRÃO**

## **EVALUATION OF THE DEVELOPMENT OF PROBIÓTICO BIFIDOBACTÉRIA WITH AND WITHOUT ADDITION OF PREBIÓTICO INULINA IN THE CHEESE MINES STANDARD**

Cassiane Pasuch Abitante<sup>1</sup>

Luciana Spacki<sup>2</sup>

Scarlet Ariane Gebauer<sup>1</sup>

Taiana Balsan<sup>1</sup>.

### **Resumo**

Os alimentos funcionais vêm sendo muito difundidos no mercado consumidor, trazendo uma nova forma de concepção. A inulina é uma fibra considerada um prebiótico que auxilia no desenvolvimento de microorganismos benéficos no intestino (probióticos). A Bifidobactéria é uma das principais bactérias encontradas no intestino que tem função benéfica para o homem. O principal objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento do probiótico Bifidobactéria com e sem adição do prebiótico inulina no queijo minas padrão. Foram elaborados dois tratamentos: 1 (acrescido de Bifidobactéria e 4% de inulina), 2 (acrescido somente de Bifidobactéria). As amostras foram submetidas à contagem de Bifidobactérias no tempo 0, 15 e 30, onde observou-se que a amostra contendo inulina proporcionou maior limitação para o crescimento dos microorganismos do que o queijo que não continha inulina em sua formulação.

**Palavra-chave:** Queijo minas padrão, simbiótico, probiótico, bifidobactéria, inulina.

---

1 Graduada do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos – Ênfase em Laticínios, UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira e Especialistas em Controle de Qualidade, UNIOESTE Campus Cascavel. Linha Dona Oliva S/N, Esquina Céu Azul, Santa Helena, Paraná - CEP 85892-000, CP 150.

E-mail: cassipasuch@ibest.com.br

2 Graduada do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos – Ênfase em Laticínios UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira

## **Abstract**

The functional foods are being spread out in large scales into the consumer market, bringing a new form of conception. The inuline is a fiber considered a prebiotic that assists in the development of beneficial microorganisms in the intestine (probiotics). The Bifidobacteria is one of the main bacteria found in the intestine that has beneficial function for man. The main objective of this work was to evaluate the development of the probiotic Bifidobacteria with end without addition of inuline prebiotic in the standard “Minas” cheese. Two treatments had been elaborated: 1 (with addition of Bifidobacteria and 4% of inuline), 2 ( only Bifidobacteria was added). The samples had been submitted of Bifidobacteria counting in time 0,15 and 30, and it demonstrated that the sample that contains inuline provides a greater limitation for microorganism’s growth than the cheese that did not contain inuline in its formula.

Key-words: Standard Minas cheese, simbiotic, probiotic, bifidobacteria, inuline.

## **1 Introdução**

Nas últimas décadas pesquisas têm demonstrado que certos alimentos possuem função metabólica e regulatória na fisiologia do organismo humano, através do qual fornecem benefícios além da nutrição básica e podem prevenir doenças ou promover saúde (FERREIRA, 2001).

Atualmente, muito tem se falado dos avanços da ciência e das mudanças no estilo de vida da população, que cada vez mais reconhece a relação entre a nutrição e a saúde, e a necessidade de se praticar atividades físicas. Outra questão, é o rápido acesso às informações e o aumento dos custos para cuidar de doenças, o que faz com que as organizações internacionais se esforcem para minimizar a subnutrição. Assim, as indústrias de alimentos necessitam se adequar a estas novas tendências (GALVÃO, 2002).

A população brasileira geralmente não dispõe de tempo e produtos alimentícios necessários para manter um controle nutricional adequado. Hábitos alimentícios inadequados são prejudiciais à saúde. Isso faz com que essa população tenha carência em nutrientes vitais, como proteínas, vitaminas e sais minerais (ALBUQUERQUE, 2002).

Alimentos que satisfazem grande parte da necessidade nutricional do ser humano são os alimentos lácteos, como leite fluido, o iogurte e o queijo. O queijo é um alimento de excelente valor nutricional por possuir alta concentração de proteínas, fonte rica em cálcio e vitaminas, tornando-o importante na alimentação humana em todas as faixas etárias, principalmente durante o crescimento (ALBUQUERQUE, 2002).

O queijo, além de seu valor nutricional, também possui potencial culinário, uma vez que pode ser consumido na forma natural ou no preparo de pratos salgados e doces (ALBUQUERQUE, 2002).

Segundo Ming (2001), a indústria de laticínios foi a que mais lançou novos produtos quando comparada com outros setores da indústria de alimentos a nível mundial. E todos esses novos lançamentos levam a produtos com valor agregado e que atendem a necessidades específicas.

O consumo *per capita* de queijo no Brasil é de 2,67 kg/pessoa/ano, consumo médio inferior a de países industrializados. Esse dado mostra que o mercado consumidor de queijo é um setor potencial que merece ser explorado, com abertura para inovação e diversificação (CONSUMO ..., 2004).

Podem apresentar-se de diversas formas, desde um simples aperitivo a um componente essencial de deliciosos sanduíches, ou ainda, na forma de cremosas coberturas e deliciosos recheios, muitas vezes como prato principal, ou como um simples acompanhamento. O uso variado de queijos em suas diversas formas cria uma demanda cada vez maior para queijos com sabor e que sirvam para múltiplos usos na culinária (RENDA-SE..., 2000).

A cada dia, diversos tipos de queijos têm aparecido no mercado em diferentes apresentações, passando a ocupar um espaço cada vez maior na dieta dos consumidores e nas prateleiras dos supermercados (RENDA-SE..., 2000).

Na prática, freqüentemente são utilizadas misturas de prebióticos e probióticos devido ao efeito sinérgico entre os mesmo. Por esse razão, essa mistura é chamada de simbiótico (GRAJEK *et al* 2005). Dessa forma, um produto que contém oligofrutose e bifidobactéria probiótica poderia ser incluído nessa definição (SCHREZENMEIR & VRESE 2001).

O conceito de simbiótico alia o fornecimento de microrganismos probióticos juntamente com substâncias prebióticas específicas que estimulam o desenvolvimento e atividade, potencializando o efeito de ambos os produtos (MENTEN, 2001).

## **2 Material E Métodos**

### **2.1 Material**

#### **2.1.1 Leite**

Utilizou-se leite integral tipo C , adquirido no comércio local.

#### **2.1.2 Cloreto de Cálcio**

Utilizou-se cloreto de cálcio da marca Vetec Química Fina Ltda. com concentração de 50%.

#### **2.1.3 Culturas Lácteas**

Os fermentos aplicados foram culturas mesofílicas tipo “O” (*Lactococcus lactis subsp lactis* e *Lactococcus lactis subsp cremoris*) da Rhodia.

#### **2.1.4 Inulina**

A inulina (Raftilini®) foi gentilmente cedida pela empresa Orafti. Foi utilizado segundo recomendação do fabricante, que para queijos é de 4% de inulina.

### **2.1.5 Coalho**

Utilizou-se coalho Há-la líquido da CHR Hansen.

### **2.1.6 Sal**

Utilizou-se o sal da marca Zaeli.

### **2.1.7 Bifidobactéria**

Aplicou-se a Bifidobactéria BB-02 450 B *Standard Sample* da Rhodia.

### **2.1.8 Reagentes**

Utilizou-se Ácido sulfúrico  $d_{20} = 1.825$  g/L, Álcool Amílico R  $d_{20} = 811$  g/L, Hidróxido de sódio 0,1 mol/L S.V. e Fenofaleína 1% (m/v) alcoólica neutralizada S.I. adquiridos no Laboratório de Laticínios da UTFPR unidade de Medianeira.

## **2.2 Métodos**

### **2.2.1 Delineamento experimental**

O estudo consistiu na elaboração de dois tratamentos de queijo minas padrão. O primeiro T1 constava na elaboração de queijo minas padrão adicionado de bifidobactéria e 4% de inulina (segundo indicação do fabricante). O segundo tratamento, T2 constava de queijo minas padrão adicionado somente de bifidobactéria.

O leite dos dois tratamentos, foi caracterizado quanto as variáveis físico-químicas: (pH, acidez, gordura, densidade, extrato seco total (EST), extrato seco desengordurado (ESD)). O queijo foi submetido as análises de umidade e microbiológicas (análise de qualidade e contagem de bifidobactérias) e atributos sensoriais.

### **2.2.2 Elaboração do Queijo Minas Padrão Simbiótico**

Para a elaboração do Queijo Minas Padrão Simbiótico foram utilizados 15 litros de leite.

O leite foi adicionado ao tanque de coagulação e aquecido até 35°C.

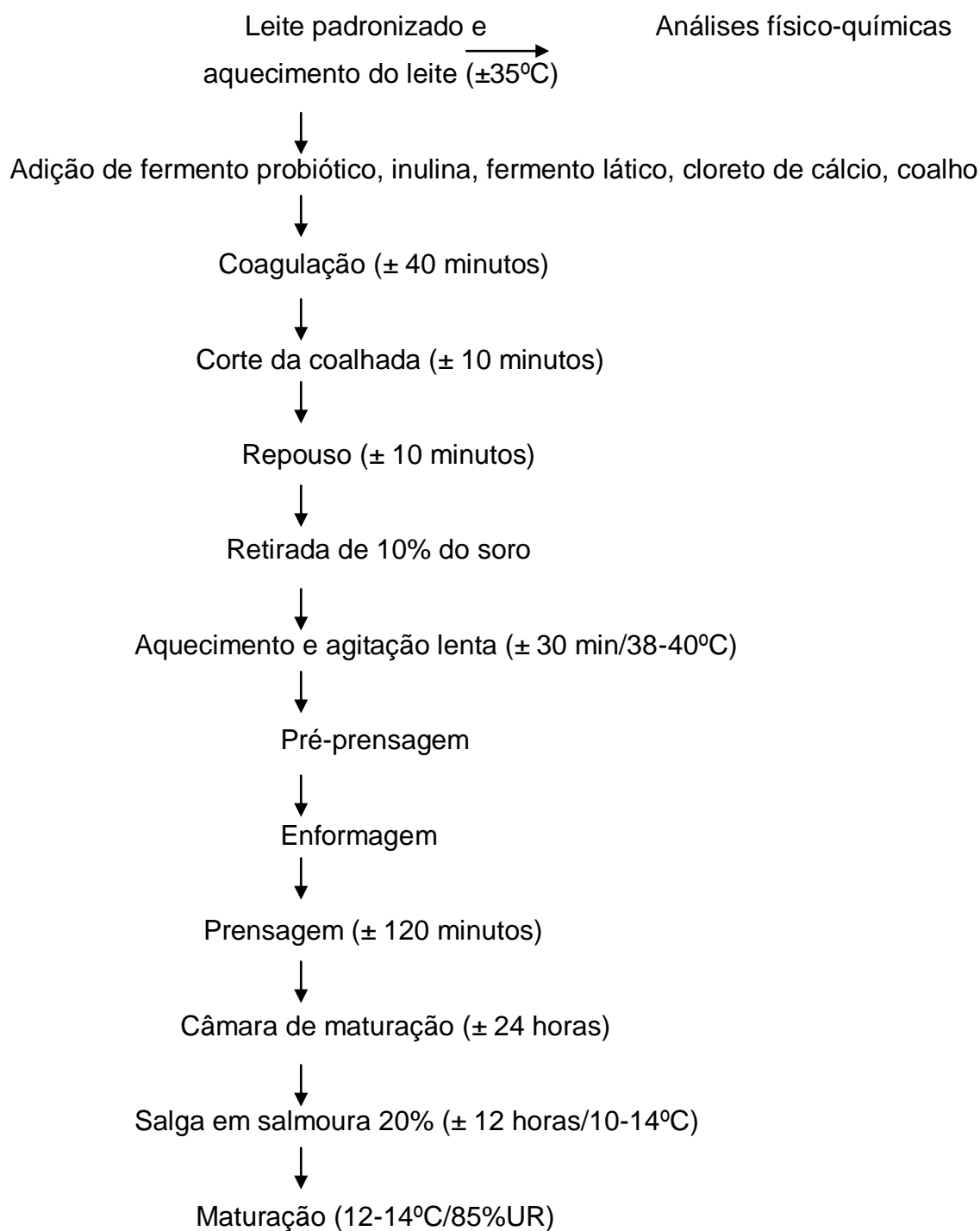
A cultura probiótica (Bifidobactéria) e a inulina foram adicionadas ao leite juntamente com o fermento láctico, adicionou-se também cloreto de cálcio e por fim o coalho; deixou-se em repouso por aproximadamente 40 minutos. O término da coagulação foi verificado com a determinação do corte. O corte da coalhada foi realizado, com o auxílio de liras, lentamente por 10 minutos para obter-se cubos grandes, deixou-se em repouso e retirou-se 10% do soro, agitou-se lentamente por 30 minutos com vapor na camisa do tanque de 38-40°C.

A pré-prensagem foi realizada no tanque de fabricação e a enformagem em formas próprias com dessoradores.

A primeira prensagem se estendeu por uma hora em prensa pneumática. Em seguida, viraram-se os queijos na forma e na própria prensa por mais uma hora. Após as horas de prensa retiraram-se os dessoradores para secagem na câmara de maturação.

A salga foi realizada após 24 horas em salmoura 20%, e temperatura de 10 a 14°C, por 12 horas.

A maturação seguiu-se após a retirada da salga em câmara com temperatura de 12 a 14° C e 85% UR onde se efetuavam viragens a cada dois dias.



↓  
Análises microbiológicas de qualidade (no tempo 0),  
Contagem de Probióticos (tempo 0, 15, 30... dias)  
Análises físico-químicas (tempo 0 e 45 dias).

### **FIGURA 1– Fluxograma do processo de fabricação do tratamento 1.**

#### **2.2.3 Elaboração do Queijo Minas Padrão Probiótico**

Para a elaboração do Queijo Minas Padrão Probiótico foram utilizados 15 litros de leite.

O leite foi adicionado ao tanque de coagulação e aquecido até 35°C.

A cultura probiótica (Bifidobactéria) foi adicionada ao leite juntamente com o fermento láctico, cloreto de cálcio e por fim o coalho, deixando-se em repouso por aproximadamente 40 minutos. O término da coagulação foi verificado com a determinação do corte. O corte da coalhada foi realizado, com o auxílio de liras, lentamente por 10 minutos para obtenção de cubos grandes, deixando-se em repouso, retirando-se 10% do soro e em seguida agitou-se lentamente por 30 minutos com vapor na camisa do tanque de 38-40°C.

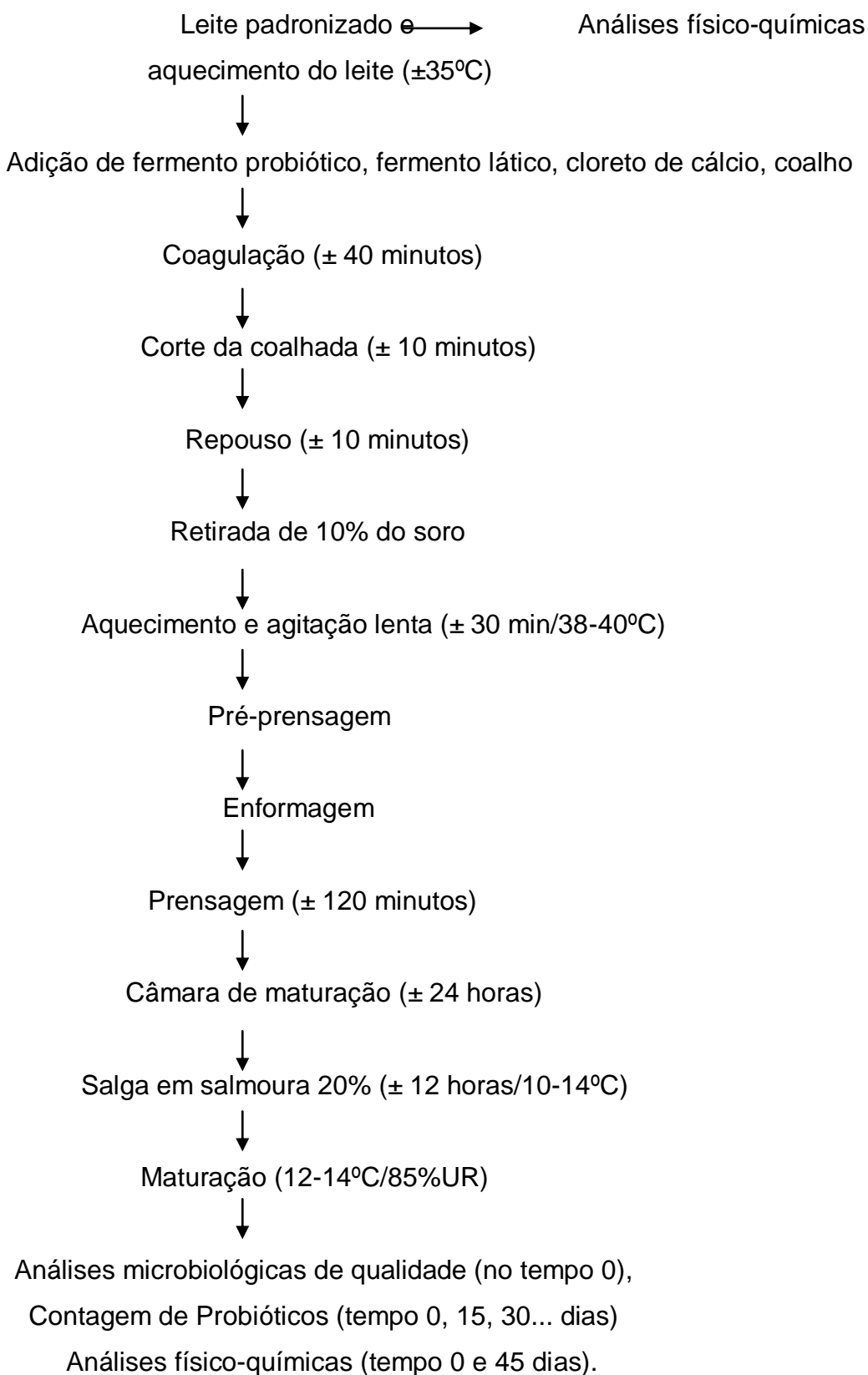
A pré-prensagem foi realizada no tanque de fabricação e a enformagem em formas próprias com dessoradores.

A primeira prensagem se estendeu por uma hora em prensa pneumática. Em seguida, viraram-se os queijos na forma e na própria prensa por mais uma hora. Após este procedimento retiraram-se os dessoradores para secagem na câmara de maturação.

A salga foi realizada após 24 horas em salmoura 20%, e temperatura de 10 a 14°C, por 12 horas.

A maturação seguiu-se após a retirada da salga em câmara com temperatura de 12 a 14° C e 85% UR onde se efetuavam viragens a cada dois dias.





**FIGURA 2– Fluxograma do processo de fabricação do tratamento 2.**

### 2.2.4 Análise microbiológica da qualidade

Com o intuito de verificar a qualidade do produto elaborado, foram realizadas as análises pelo método do número mais provável (NMP) de coliformes a 45°C no laboratório de análises microbiológicas e físico-químicas de alimentos e água (LAMAG), da UTFPR *Campus Medianeira*.

### 2.2.5 Análise microbiológica de probióticos

Para contagem de bifidobactérias adotou-se a metodologia descrita por Roy *et al.*, (1997) para a contagem de células probióticas, utilizando Ágar MRS (Difco laboratories, Detroit, MI) contendo 0,10% de L-cisteína HCL (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) a fim de propiciar o crescimento das Bifidobactérias.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas em triplicatas.

## 3 Resultados E Discussão

### 3.2 Análise Microbiológicas Da Qualidade Do Produto

A Tabela 1 traz os resultados obtidos para a análise microbiológica das duas formulações do queijo minas padrão.

**Tabela 1** – Resultados microbiológicos do produto

Análise	Tratamento 1	Tratamento 2	Padrão

Contagem de coliformes à 45°C NMP/100g	NMP/g = 2,0 x 10	NMP/g < 3,0	NMP/g = 2,0 x 10 <sup>2</sup>
--	------------------	-------------	-------------------------------

Conforme os resultados das análises microbiológicas o produto está de acordo com os padrões legais vigentes, sendo adequado para o consumo humano.

### 3.3 Contagem De Bactérias Lácticas

A tabela que segue demonstra os resultados encontrados para as contagens de Bifidobactérias nos queijos do tratamento 1 e 2.

**Tabela 2** - Análise de Contagem de Bifidobactérias (log UFC/g)

	0 dias	15 dias	30 dias
Tratamento 1	9,17 ± 1,28 log UFC/g	7,9 ± 0,57 log UFC/g	< 7 log UFC/g
Tratamento 2	10,62 ± 0 log UFC/g	9,46 ± 0,08 log UFC/g	< 7 log UFC/g

Observando-se o comportamento da cultura probiótica *Bifidobacterium*, constatou-se que, durante o armazenamento, até os 15 dias, as contagens foram superiores a 6 log UFC/g, concentração mínima requerida para efeito probiótico segundo Hoier *et al.*, (1999). Aos 30 dias a contagem apresentou-se inferior a 7 log UFC/g, sendo assim analisou-se o decréscimo do desenvolvimento dos microorganismos e considerou-se desnecessária a realização da contagem no tempo 45 dias, pois a presença de bifidobactérias seria muito baixa ou até mesmo inexistente indicando que os microorganismos não seriam viáveis, ativos e abundantes ao longo da vida de prateleira específica do produto que é de 90 dias.

Realizou-se ainda a análise de Coloração de Gram para a confirmação do probiótico *Bifidobacterium* no produto a qual apresentou resultados positivos.

Comparando-se os Tratamentos 1 (com inulina) e 2 (sem inulina), percebeu-se que o Tratamento 2 favoreceu o desenvolvimento da *Bifidobacterium*, sendo assim a presença de inulina pode ter prejudicado o desenvolvimento da bactéria, sendo que a umidade do Tratamento 1 apresentou-se menor .

#### 4 Conclusão

Os resultados obtidos mostraram a não viabilidade da utilização de inulina como precursor de probiótico para a produção de queijo minas padrão.

O controle de qualidade realizado através das análises microbiológicas evidenciou que o produto desenvolvido obedecia aos padrões exigidos pela legislação vigente, porém há necessidade de se desenvolver mais estudos a fim de se aumentar a viabilidade de células probióticas no produto final destes tratamentos.

#### 5 Referências Bibliográficas

ALBUQUERQUE, L. C., de. **Os queijos no mundo**. V.2. Juiz de Fora, 2002, 130 pg.

**CONSUMO DO QUEIJO.** Disponível em:

<http://www.cnplgl.embrapa.br/producao/07consumo/tabela07.05.php/>. Acesso em: 08 nov. 2004.

a) FERREIRA, C.L.L.F. **Tecnologia para produtos Lácteos Funcionais: Probióticos**. O agronegócio do leite e os alimentos lácteos funcionais, Juiz de Fora, P 181 – 203, 2001.

b) FERREIRA, F. A. G. **Nutrição Humana**. Lisboa: Função Calouste Gulbenkian, 2001.



GALVÃO, L. P.; SILVA, N. P. Ingredientes Funcionais e o desenvolvimento de Novos Produtos. **Alimentos funcionais e biotecnologia**. São Paulo, 2002.

GRAJEK W, OLEJNIK A, SIP A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. **Acta Biochimica Polonica** 2005; 1112: 1-7.

HOIER, E.; JANZEN, T.; HENRIKSEN, C.M.; RATTRAY, F.; BROCKMANN, E.; JOHANSEN, E. The production, application and action of lactic cheese starter cultures. In: LAW, B.A. (ed.) **Technology of cheesemaking**. Boca Raton: CRC, 1999. p. 99-131.

MENTEN, J. F. M., **Aditivos Alternativos na Nutrição de Aves: probióticos e prebióticos**. In REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, Piracicaba – SP, 2001.

MING; P. **Uso de soro de leite em produtos alimentícios**. Alimentos funcionais e biotecnologia. São Paulo, 2001.

RENDA-SE ao poder de sedução dos queijos norte-americanos. **Leite e Derivados**. Ano IX, n.53, 32p, Jul/ago 2000.

ROY, D.; MAINVILLE, I.; MONDOU, F. “**Selective Enumeration and Survival of Bifidobacteria in Fresh Cheese**” in Int. DAIRY JOURNAL V.7, P.785-793, 1997.

SCHREZENMEIR J., VRESE M. **Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition**. Am J Clin Nutr; 73 (2):361S-364S. 2001.