

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

JÉSSICA DE MEDEIROS DAMACENO

**POTENCIAL SIMBIÓTICO DE QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE DIET*
ADICIONADO DE EXTRATO DE CASTANHA DO BRASIL,
Bifidobacterium bifidum e *Lactobacillus paracasei***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA
2018

JÉSSICA DE MEDEIROS DAMACENO

**POTENCIAL SIMBIÓTICO DE QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE DIET*
ADICIONADO DE EXTRATO DE CASTANHA DO BRASIL,
Bifidobacterium bifidum e *Lactobacillus paracasei***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para conclusão do curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira.

Orientadora: Profa. Dra. Celeide Pereira

Co-orientadora: Profa. Dra. Aziza Kamal Genena

MEDIANEIRA
2018



Ministério da Educação

Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Câmpus Medianeira

TERMO DE APROVAÇÃO

POTENCIAL SIMBIÓTICO DE QUEIJO TIPO *PETIT SUISSE DIET* ADICIONADO DE EXTRATO DE CASTANHA DO BRASIL, *Bifibumbacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei*

Jéssica de Medeiros Damaceno

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado às 17 horas do dia **14 de junho de 2018** como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira de Alimentos no Curso Superior de Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira.

Professor (a): Celeide Pereira
UTFPR- Medianeira
(Orientadora)

Professor (a): Aziza Kamal Genena
UTFPR- Medianeira
(Co-orientadora)

Professor (a): Valdemar Padilha Feltrin
UTFPR- Medianeira
(Convidado)

Professor (a): Carla A. P. Schmidt
UTFPR- Medianeira
(Convidada)

Dedico este trabalho a meus pais, Sônia e Aristides, aos meus irmãos e a minha pequena Júlia, que sempre estiveram ao meu lado, se dedicaram e fizeram parte de todo meu caminho até aqui. Meus sinceros obrigada, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Este momento da vida não seria possível sem a força, sabedoria e calma que Deus me proporcionou neste período.

Agradeço à minha mãe e ao meu pai, por acreditarem e apostarem em minha formação. Aos meus irmãos que mesmo distantes fisicamente me deram toda força e apoio que precisei. Contudo a toda minha família que sempre demonstraram muito orgulho e acreditaram em mim.

À Profa. Dra. Celeide Pereira, do Departamento Acadêmico de Engenharia de Alimentos, pela orientação para a realização e conclusão deste trabalho.

À Profa. Profa. Dra. Aziza Kamal Genena do Departamento Acadêmico de Engenharia de Alimentos, pela co-orientação para a realização e conclusão deste trabalho.

A todos os professores e técnicos dos Cursos de Tecnologia em Alimentos e Engenharia de Alimentos, agradeço pelos ensinamentos ofertados no decorrer do curso de graduação.

Aos queridos colegas e amigos do Curso de Engenharia de Alimentos, obrigada pela amizade, apoio e carinho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Muito obrigada!

JÉSSICA DE MEDEIROS DAMACENO

RESUMO

DAMACENO, J.M. Potencial simbiótico de queijo tipo *Petit Suisse Diet* e adicionado de extrato de castanha do Brasil, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei*. Trabalho de Conclusão. Curso Engenharia de Alimentos - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

Os alimentos funcionais têm atraído cada vez mais o público consumidor, devido aos benefícios que eles trazem a saúde, como por exemplo, a castanha do Brasil e os produtos lácteos, que estão a cada dia aparecendo mais nos supermercados. Para melhorar o potencial funcional de um produto, estudos com o uso associado de probiótico e prebiótico, que resultam assim no potencial simbiótico, têm sido realizados. A castanha do Brasil fruto nativo da região amazônica, é uma semente oleaginosa, seu conteúdo em lipídios apresenta boa qualidade, com altos índices de ácidos graxos insaturados, os quais auxiliam nos processos oxidativos, apresentando vitaminas do complexo B e possuem atividade antioxidante devido ao alto percentual de selênio. O queijo *petit suisse* é um queijo de altíssima umidade, de leve consistência, lisa, cremosa e pode assumir sabor doce ou salgado. O objetivo deste trabalho foi elaborar um queijo *petit suisse diet* adicionado de extrato de castanha do Brasil. Foram efetuadas quatro formulações de queijo *petit suisse diet*, adicionadas de 10, 15 e 20% de extrato de castanha do Brasil e formulação padrão sem adição de extrato de Castanha do Brasil, 1,5% de bactérias probióticas *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei* e 0,65% de edulcorante. Foram efetuadas análises físico químicas do extrato de castanha do Brasil, análises das bactérias probióticas nos tempos 0, 15 e 30 dias, e determinação da colorimetria. As 4 formulações de queijo atenderam às exigências da legislação vigente para as contagens microbiológicas. Ainda, foi observado que os produtos atenderam a legislação de produtos com adição de bactérias probióticas, tendo o crescimento durante os 30 dias de armazenamento. Já a cor e a viscosidade dos produtos não tiveram diferença significativa durante o armazenamento apesar das diferentes concentrações de extrato adicionado no produto. Conclui-se que o queijo *petit suisse diet* é um alimento considerado simbiótico e inovador dentre os derivados lácteos.

Palavra-chave: Probióticos e Prebióticos; Oleaginosas; Funcionais; Lácteos.

ABSTRACT

DAMACENO, J.M. Symbiotic Potential of Petit Suisse diet type cheese with Brazil nut extract, *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus paracasei*. Conclusion Work. Food Engineering Course - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

Functional foods have attracting consumers, because its health benefits for those who eat them, as an example of that is the Brazil nut and the dairy products, which are increasingly showing up on the supermarket shelves. To improve the functional potential of a product, studies have been using probiotic and prebiotic together, thus it adds the symbiotic potential. The Brazil nut is a native fruit of the Amazon region, it is an oleaginous seed, and its content of lipids presents good quality, with high levels of unsaturated fatty acids, which aid in the oxidative processes, it presents B vitamins and has antioxidant activity due to its high selenium percentage. Petit-suisse cheese is a cheese of very high humidity, light in consistency, smooth, creamy and can taste sweet or salty. The objective of this work was to elaborate a petit-suisse cheese with Brazil nut extract. Three formulations of petit-suisse cheese were added, with 10, 15 and 20 % of Brazilian nut extract and one standard formulation of the cheese was made without the addition of the Brazil nut extract, it was also added 1.5% probiotic bacteria *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus paracasei* and 0.65% dye sweetener in all four formulations. Physicochemical analyzes of the Brazil nut extract, analyzing the probiotic bacteria during the period of 0, 15 and 30 days, and determination of colorimetry were performed. The four cheese formulations met the current legislation for microbiological counts requirements. It was also observed that the products met the legislation for products with addition of probiotic bacteria, growing during 30 days of storage. The color and viscosity of the products had no significant difference during storage or due to the different concentrations of added extract. It is concluded that petit suisse diet cheese is a food considered symbiotic and innovative among dairy products.

Keywords: Probiotics and Prebiotics; Oilseeds; Functional; Dairy products.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Processo de obtenção do queijo *Petit Suisse Diet*30

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Ingredientes e Formulações de Queijo <i>Petit Suisse Diet</i>	31
TABELA 2 - Análises Físico-Químicas da Castanha do Brasil <i>in natura</i>	36
TABELA 3 - Análises Físico-Químicas do Extrato de Castanha do Brasil.....	37
TABELA 4 - Análises Microbiológicas das amostras Queijo <i>Petit Suisse Diet</i> ..	38
TABELA 5 – Contagens das bactérias probióticas nas formulações de Queijo <i>Petit Suisse Diet</i>	39
TABELA 6 - Análises de cor dos queijos <i>Petit Suisse Diet</i>	42
TABELA 7- Análises de viscosidade dos queijos <i>Petit Suisse Diet</i>	43

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	15
3.2 CASTANHA-DO-BRASIL	15
3.2.1 Informação nutricional da castanha do Brasil	17
3.3 QUEIJO PETIT SUISSE	18
3.5 PROBIÓTICOS	19
3.5.1 Gênero <i>Lactobacillus</i>	20
3.5.2 Gênero <i>Bifidobacterium</i>	21
3.6 PREBIÓTICOS	24
3.7 ALIMENTOS SIMBIÓTICOS	25
3.8 EDULCORANTE	26
4. MATERIAS E MÉTODOS	29
4.1 MATERIAIS	29
4.2 MÉTODOS	29
4.2.1 Obtenção Do Extrato De Castanha Do Brasil	29
4.2.2 Obtenção Do Queijo <i>Petit Suisse Diet</i>	30
4.2.3 Análises Físico-Químicas da Matéria-Prima	31

4.2.4	Análise Físico-Química do Extrato de Castanha do Brasil	32
4.5	ANÁLISES DO QUEIJO <i>PETIT SUISSE DIET</i>	32
4.5.1	Preparo das amostras.....	32
4.5.2	Análises Microbiológicas do Queijo <i>Petit Suisse Diet</i>	33
4.5.3	Análises de Bactérias Probióticas.....	33
4.6	ANÁLISES REOLÓGICAS.....	34
4.6.1	Análise de Viscosidade.....	34
4.7	ANÁLISE INSTRUMENTAL.....	34
4.7.1	Análise de Colorimetria.....	34
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Análises da composição centesimal da Castanha do Brasil	36
5.2.1	Análises da Composição Centesimal do Extrato da Castanha do Brasil	37
5.3	Análise Microbiológicas	37
5.4	Análise das Bactérias Probióticas.....	39
5.5	Análise de Cor.....	41
5.6	Análise de Viscosidade.....	42
6.	CONCLUSÃO	44
	REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

Os consumidores veem aparecer nas prateleiras dos supermercados novos produtos alimentares, com o compromisso de contribuir na busca por uma vida mais saudável. Os alimentos funcionais são uma tendência do intenso mercado alimentício (HEASMAN; MELLENTIN, 2001). Iogurtes, margarinas, leites fermentados, cereais, etc. prometem ajudar na cura ou na prevenção de doenças como as cardiovasculares, certos tipos de câncer, alergias, problemas intestinais etc. Podemos considerar alimentos funcionais aqueles que fornecem a nutrição básica e promovem a saúde do consumidor. Esses alimentos possuem potencial de estimular a saúde por meio de mecanismos não previstos pela nutrição convencional, devendo ser frisado que esse efeito se restringe à melhora da saúde e não à cura de doenças (REIG; ANESTO, 2002).

Os complementos de elementos com atividade reconhecidamente benéfica à saúde, como cálcio e vitaminas, constituíam os alimentos funcionais de primeira geração. Esse conceito voltou-se principalmente para aditivos alimentares, que podem exercer efeito benéfico sobre a composição da microbiota intestinal, sendo que os prebióticos e os probióticos são os aditivos alimentares que compõem alimentos funcionais (ZIEMER; GIBSON, 1998).

Os probióticos são microrganismos vivos que podem ser adicionados como suplementos na dieta, afetando de forma benéfica o desenvolvimento da microbiana no intestino. São também conhecidos como bioterapêuticos, bioprotetores e bioprofiláticos e são utilizados para prevenir as infecções entéricas e gastrointestinais (REIG; ANESTO, 2002). A definição internacional atualmente aceita é de que os probióticos são microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SAAD, 2006).

Já os prebióticos são oligossacarídeos não digeríveis, porém fermentáveis cuja função é mudar a atividade e a composição da microbiota intestinal com a perspectiva de promover a saúde do hospedeiro. Os prebióticos estimulam o crescimento dos grupos endógenos de população microbiana, tais como as Bifidobactérias e os Lactobacilos, que são ditos como benéficos para a saúde humana (BLAUT, 2002). O grupo de prebióticos mais eficiente irá reduzir a atividade de organismos potencialmente patogênicos (ROBERFROID, 2002). Para que um prebiótico possa ser definido como tal, deve cumprir alguns requisitos como: ser de origem vegetal; formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas; não ser digerida por enzimas digestivas; ser parcialmente fermentada por uma colônia de bactérias e ser osmoticamente ativa (RODRÍGUEZ et al., 2003).

A castanha do Brasil pertencente à família *Lecithydaceae*, fruto nativo da região amazônica, é uma semente oleaginosa, seu conteúdo em lipídios apresenta boa qualidade, com altos índices de ácidos graxos insaturados, os quais auxiliam nos processos oxidativos de frações de gorduras prejudiciais ao organismo, como as frações de LDL colesterol (GLÓRIA; REGITANO-d'ÁRCE, 2000; ENRÍQUEZ; SILVA; CABRAL, 2003; SOUZA; MENEZES, 2004).

A castanha apresenta componentes das vitaminas do complexo B1, B2 e B3, encontrando também pró-vitaminas A e vitamina E, minerais como o cálcio, magnésio, ferro, potássio, sódio, entre outros. Contudo o que mais se destaca é o selênio, mineral que vem sendo estudado devido suas qualidades em auxiliar processos antioxidantes, fazendo parte da enzima antioxidante (Glutathione Peroxidase), que auxilia no interior celular, convertendo compostos tóxicos em atóxicos (peróxido de hidrogênio) resultando na redução da produção em cadeia de radicais livres (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2002; DUTRA-DE-OLIVEIRA; MARCHINI, SÉRGIO, 2003; KANNAMKUMARATH; WROBEL; WUILLOUD, 2004; TEODORO, 2006).

O consumo de alimentos de baixa caloria e de adoçantes tem aumentado nos últimos anos, com isso a indústria de laticínios na tentativa de atender a este público, vem introduzindo no mercado derivados lácteos de baixa caloria, os denominados “*light*”, que tem como substitutos da sacarose e outros tipos de edulcorantes (REIS et al, 2009).

Para isso há vários tipos de edulcorantes liberados para o consumo, sendo os sais de sacarina e ciclamato, aspartame, sucralose, acessulfame-K e o extrato de folhas de estévia são permitidos pela legislação brasileira para utilização em alimentos e bebidas dietéticas com suas quantidades de ingestão diária aceitável definida (BRASIL, 1995).

O queijo *petit suisse* é um queijo elaborado com leite desnatado, tratando-se de um queijo com altíssima umidade, de leve consistência, lisa, cremosa e pode assumir sabor doce ou salgado, dependendo dos ingredientes adicionados (SANDRAZ, 1989). No Brasil, esse queijo é fabricado industrialmente por centrifugação da coalha, para a separação do soro, obtendo-se queijo “*quark*”, que é utilizado como base para o queijo *petit suisse*, sendo que a este queijo é adicionado polpa de fruta, açúcar e creme (VEIGA et al., 2000). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar o potencial simbiótico e a vida de prateleira de um queijo *petit suisse diet*, adicionado de extrato de castanha do Brasil, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver formulações de queijo *petit suisse diet*”, adicionado de extrato de castanha do Brasil, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver formulações do queijo *petit suisse diet* adicionado de castanha do Brasil e sem castanha do Brasil;
- Preparar o extrato de castanha do Brasil;
- Realizar análise da composição centesimal da castanha do Brasil;
- Realizar análise da composição centesimal do extrato de castanha do Brasil;
- Realizar a análise da composição centesimal do queijo *petit suisse diet*;
- Realizar a análise Microbiológicas do queijo *petit suisse diet*;
- Realizar a análise Microbiológicas das bactérias probióticas no queijo *petit suisse diet*;
- Realizar a análise reológicas de cor e viscosidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais são aqueles que fornecem nutrição básica e promovem a saúde do consumidor, sendo que esses alimentos possuem potencialidade para promover a saúde por meio de mecanismo não previstos pela nutrição convencional, este efeito se diz a prevenção e não a cura de enfermidades (SANDERS, 1998).

Nos mercados tem sido introduzido um grande número de alimentos funcionais, e muitos deles têm um ou mais ingredientes com potencial funcional, como a fibra alimentar, os oligossacarídeos, os peptídeos, as proteínas, os prebióticos, probióticos, simbióticos, fitoquímicos, antioxidantes e os ácidos graxos poli-insaturados (KWAK; JUKES, 2001).

3.2 CASTANHA DO BRASIL

A castanha do Brasil é obtida da castanheira, uma árvore natural da região Amazônica, apresentando divisão botânica, a partir da seguinte classificação: é uma *Angiosperma*, da classe *Dicotiledonea*, da ordem *Myrtiflorae*, pertencente à família das *Lecthidaceae*, gênero *Bertholletia*, espécie *exce/sea*. O período que a castanheira floresce é de agosto a outubro, sendo que seu fruto é um ouriço, de configuração esférica ou capsular, com média de 20 cm de diâmetro, contendo no seu interior em torno de 12 a 24 castanhas ou sementes, ao qual resulta as amêndoas. O fruto apresenta uma superfície espessa de coloração castanho-escura, com uma variação de 200

gramas e 1,5 kg, com média de 750 g. Sua colheita é realizada nos meses de novembro a março, sendo uma prática que ocorre a décadas. (ENRIQUEZ; SILVA; CABRAL, 2003; YANG, 2009).

O Brasil é um dos países que mais se cultiva a castanha, com uma colheita média de 35 mil toneladas e uma área plantada em torno de 325 milhões de hectares na Amazônia, a Bolívia se mostra líder de mercado nesse segmento, com 3 % a mais de área plantada (IBGE, 2010). Em 18 de Setembro de 1961 foi publicado um decreto que o nome popularmente conhecido como castanha-do-pará, passou a ser nomeada de castanha do Brasil, para fins de comércio exterior (BRASIL, 1961). A castanha do Brasil é um dos frutos que mais se destaca na exportação, onde representa 25 % do valor do agronegócio brasileiro, podendo colher até 30 milhões de toneladas por ano, e sua maior colheita segue nas regiões Sudeste e Nordeste, dados do (IBGE, 2010). Mesmo a castanha sendo um elemento de grande exportação, a maior parte da produção é consumida e comercializada no Brasil. A exportação da castanha é destinada principalmente para indústrias de alimentos, sendo na forma *in natura* ou de subprodutos, sendo comercializada com ou sem casca (ENRIQUEZ; SILVA; CABRAL, 2003).

Devido aos fatores nutricionais e funcionais da castanha ela tem despertado a curiosidade de pesquisadores para pesquisas e possíveis aplicações em alimentos industrializados. Este fruto apresenta macro e micronutrientes e junto com seus fatores funcionais, possibilita a utilização dos seus compostos bioativos como o selênio, e sua capacidade antioxidante devido aos ácidos graxos essenciais, são utilizados em fármacos e assim auxiliando na medicina preventiva, e também na indústria de cosméticos e dermocosméticos, assim aliando-se as afirmações sobre os apelos nutricionais e funcionais dados pelas indústrias de alimentos. Entre todo embasamento mostrado, isso revela a grande importância da castanha do Brasil para o

desenvolvimento do país, tanto nos aspectos ambientais, econômico e sociais (SANTOS, 2008; YANG, 2009).

3.2.1 Informação nutricional da castanha do Brasil

A castanha do Brasil tem sido foco de muitas pesquisas, devido ao seu valor nutricional e econômico, e aos seus derivados assim agregando valor a esta oleaginosa, podemos citar o óleo, a farinha e o leite. Este fruto apresenta elevado conteúdo lipídico (60 - 70%) e proteico (15 - 20%) e alto teor de metionina (aminoácido essencial deficiente em muitas proteínas de origem vegetal, especialmente nas leguminosas) e possui reconhecido poder antioxidante (KORNSTEINER; WAGNER; ELMA, 2006; VENKATASHALAM; SATHE, 2006; SANTOS, et al., 2011). Já Fraga (2005) e Reilly (2006) ressaltam a alto teor de vitamina E, e seu percentual de α , β e γ – tocoferol está relacionado aos compostos fenólicos, que vêm sendo citados como constituintes funcionais, além de carotenoides, e a presença considerável em fitosteróis totais, elemento de estrutura semelhante ao colesterol que potencializa a função imune (PHILIPS; RUGGIO; ASHRAF-KHORASSANI, 2005). A atividade antioxidante se deve a alta proporção de selênio presente no fruto, e que tem relação a redução de alguns tipos de câncer, entre outras patologias. Devido a seus efeitos preventivos nos processos metabólicos degenerativos dos organismos (CHUNHIENG, 2004; SEIFRIED et al., 2007). A quantidade recomendada de selênio para homens e mulheres é em média de 75 e 55 μg por dia, respectivamente, e uma única amêndoa pode ter até 120 μg de selênio. (FAO, 2002; MOODLEY; KINDNESS; JONNALAGADDA, 2007; NETO et al., 2009; YANG, 2009).

3.3 QUEIJO PETIT SUISSE

O queijo *petit suisse* é obtido a partir do queijo quark, uma massa branca desnatada, macia e pastosa, e não maturada, com um leve sabor ácido, que além da produção do *petit suisse* pode ser utilizado para a fabricação de outros queijos, dependendo dos ingredientes que serão adicionados, como por exemplo, sal e condimentos, ou açúcar e base de frutas. (MORGADO; BRANDÃO, 1998). De acordo com o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo *petit suisse*, é um queijo de altíssima umidade, e deve ser consumido fresco (BRASIL, 2002).

O queijo *petit suisse* é conhecido e consumido como sobremesa, e direcionada principalmente ao público infantil e pode ser classificado em dois grupos, o *petit suisse* com adições, que é aquele que em sua elaboração tenha sido adicionado ingredientes opcionais não lácteos, e o *petit suisse* aromatizado/saborizado no caso em que os ingredientes sejam principalmente açúcares ou substâncias aromatizantes/saborizantes (ANVISA, 2001).

3.4 EMPREGO DE CULTURAS LÁTICAS

Por CARDARELLI *et al.*, (2006), as culturas lácticas são utilizadas na fabricação de queijo para repor parte das bactérias lácticas eliminadas durante o processo de pasteurização do leite. São denominadas culturas *starter* ou fermento láctico. A multiplicação dos fermentos resulta na conversão de lactose em ácido láctico, o que irá garantir um pH adequado para a coagulação por meio da renina do coalho. A adição das culturas *starter* influenciam o pH final da coalhada, o conteúdo de umidade do queijo e suas características sensoriais e

de textura (HOIER *et al.*, 1999). As culturas lácticas empregadas na produção de queijo constituem-se em culturas mesofílicas e termotolerantes, com temperaturas ótimas de multiplicação de cerca de 30°C e de 45°C, respectivamente. As culturas termofílicas são compostas, basicamente, de culturas isoladas de *Streptococcus thermophilus* ou associadas a diversas espécies de *Lactobacillus*. As culturas mesofílicas são classificadas em dois tipos: LD, caracterizada pela produção de aroma e CO₂ a partir do citrato, e O2, pela produção de ácido, não acompanhada da produção de gás (HOIER *et al.*, 1999).

3.5 PROBIÓTICOS

Os probióticos são considerados microrganismos vivos que visa trazer benefícios à saúde do consumidor quando administrados em doses adequadas (FAO; OMS, 2001; SANDERS, 2003). As espécies mais utilizadas para a obtenção de produtos probióticos com alegação de propriedades funcionais são os lactobacilos e bifidobactérias (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

No Brasil, a ANVISA considera como probióticos os microrganismos *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei* variedade *rhamnosus*, *Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*. O *Lactobacillus delbrueckii* (subespécie *bulgaricus*) e *Streptococcus salivarius* (subespécie *thermophilus*) foram retirados da lista tendo em vista que além de serem espécies necessárias para produção de iogurte, não possuem efeito probiótico cientificamente comprovado (BRASIL, 2008).

Segundo a Food Ingredients Brasil (2011), o *Lactobacillus* foi isolado pela primeira vez a partir das fezes de lactentes amamentados ao peito materno, recebendo o nome de *Bacillus acidophilus*. Esses microrganismos são caracterizados como gram-positivos incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, possuindo forma bacilar, e aerotolerantes ou anaeróbios, e o gênero compreende 56 espécies reconhecidas.

Já as bifidobactérias foram isoladas pela primeira vez no final do século XIX, sendo, caracterizadas por serem microrganismos gram-positivos, não formadores de esporos, desprovidos de flagelos, catalase negativos e aeróbicas. O gênero *Bifidobacterium* inclui 30 espécies (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

O consumidor em geral conhece os probióticos não pelas suas definições científicas, mas como parte de alimentos segundo a definição dada pela EU *Expert Group on Functional Foods in Europe* (FUFLOSE), que os descreve como sendo “preparações viáveis em alimentos ou suplementos dietéticos que melhoram a saúde de humanos e animais”. Preparações farmacêuticas que contem microrganismos vivos encapsulados e que são usados para a restauração da população gastrointestinal, após ou durante o tratamento antibiótico, também foram por muitos anos conhecidos como “bioterapêuticos” (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

3.5.1 Gênero *Lactobacillus*

O gênero *Lactobacillus* é composto por micro-organismos gram-positivos, não formadores de esporos, e que sobrevivem na presença de pequenas quantidades de oxigênio. Sua fonte fermentativa é proveniente do metabolismo fermentativo sendo o ácido láctico o produto final da degradação de carboidratos, motivo pelo qual sobrevive em ambientes ácidos

(concentrações entre 0,3 % e 1,9 %). O pH ótimo de crescimento está na faixa de 5,5 a 6,0 e temperatura ótima entre 35 e 40°C, mas crescem em temperaturas mais elevadas (até 45°C). As espécies, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri* e *L. rhamnosus* são os principais probióticos do gênero atualmente empregados em alimentos. Estes micro-organismos são tolerantes ao ácido e a bile presente no trato gastrintestinal e são capazes de aderir às células do epitélio intestinal (GOMES; MALCATA, 1999; GOKTEP *et al.*, 2006).

Lactobacilos pertencem ao grupo da BAL (Bactérias Ácido Lácticas), normalmente eles são encontrados em meios ricos em que estejam disponíveis fontes de carboidratos, como em mucosas de humanos e animais (cavidade oral, intestino e vagina), em plantas e materiais derivados destas, adubo, alimentos fermentados ou deteriorados. São micro-organismos amplamente presentes na dieta e são encontrados no trato gastrointestinal desde o nascimento (BERNARDEAU *et al.*, 2008).

A contribuição primária destes micro-organismos consiste na rápida formação de ácido láctico a partir das fontes de carbono disponíveis, resultando em acidificação, que é um parâmetro crítico na preservação dos alimentos. Além deste abaixamento do pH, durante a fermentação há o desenvolvimento de importantes características como *flavour*, textura e alterações nutricionais (KLEEREBEZEM, HUGENHOLTZ, 2003).

3.5.2 Gênero *Bifidobacterium*

As bifidobactérias são micro-organismos Gram-positivos, anaeróbios estritos, que habitam naturalmente o trato gastrintestinal dos humanos, não possuem motilidade, não formam esporos e apresentam-se em formas bifurcadas (forma de Y ou V), embora em condições desfavoráveis possam também apresentar outras formas (SOLANO-AGUILAR *et al.*, 2008). Tais micro-

organismos são descritos como sendo estritamente anaeróbios, embora algumas espécies consigam tolerar o oxigênio. São ácidos tolerantes e os valores de pH para a sua multiplicação variam entre 6,0 e 7,0. A temperatura ótima de multiplicação desses micro-organismos está na faixa entre 37 °C e 41°C, sendo as temperaturas mínimas e máximas compreendidas nas faixas entre 25 a 28 °C e 43 a 45 °C, respectivamente (SHAH, 2007; RIVERA-ESPINOZA; GALLARDO-NAVARRO, 2010). As bifidobactérias são micro-organismos sacarolíticos e possuem a capacidade de fermentar glicose, galactose e frutose, produzindo ácido acético e ácido lático, bem como ácido succínico e CO₂, em pequenas concentrações (LEAHY *et al.*, 2005; ANAL; SINGH, 2007; JALILI *et al.*, 2009).

Esses micro-organismos foram originalmente isolados e descritos no período entre 1899 e 1900 por Henry Tissier, que observou abundância de bactérias com uma forma peculiar (formato em “Y”) nas fezes de bebês saudáveis, quando comparadas às fezes de crianças com diarreia. Tissier, então, sugeriu que esses micro-organismos, até então chamados de “*bifid bactéria*”, poderia ser utilizado no tratamento de pacientes com diarreia (BROEK *et al.*, 2008). Estima-se que mais de 500 espécies de bactérias habitem o trato gastrointestinal humano, sendo o gênero *Bifidobacterium* pertencente ao grupo dominante dos micro-organismos anaeróbios da microbiota intestinal (ROY, 2005; VOROBYEVA, 2005; SOLANO-AGUILAR *et al.*, 2008; O’FLAHERT; KLAENHAMMER, 2010). Tal população se estabelece rapidamente após o nascimento do ser humano. Porém, diminui no intestino humano adulto, quando passa a ser a terceira maior população presente depois de *Eubacterium* e *Bacteroides*. Durante a vida adulta, as populações de *Bifidobacterium* spp. do homem permanecem estáveis, sendo relativamente elevadas (10^9 - 10^{10} UFC/g), correspondendo a proporções entre 3 e 6% da microbiota total. Essa população apresenta um declínio considerável, quando o indivíduo atinge a fase senil. Além disso, a dieta, o uso de antibióticos e/ou

outros medicamentos e situações de estresse são indicados como fatores importantes capazes de influenciar o decréscimo nas populações de *Bifidobacterium* presentes no intestino humano (SHAH, 2007).

Os micro-organismos do gênero *Bifidobacterium* auxiliam a saúde do hospiteiro, por acarretar no balanço da microbiota intestinal, fermentando carboidratos que não são digeridos e absorvidos no trato intestinal superior e, também, por apresentarem efeitos adversos às bactérias patogênicas. Tais efeitos antagônicos são resultantes da produção de ácidos orgânicos, em particular, ácido acético e ácido láctico. Algumas linhagens do gênero *Bifidobacterium* (especialmente *B. bifidum* NCFB, *B. longum* e *B. infantis* BCRC 14602) podem produzir moléculas antibacterianas específicas, como bifidocina B, bifidolina, *bifilong* e bififina I, as quais inibem bactérias patogênicas. Além disso, as bifidobactérias também são capazes de sintetizar vitaminas (YILDIRIM *et al.*, 1999; ALANDER *et al.*, 2001; LÓPEZ-MOLINA *et al.*, 2005; AHMAD *et al.*, 2010).

As espécies de *Bifidobacterium* mais utilizadas como probióticas são: *B. longum*, *B. bifidus*, *B. essencis*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis* e *B. lactis* (atualmente classificado como *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*) (ANAL; SINGH, 2007; SHAH, 2007). Apenas linhagens de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* têm demonstrado habilidades para sobreviver em ambientes ácidos. Estas culturas são os probióticos preferencialmente utilizados em produtos à base de iogurte (JAYAMANNE; ADAMS, 2006).

3.6 PREBIÓTICOS

Em (1995) Gibson; Roberfroid definiram prebióticos como ingredientes alimentícios não digeríveis que afetem benéficamente o hospedeiro, por estimular seletivamente a multiplicação ou a atividade de um ou de um número limitado de bactérias no cólon, melhorando, assim, a saúde do hospedeiro. Em outra pesquisa de Gibson et al., (2004) obteve o segundo conceito: 'um prebiótico é um ingrediente seletivamente fermentado, que permite mudanças específicas na composição ou atividade da microbiota gastrintestinal, conferindo benefícios para a saúde e o bem-estar do hospedeiro'. Sendo que os prebióticos atuam com maior frequência no intestino grosso, embora possam ter algum impacto no intestino delgado (GILLILAND, 2001).

Para que possa ser considerado um alimento prebiótico deve demonstrar tais características: limitada hidrólise e absorção no trato gastrintestinal superior, estimulação seletiva da multiplicação das bactérias benéficas no cólon; ter potencial para reprimir patógenos e limitar a virulência, através de processos, como a atenuação da virulência e imunoestimulação e estimulação da microbiota benéfica que promove a resistência a colonização por patógenos (KLAENHAMMER, 2001).

Os prebióticos quando não fermentados, são capazes de desempenhar efeito osmótico no trato gastrintestinal e quando fermentados, aumentam a produção de gases. O consumo elevado de prebióticos podem aumentar os riscos de ocorrência de diarreias (SAAD, 2006; HOLZAPFEL *et al.*, 2002).

Para a Food ingredients Brasil (2011) os prebióticos pode ser incluídas as féculas, fibras dietéticas, outros açúcares não absorvíveis, álcoois do açúcar e oligossacarídeos, sendo que este último é encontrado como componente natural de vários alimentos, como frutas, vegetais, leite e mel.

O desenvolvimento dos prebióticos surgiu da descoberta dos fatores bifidus, oligossacarídeos presentes no leite humano, que favorecem a multiplicação de bifidobactérias de recém-nascidos amamentados com leite materno. Os prebióticos modificam a composição da microbiota colônica, de tal forma, que as bactérias com potencial de promoção de saúde tornam-se a maioria predominante (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

3.7 ALIMENTOS SIMBIÓTICOS

A união de prébióticos e probióticos geram alimentos funcionais simbióticos, que irá conferir ao consumidor vários benefícios à saúde. O uso de alimentos simbióticos pode promover aumento do número de bifidobactérias, controle glicêmico, redução da taxa de colesterol sanguíneo, balanceamento da microbiota intestinal que auxilia na redução da obstipação e/ou diarreia, melhora da permeabilidade intestinal e estimulação do sistema imunológico (FLESH, 2014).

Sendo que estes alimentos simbióticos contêm associação apropriadas de ingredientes prebióticos e micro-organismo probióticos, assim exercendo efeito tanto probiótico quanto prebiótico. Um dos efeitos desejáveis de um produto simbiótico é de favorecer a sobrevivência do probiótico, durante a sua passagem pelo trato gastro intestinal. Segundo alguns autores o termo simbiótico refere-se indiretamente a uma sinergia e, por isso esse termo deve referir-se exclusivamente aos produtos em que o composto prebiótico favorece seletivamente determinado probiótico (SCHREZENMEIR; DE VRESE, 2001; KOLIDA; GIBSON, 2011).

Segundo Roberfroid (2002) sugeriu que produtos simbióticos podem beneficiar a sobrevivência das bactérias ao passarem pela parte superior do trato gastrintestinal e assim, produzir maiores efeitos no intestino grosso. Já

Mattila-Sandholm *et al.*, (2002), a relação entre o probiótico e o prebiótico *in vivo* pode ser promovida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico, antes do consumo, e em alguns casos, isto pode provir em vantagem competitiva para o probiótico, sendo ele consumido juntamente com o prebiótico.

Segundo Bielecka *et al.*, (2002) não se sabe se as contribuições individuais são aditivas ou sinérgicas, mas podendo haver um aumento dos efeitos benéficos de cada um deles.

A relação das bactérias probióticas e o prebiótico *in vivo* pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico através do consumo de prebiótico. Isto deve proceder em uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido na companhia de um prebiótico (PUUPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

3.8 EDULCORANTE

O termo edulcorante foi definido pela primeira vez pelo Decreto n. 55.871 de 20/03/1965 como “qualquer substância orgânica, que não glicídica, com a capacidade de conferir sabor doce aos alimentos” (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ALIMENTOS, 1989). Com o passar dos anos a legislação foi modificada e em 1988 a Portaria n 25 da Secretaria Nacional da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde conferiu a nomenclatura de adoçante dietético a todos os produtos a base de edulcorantes com ou sem adição de sacarose (BRASIL, 1988).

De acordo com a definição da Portaria 540/97 da Secretária da Vigilância Sanitária, edulcorantes são substâncias diferentes dos açúcares que conferem sabor doce ao alimento (BRASIL, 1997). Já a resolução MERCOSUR/ GMC nº 83/93 define os edulcorantes como substâncias diferentes dos açúcares, que conferem sabor doce ao alimento. Os limites de

segurança de cada adoçante são definidos pelo *Joint Expert Committee of Food Additions (JECFA)*, da Organização Mundial da Saúde, e pela *Food and Agricultural Organization (FAO)*, das Nações Unidas. Estes limites são definidos em termos de ingestão diária admissível - IDA, medida em 15 mg/kg de peso corporal. Estes limites são estabelecidos a partir do NOEL (*no effect level*), determinados em estudos sobre animais. O NOEL corresponde a quantidade de um determinado aditivo que pode ser ingerida todos os dias por um animal sem causar nenhum dano detectável. Essa quantidade é então dividida por um fator de segurança, normalmente 100, sendo o resultado dessa operação definida como a IDA para humanos.

A sucralose é um adoçante não calórico e possui alto poder adoçante (GRICE; GOLDSMITH, 2000). Ela é 600 vezes mais doce que a sacarose, sendo que sua doçura pode variar de 400 a 800 vezes em relação a da sacarose e duas vezes a da sacarina. Os valores de doçura relativa para a sucralose, dependem do pH, temperatura e concentração. O perfil tempointensidade é de elevada qualidade e muito semelhante ao da sacarose e aspartame. A doçura é de percepção rápida persistindo por um período ligeiramente maior do que a sacarose. Não possui residual amargo ou metálico. Possui alta solubilidade em água, alta estabilidade térmica, em meio aquoso e ácido e ao armazenamento. É quimicamente inerte, não é carcinogênico e é um edulcorante não calórico podendo ser ingerido por diabéticos (CÂNDIDO, 2000).

O acessulfame-k é um sal de potássio do 6-metil-1,2,3-oxatiazina-4-ona-2,2-dióxido, trata-se de edulcorante não calórico, sendo aproximadamente 200 vezes mais doce que a sacarose, e não apresenta gosto residual. Sua toxicidade e carcinogenicidade na reprodução foram estudadas por longo prazo, onde ficou demonstrado que o acessulfame-k é um edulcorante seguro com alto poder adoçante, não sendo metabolizado pelo organismo (MENDONÇA *et al.*, 2005).

Os adoçantes podem participar de formulações de alimentos e bebidas, com melhoria na qualidade adoçante e evitar problemas de instabilidade. Além disso, algumas propriedades sensoriais de alguns adoçantes sintéticos são conhecidas e tem seu uso limitado em bebidas de baixa caloria, no entanto, a combinação de diferentes adoçantes pode superar estas limitações. Quando dois adoçantes são misturados, a intensidade do dulçor da mistura pode ser igual (cumulativo), maior (sinergismo) ou menor (supressão) do que quando se usa o adoçante intenso usado sozinho (HUTTEAU *et al.*, 1998).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

O leite utilizado para a elaboração das formulações do queijo *petit suisse diet* foi comprado em supermercado da cidade de Medianeira – PR, a castanha do Brasil foi obtida no Estado de Rondônia sobre responsabilidade da autora do trabalho. Os demais ingredientes e reagentes foram obtidos de outras procedências comerciais e de grau para análise.

Para a realização do trabalho, foram utilizadas as instalações da UTFPR Câmpus Medianeira e os laboratórios utilizados foram: Laboratório de Industrialização de Laticínios, Laboratório de Microbiologia e Laboratório de Análises de Alimentos que são devidamente equipados para a elaboração e análises do queijo *petit suisse diet*.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Obtenção do Extrato de Castanha do Brasil

O extrato da castanha do Brasil foi preparado conforme (FELBERG *et al.*, 2002) com adaptações, as castanhas após descascadas e com as películas foram trituradas com leite à temperatura de 75°C por 3 minutos em liquidificador na proporção 1:7 (castanha: leite). A dispersão resultante foi filtrada em dessoradores utilizados para fabricação de queijos e assim sendo obtido o extrato de castanha-do-Brasil.

4.2.2 Obtenção Do Queijo *Petit Suisse Diet*

A figura 1 mostra como foi obtido as formulações de queijo *petit suisse diet* durante seu processamento.

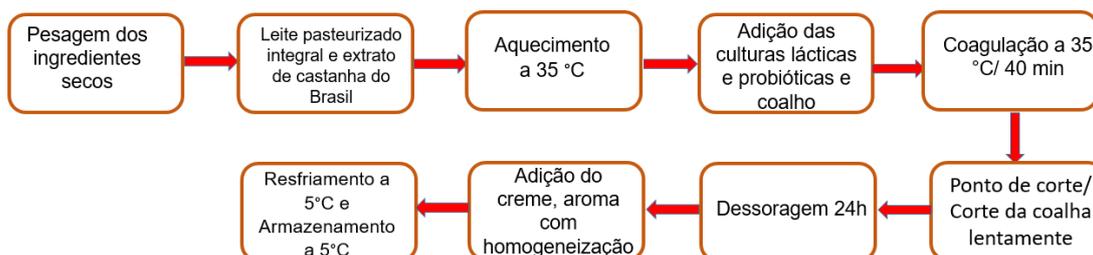


Figura 1. Fluxograma de obtenção do Queijo *Petit Suisse Diet*.

Os queijos *petit suisse diet* foram desenvolvidos no laboratório de laticínios da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Medianeira. Para elaboração do *petit suisse diet* baseou-se na metodologia de Albuquerque com alterações (2002). Para cada uma das formulações foram aquecidos 10 litros de leite pasteurizado em Becker com aquecimento até atingir temperatura de 35°C. Adicionou-se culturas lácticas e probióticas dissolvidas em leite, homogeneizou-se e adicionou-se o coalho dissolvido em leite e foi homogeneizado lentamente, após, foi deixado descansar para atingir o ponto de coagulação. A coalhada foi então quebrada e agitada lentamente por 15 minutos. O soro foi separado da coalhada em dessoradores, por um período de 24 horas, obtendo-se a massa base do queijo. À massa foi quebrada em liquidificador e então foi adicionado edulcorantes, polpa e aroma de morango até atingir uma massa homogênea.

Nesse estudo, foram elaboradas quatro formulações de queijo *petit suisse diet* sabor morango. Nos formulados F1, F2 e F3 foram adicionados 10, 15 e 20% respectivamente de extrato de castanha do Brasil e produzido uma Formulação P (padrão) sem adição de extrato de castanha para comparação de resultados.

Tabela 1: Percentual dos ingredientes utilizados nas quatro diferentes formulações de Queijo *Petit Suisse Diet*

Ingredientes	F1	F2	F3	F4 (Padrão)
Extrato de Castanha do Brasil	10%*	15%*	20%*	*
leite	80,6%	75,6%	70,6%	90,6%
Espessante	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Bactérias Láticas	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Bifidumbacterium bifidum	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Lactobacillus paracasei	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Edulcorante Sucralose/Acessulfame -K	0,65%	0,65%	0,65%	0,65%
Polpa de morango	4%	4%	4%	4%
Aroma de morango	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%
Total	100	100	100	100

*Porcentagem de extrato de castanha adicionada.

Fonte: Autoria Própria (2018).

4.2.3 Análises Físico-Químicas da Matéria-Prima

A castanha do Brasil utilizada para fabricar o queijo *petit suisse diet* foi triturada em liquidificador para obtenção de uma farinha e assim realizada às análises físico-químicas seguindo a metodologia descrita em (BRASIL, 2006). Todas as análises foram realizadas em duplicatas, e os resultados comparados com os padrões estabelecidos pela IN 51, 2002 (BRASIL, 2002).

4.2.4 Análise Físico-Química do Extrato de Castanha do Brasil

As análises realizadas no extrato foram:

- Atividade de água: através de medida direta, em instrumento Aqualab series 3TE da DECAGON, com controle interno de temperatura a 25°C;
- pH: segundo método n° 981.12 da AOAC (1997), por meio do uso de potenciômetro, previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7;
- Proteína bruta: segundo o método de micro Kjeldahl n° 950.48 da AOAC (1997), que se baseia na determinação da quantidade de nitrogênio total existente na amostra. O teor de proteína bruta será calculado através da multiplicação do nitrogênio total pelo fator 5,46 (%N x 5,46);
- Resíduo mineral fixo: será determinado por incineração da amostra em forno mufla a 550 °C, de acordo com o método 930.05 da AOAC (1997).

4.5 ANÁLISES DO QUEIJO *PETIT SUISSE DIET*

4.5.1. Preparo das amostras

As amostras foram separadas em várias porções e conservadas em geladeira a 10°C até o início das análises, conforme metodologia descrita no Anexo 1 da Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

4.5.2 Análises Microbiológicas do Queijo *Petit Suisse Diet*

O queijo *petit suisse diet* foi produzido com extrato de castanha do Brasil com adição de bactérias acidificantes, bactérias probióticas e edulcorante. Foi coletada amostras nos dias 0D, 15D, 30D para realização das análises microbiológicas: Coliformes a 35 °C e a 45°C, Salmonella e Bolores e leveduras segundo a metodologia do MAPA (BRASIL, 2003).

4.5.3 Análises de Bactérias Probióticas

A determinação das bactérias probióticas as amostras foram avaliadas quanto à contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*.

Para a contagem de *Lactobacillus paracasei* e *Bifidobacterium* foi empregado o meio de cultura MRS.

Foram realizadas diluições seriadas das amostras e plaqueadas em triplicata na superfície dos meios utilizando alíquotas de 0,1 mL. As placas com MRS-LP foram incubadas sob anaerobiose (AnaeroGen®) a 37°C por 72 horas (VINDEROLA; REINHEIMER, 2000). Após este período, realizaram-se as contagens das colônias de bifidobactéria e *Lactobacillus*.

4.6 ANÁLISES REOLÓGICAS

4.6.1 Análise de Viscosidade

O comportamento reológico das amostras do queijo *petit suisse diet* foi determinado utilizando um viscosímetro rotacional DVIII ULTRA da marca Brookfield acoplado a banho e controlador de temperatura TC-602 da marca Brookfield disponível no Laboratório de Pesquisa de Pós-Graduação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus de Medianeira-PR. O viscosímetro possui banho termostático que permite o controle da temperatura da amostra durante o ensaio. Os ensaios para as medidas reológicas foram determinados a 10°C e amostras de 100 mL. Os resultados foram expressos em centipoise (cP).

4.7 ANÁLISE INSTRUMENTAL

4.7.1 Análise de Colorimetria

A cor das amostras do queijo *petit suisse diet* foi avaliada em equipamento colorímetro (modelo Chroma Metter CR-400, marca Konica Minolta®) que foi previamente calibrado e ajustado para ser operado com iluminante *C , D65 e ângulo de 10°. O método utilizado foi proposto pela CIELab definido em 1976, que se baseia na representação tridimensional, onde cada cor pode ser representada por um único ponto, sendo definida pelas coordenadas L^* , a^* e b^* , onde o parâmetro L^* representa a luminosidade na

escala de 0 - 100 (do preto ao branco); a^* representa a variação de tonalidade de vermelho (+) ou verde (-) e b^* representa a variação da tonalidade do amarelo (+) ou azul (-) (BILLMEYER; SALTZMANN, 1981; YAM; PAPADAKIS, 2004).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados das análises reológicas foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, 5 % da probabilidade mediante o uso do *software* Info Stat.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises da composição centesimal da Castanha do Brasil

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da composição centesimal da amostra da castanha do Brasil.

Tabela 2: Resultado da Análise da composição centesimal da Castanha do Brasil *in natura*

Análises	Castanha do Brasil <i>in natura</i>
Proteínas (g/100g)	14,35
Carboidrato (g/100g)	11,61
Cinzas (g/100g)	3,42
Extrato Etéreo (g/100g)	70,62
Fibra bruta(g/100g)	2,45

Fonte: Autoria Própria (2018).

Os resultados obtidos das análises da composição centesimal das castanhas do Brasil encontrados neste trabalho foram similares aos apresentados por Macrae *et al.*, (1993). De acordo com a composição nutricional da castanha-do-Brasil, os componentes mais abundantes são os lipídios, seguidos pelas proteínas, carboidratos e fibras, de forma que o valor energético é bastante elevado (MOODLEY *et al.*, 2007). Alguns autores ressaltam que a composição de nutrientes pode diferir com o tamanho da castanha, sua variedade e origem (PACHECO, 2007).

Devido a castanha do Brasil apresentar elevadas qualidades nutritivas sua composição tem sido amplamente estudada, e demonstra ser uma rica fonte nutricional, e é popularmente chamada de Carne Vegetal, por ser um alimento energético, rico em proteínas e valorizado pela presença de antioxidantes (GLÓRIA; REGITANO DARCE, 2000; COZZOLINO, 2001).

5.2.1 Análises da Composição Centesimal do Extrato da Castanha do Brasil

A Tabela 3 estão apresentados os resultados da composição centesimal do extrato de castanha do Brasil.

Tabela 3: Resultado da Composição centesimal do Extrato de Castanha do Brasil

Análises (Desvio Padrão)	Extrato de Castanha do Brasil
Gordura (g/100g)	6%
Proteínas (g/100g)	13,52
Acidez (ac. láctico/100 mL)	19
pH	6,38
Cinzas (g/100g)	3,92
Aw	0,98

Médias das duplicatas analisadas.

Fonte: Autoria Própria, (2018).

Os resultados da composição centesimal do extrato de Castanha do Brasil indicaram teores de gordura, proteínas, acidez em ácido láctico, pH, cinzas e atividade de água, elevados podendo ser considerados produtos de alto valor nutricional e estão condizentes com estudos realizados por Felberg et al. (2009).

5.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICAS

5.3.1 Análises Microbiológicas do queijo *Petit Suisse Diet*

Os resultados das análises microbiológicas das formulações dos queijos *pettit suisse diet* são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Análises Microbiológicas das amostras nos tempos de 0D, 15D e 30

Formulação	Análises	0 Dias	15 Dias	30 Dias
F1	Coliformes a 35 ° C e 45 ° C (NMP. g/L)	<3	<3	<3
	Bolores e leveduras (UFC/ g/L)	<100	<100	<100
	<i>Salmonella spp./</i> 25 g/L	Ausente	Ausente	Ausente
F2	Coliformes a 35 ° C e 45 ° C (NMP. g/L)	<3	<3	<3
	Bolores e leveduras (UFC/ g/L)	<100	<100	<100
	<i>Salmonella spp./</i> 25 g/L	Ausente	Ausente	Ausente
F3	Coliformes a 35 ° C e 45 ° C (NMP. g/L)	<3	<3	<3
	Bolores e leveduras (UFC/ g/L)	<100	<100	<100
	<i>Salmonella spp./</i> 25 g/L	Ausente	Ausente	Ausente
F4 (Padrão)	Coliformes a 35 ° C e 45 ° C (NMP. g/L)	<3	<3	<3
	Bolores e leveduras (UFC/ g/L)	<100	<100	<100
	<i>Salmonella spp./</i> 25 g/L	Ausente	Ausente	Ausente

Ausente: ausência em 25 g.

Observou-se que não houve crescimento de microrganismos em todas as formulações durante os 30 dias de armazenamento, evidenciando as boas práticas de fabricação durante a fabricação dos produtos. Os resultados obtidos nas análises microbiológicas encontraram-se dentro do padrão exigido pela legislação pela RDC nº 12 de 2001 de queijos com alta umidade. Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo com alta umidade (BRASIL, 2005), as formulações de queijo com alta umidade simbiótico desenvolvidas estão de acordo com a legislação em relação à ausência de *Salmonella*. Quanto às análises de coliformes a 35°C e 45°C e bolores e leveduras, não foi detectada presença nas quatro formulações desenvolvidas. Desta forma, podem-se evidenciar boas práticas de fabricação, qualidade da matéria-prima utilizada, pasteurização ideal do leite utilizados nas formulações de queijo com alta umidade e condições adequadas de armazenamento do produto, durante 30 dias de armazenamento refrigerado, estando de acordo com os padrões da legislação em vigor (BRASIL, 2005).

5.4 ANÁLISE DAS BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

Na Tabela 5 mostra os resultados das Contagens das Bactérias *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus paracasei* nas Formulações F1, F2, F3 e F4 (Padrão) do queijo *petit suisse diet* simbiótico nos Tempos 0D, 15D e 30D.

Tabela 5: Contagens das bactérias probióticas nas formulações de Queijo *Petit Suisse Diet* nos diversos tempos de armazenamento

Formulação	Bactérias Probióticas UFC/mL	0 Dias	15 Dias	30 Dias
F1	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	$1,8 \times 10^{10}$	$6,4 \times 10^{11}$	$7,0 \times 10^{13}$
F2	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	$2,2 \times 10^{10}$	$6,8 \times 10^{11}$	$7,2 \times 10^{13}$
F3	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	$1,7 \times 10^{10}$	$6,7 \times 10^{11}$	$9,1 \times 10^{13}$
F4 (Padrão)	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	$1,4 \times 10^{10}$	$6,3 \times 10^{11}$	$8,2 \times 10^{13}$

Fonte: Aatoria Própria (2018)

Os resultados obtidos na Tabela 5, demonstram que a formulação F4 sem adição do extrato de castanha (Padrão) apresentou nos 0 dias de fabricação contagens menores de bactérias *Lactobacillus paracasei* cerca de $1,4 \times 10^{10}$ UFC.mL⁻¹ e de *Bifidobacterium bifidum* $1,4 \times 10^{10}$ UFC.mL⁻¹ no início do armazenamento em relação às formulações F1, F2 e F3, respectivamente adicionadas de 10 % 15 % e 20% de extrato de castanha, isto pode ser explicado pela necessidade de adaptação dos microrganismos probióticos ao meio, que necessitam de produção de nutrientes disponíveis e acidez produzida pela bactérias lácticas, devido que a atividade metabólica de *L. bulgaricus* e *S. thermophilus* durante a armazenagem resulta na produção de ácidos orgânicos que futuramente podem afetar a viabilidade das células probióticas (DONKOR *et al.*, 2006), entretanto, Shah *et al.* (1995) sugerem que, para efeito terapêutico, o produto deve conter $\geq 10^5$ células/mL e para

Vinderola *et al.*, (2000) o consumo de 10^8 - 10^{11} UFC/dia é o recomendável para alcançar os benefícios propostos pelos microrganismos probióticos.

Segundo Thamer; Penna, 2006; Vinderola *et al.*, 2000, em estudos realizados afirmam que a viabilidade dos micro-organismo quando utilizados na produção de alimentos fermentados depende da interação entre as espécies presentes, da cepa utilizada, tempo de fermentação, condições de armazenamento e pós-acidificação, nutrientes disponíveis, entre outros e Martín-Diana *et al.* (2003) recomendam que a quantidade de micro-organismos inoculados seja igual à desejada no produto final, principalmente no que se refere às bifidobactérias, que possuem baixo desenvolvimento em pHs muito ácido.

As formulações F1, F2, e F3 apresentaram contagens elevadas entre $1,8 \times 10^{10}$ a $9,1 \times 10^{13}$ UFC.mL⁻¹ durante os 30 dias de armazenamento a 10 °C.

Gomes e Malcata (1999) relatam que os produtos fermentados na hora de serem consumidos devem conter no mínimo 10^6 UFC.mL⁻¹ de células probióticas viáveis, devido à dose mínima terapêutica diária ser de 10^8 - 10^9 células viáveis em 100 g do produto fermentado. As altas contagens obtidas neste trabalho evidenciam que o queijo *petit suisse diet* atende a este requisito, e a adição de extrato de castanha possibilitou a manutenção da viabilidade das bactérias probióticas no produto, apresentando um efeito prebiótico podendo ser considerado alimento funcional. Segundo (BRASIL, 2002) para um alimento ser considerado funcional, a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo, o que corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo de 10^6 a 10^7 UFC/mL ou g, ou seja, de 6 a 7 Log UFC/g. Bren *et. al* Almeida (2010) em seu trabalho com a elaboração de uma bebida probiótica a partir de extrato solúvel de soja obteve resultados parecidos a esse estudo em relação às bifidobactérias que foi de 1×10^{10} UFC. A elaboração de alimentos

contendo culturas probióticas em concentrações apropriadas de células viáveis durante a vida de prateleira é um desafio tecnológico (KOURKOUTAS et.al., 2005). Em trabalho realizado por Gardiner et.al. (1998), foi confrontado o desempenho de *Lactobasillus paracasei* com o de *Lactobacillus salivarius*, isolados de intestino delgado humano, durante a maturação de queijo Cheddar, no qual a espécie *Lactobasillus paracasei* apresentou multiplicação e manutenção de alta viabilidade, enquanto as contagens de *Lactobacillus salivarius* diminuíram.

5.5 ANÁLISE DE COR

Os queijos produzidos foram submetidos a análise de cor para identificar se a adição da castanha do Brasil interferiu na cor final do produto e para saber se alteraria a cor durante o armazenamento. Os resultados estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6: Resultados das análises de cor dos queijos durante os 30 dias de armazenamento

Valor L*	F1	F2	F3	F4 (Padrão)
Tempo 0	56,82± 1,69 ^a	60,15±1,69 ^a	61,91±1,69 ^a	60,83±1,69 ^a
Tempo 15	67,33±0,41 ^{a b}	66,53±0,41 ^b	68,63±0,41 ^a	67,26±26 ^a
Tempo 30	67,43±0,28 ^b	66,74±0,28 ^b	69,10±0,28 ^a	68,16±0,28 ^{a b}
Valor a*	F1	F2	F3	F4
Tempo 0	26,80±0,59 ^a	24,41±0,59 ^a	20,06±0,59 ^b	21,37±0,59 ^b
Tempo 15	28,19±0,29 ^b	28,26±0,29 ^b	21,60±0,29 ^d	25,66±0,29 ^c
Tempo 30	28,95±0,16 ^b	28,50±0,16 ^b	22,80±0,16 ^d	26,42±0,16 ^c
Valor b*	F1	F2	F3	F4
Tempo 0	9,76±0,27 ^b	9,82±0,27 ^b	11,65±0,27 ^a	10,24±0,27 ^a
Tempo 15	13,01±0,14 ^d	13,75±0,14 ^c	14,97±0,14 ^a	14,45±0,14 ^b
Tempo 30	13,40±0,10 ^d	13,99±0,10 ^c	15,62±0,27 ^a	10,24±0,27 ^c

Letras iguais na mesma linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria Própria, (2018).

Em relação à luminosidade, as formulações F1, F2, F3 e F4 apresentaram uma pequena mudança no decorrer do tempo de armazenamento, sendo essa mudança significativa.

De acordo com Minolta Corporation (1994), as coordenadas de cromaticidade a^* e b^* indicam as direções das cores, sendo, $a^* > 0$ a direção do vermelho e $b^* > 0$ a direção do amarelo. Neste sentido, os resultados obtidos para a coordenada de cromaticidade a^* , apontam em todos os tratamentos, um aumento significativo da intensidade da cor vermelha nos 30 dias de armazenamento. Quanto à coordenada de cromaticidade b^* , todos os tratamentos apresentaram um aumento na intensidade da cor amarela em função do tempo.

Em relação aos tratamentos, diferenças podem ser observadas entre aqueles elaborados com uma concentração maior do extrato da castanha, levando-se em consideração que a concentração de polpa de morango adicionada foi a mesma para todos os tratamentos.

5.6 ANÁLISE DE VISCOSIDADE

A viscosidade aparente de um produto é uma propriedade reológica que influencia de forma considerável a aceitação e a intenção de compra dos consumidores. A viscosidade é definida como a resistência que o líquido oferece a determinada força a ele aplicada e, no caso dos queijos, é dependente de vários aspectos do processo como tipo de substrato, tratamento térmico sofrido, condições de incubação e resfriamento (HAULY; FUCHS; PRUDENCIO-FERREIRA, 2005).

Tabela 7. Resultados de viscosidade aparente (cP) do produto pronto

Dias	F1	F2	F3	F4 (Padrão)
Tempo 0	1702 ± 55,3 ^a	1605 ± 49,4 ^a	1598 ± 56,2 ^b	1690 ± 53,2 ^a
Tempo 15	1645 ± 76,9 ^a	1554 ± 24,2 ^a	1534 ± 54,1 ^b	1637 ± 82,9 ^a
Tempo 30	1600 ± 63,2 ^a	1548 ± 22,8 ^b	1432 ± 25,9 ^b	1513 ± 64,2 ^a

Letras iguais na mesma linha não diferem entre si ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Aatoria Própria, (2018).

Os valores mostrados na Tabela 7 mostram que as viscosidades das formulações não se diferem significativamente. As diferenças observadas podem ser devido a diferente concentração de extrato de castanha adicionada, já que o mesmo tem grande quantidade de lipídeos, ou seja, a formulação 3 apresenta uma menor viscosidade vindo que foi adicionado 20% de extrato de castanha em sua formulação. Todas as formulações apresentaram comportamentos reológicos parecidos, sendo que a viscosidade teve uma queda com o tempo equivalente em todas as amostras.

Apesar da dependência com o tempo a viscosidade não variou muito em função do mesmo, podendo se observar que os queijos *petit suisse diet* analisados possuem uma rede estável. (HINRICHS, 2001). De acordo com Mohameed, Abu-Jdayil e Al-Shawabkeh (2004), O'Donnell e Butler (2002) e Sanchez (1996) em estudos em leite fermentado tipo *labneh*, iogurtes batidos e queijos cremosos, respectivamente, concluíram que as propriedades reológicas são dependentes do tempo.

6. CONCLUSÃO

Este presente estudo demonstrou que a adição de extrato de castanha do Brasil com probióticos nas formulações do queijo tipo *petit suisse diet* foi satisfatório sendo que os tratamentos apresentaram contagens superiores à $8 \log^{10}$ UFC/g ou mL e o mesmo atendeu a legislação de contagens microbiológicas, apresentando resultados negativos em seu comportamento durante a vida de prateleira. Além disso, mesmo com a adição do extrato de castanha do Brasil a cor e a viscosidade das quatro formulações não teve diferenças significativas entre si mas havendo mudança de suas características ao fim dos trinta dias de armazenamento, o que se resulta em alteração do seu comportamento de acordo com o tempo. Observando que os produtos formulados atendeu aos objetivos principais do trabalho e como uma opção para futuros trabalhos, sugere-se a elaboração de uma análise sensorial para avaliar a aceitação do queijo no mercado.

REFERÊNCIAS

AHMAD, C.; NATASCHA, C. HAIQIN, C.; JIANXIN, Z; JIAN, T.; HAO, Z; WEI, C. Bifidin I - A new bacteriocin produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602: Purification and partial amino acid sequence. **Food control**, v.21, p.746-753, 2010.

ALANDER, M.; MÄTTÖ, J.; KNEIFEL, W.; JOHANSSON, M. KÖGLER, B. CRITTENDEN, R.; MATTILA-SANDHOLM, T.; SAARELA, M. Effect of galacto-oligosaccharide supplementation on human fecal microflora and on survival persistence of *Bifidobacterium lactis* Bb-12 in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, v.11, p.817-825, 2001.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, p.240-251, 2007.

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 16 ed., Virginia, 1997.

AYCICEK, H.; AKSOY, A.; SAYGI, S. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. **Food Control**, v. 16, p. 263- 266, 2005.

BERNADEAU, M.; VERNOUX, J.P.; DUBERNET, S.H.; GUÉGUEN, MICHELINE. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 126, p.278-285, 2008.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for symbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**, v.35, n.2/3, p.123-131, 2002.

BLAUT, M. Relationship of probiotics and food to intestinal microflora. **Eur J Nutr.**, N.41, P.11-16, 2002.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Agência de Vigilância Sanitária, Portaria n. 25, de 04 de abril de 1988. Os produtos a base de edulcorantes, com ou sem adição de sacarose passa a denominar-se “Adoçantes *Dietéticos*”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 04 de abr. 1988.

BRASIL, Ministério da saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Diário Oficial da União** Resolução RDC nº 360. Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados Brasília, DF. Dezembro de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n. 540, de 27 de outubro de 1997. **Aprova o regulamento técnico: Aditivos alimentares** – definições, classificação e emprego. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 28 de out. 1997.

BRASIL. Decreto nº 51.209, de 18/08/1961. **Aprova as novas especificações para a classificação e fiscalização da exportação da Castanha-do-Brasil. Brasília/DF: Diário Oficial de Brasília, p.853-855. 1961.**

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria no. 318 de 24 de novembro de 1995. Aprova o uso de Sucralose com a função de edulcorante em alimentos e bebidas dietéticas; **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, no. 227, p.194061, 28 nov. 1995.

BROEK, L.A.M.; HINZ, S.W.A.; BELDMAN, G.; VINCKEN, J.P.; VORAGEN, A.G.J. *Bifidobacterium* carbohydrases- their role in breakdown and synthesis of (potential) prebiotics. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.52, p.146-163, 2008.

CÂNDIDO, L.M.B.; CAMPOS, A.M. **Alimentos para fins especiais: dietéticos**. São Paulo: Varela, 2000.

CARDARELLI, H.R.; BURITI, F.C.A.; CASTRO, I.A.; SAAD, S.M.I. Sensory CHUNHIENG, T. et al. Study of selenium in the protein fractions of the Brazil nut, *Bertholletia excelsa*. **J. of Agric. Food Chem.** 52, p.4318-4322, 2004.

COZZOLINO, S. M. F. **Usos e aplicáveis das Dietary Reference Intakes. DRIs. ILSI BRASIL**. São Paulo/SP: Novembro, 2001.

DONKOR, O.N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T. et al. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. **Int. Dairy J.**, v.16, p.1181-1189, 2006.

DUTRA-DE-OLIVEIRA, J. E.; SÉRGIO MARCHINI, J. **Ciências Nutricionais**. São Paulo: ed. Savier: 1998. evaluation of a potentially synbiotic *petit-suisse* cheese. – Submetido à publicação no periódico internacional Food Chemistry - Elsevier em julho de 2006.

ENRIQUEZ, G.; SILVA, M.A.; CABRAL, E. **Biodiversidade da Amazônia**: usos e potencialidades dos mais importantes produtos naturais do Pará. Belém: NUMA/UFPA, 2003.

FELBERG, I.; CABRAL, L.C.; GONÇALVES, E. B.; DELIZA, R. Efeito das condições de extração no rendimento e na qualidade do leite de castanha-do-brasil despelculada. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 1, p. 75-88, jan/jun., 2002.

FELBERG, I.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R.; FREITAS, S. C.; MODESTA, R. C. Soy and brazil nut beverage: processing, composition, sensory and color evaluation. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 609- 617, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of health and nutritional properties**

of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.
Córdoba, 2001. 34p.

FOOD BRASIL INGREDIENTS. Shelf Life Uma Pequena Introdução. **Food Ingredients Brasil, São Paulo**, v. 18, n. 8, p. 67-73, 2011.

FRAGA, C. Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, p.235-244,2005.

GIBSON, G.R.; PROBERT, H.M.; VAN LOO, J.; RASTALL, R.A.; ROBERFROID, 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 Press, 1999. p.99-131.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v. 125, n.6, p. 1404-1412, 1995.

GILLILAND, S.E. Probiotics and prebiotics. In: MARTH, E.H.; STEELE, J.L.; eds. **Applied Dairy Microbiology**, New York: marcel Dekker, 2001. P. 327-343.

GLÓRIA, M.M.; REGITANO-d'ARCE Concentrado e isolado protéico de torta de castanha do Pará: obtenção e caracterização química e funcional. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n.2, 2000.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotic. **Trends and food science & technology**, v.10, p.139-158, 1999.

GRICE, H.C.; GOLDSMITH, L.A. Sucralose: an overview of the toxicity data. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, n. 2, p. 1-6, 2000.

HAULY, M. C. O.; FUCHS, R. H. B.;PRUDENCIO-FERREIRA,S.H.Suplementação de iogurte de soja com frutooligossacarídeos: características probióticas e aceitabilidade. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 5, p. 613–622, 2005.

HEASMAN, M. & MELLENTIN, J. 2001. **The Functional Foods Revolution**. Healthy People, Healthy Profits London : Earthscan.

HINRICHS, J. Incorporation of whey in cheese. **International Dairy Journal**, v. 11, n 4-7, p.495-503, 2001.

HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Res. Int.**, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.

HUTTEAU, F., MATHLOUTHIA, M., PORTMANN, M.O.; KILCAST, D. **Physicochemical and psychophysical characteristics of binary mixtures of bulk and intense sweeteners.** *Food Chemistry*, 63(1), 9–16, 1998.

JALILI, H.; RAZAVI, S.H.; SAFÁRI, M.; MALCATA, F.X. Enhancement of growth rate and β -galactosidase activity, and variation in organic acid profile of *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb 12. **Enzyme and Microbial Technology**, v.45, p.469-476, 2009.

JAYAMANNE, V.S.; ADAMS, M.R. Determination of survival, identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, p. 189-194, 2006.

KANNAMKUMARATH, S.S.; WROBEL, K; WUILLLOUD, R.G. Studying the distribution pattern of selenium in nut proteins with information obtained from SECUV- ICP-MS and CE – ICP-MS. **Talanta**, v. 66, p. 153-159, 2004.

KLAENHAMMER, T.R. Probiotics and prebiotics. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. **Food microbiology: fundamentals and frontiers.** 2.ed. Washington: ASM, 2001. p.797-811.

KLEEREBEZEM, M.; HUGENHOLTZ, J. Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, p.234-237, 2003.

KORNSTEINER, M.; WAGNER, K; ELMADAFI, I. Tocopherols and total phenolic phenolic in 10 different nut types. **Food Chemistry**, v. 98, n.2,p. 381-387, 2006.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. *Food Control*. v. 12, p. 109-117, 2001b.

LEAHY, S.C.; HIGGINS, D.G.; FITZGERALD, G.F.; VAN-SINDEREN, D. Getting better with bifidobactérias. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1303-1315, 2005.

LÓPEZ-MOLINA, D.; NAVARRO-MARTÍNEZ, M.D.; MELGAREJO, F.R.; HINER, A.N.P.; CHAZARRA, S.; RODRÍGUES-LÓPEZ, J.N. Molecular properties and prebiotic effect of inulin from artichoke (*Cynara scolymus L.*) **Phytochemistry**, v.66, p.1476-1484, 2005.

M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Review**, v.17, p. 259-275, 2004.

MacRAE; R.; ROBINSON, R.K.; DADLER, M. Brazil nuts. In: MACRAE; R.; ROBINSON, R.K.; DADLER, M. **Encyclopaedia of food science food technology and nutrition**. London: Academic Press, v.1, 1993.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. Ed. São Paulo: Roca, 2002. 1157 p.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G., FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.12, p.173-182, 2002.

MENDONÇA, C.R.B.; ZAMBIAZI, R.C.; ULARTE, G.M.A.; GRANADA, G.G.; Características sensoriais de compotas de pêsego light elaboradas com sucralose e acesulfame-K. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25,401-407, 2005.

MINOLTA CORP. **Precise color communication**: color control from feeling to instrumentation. Ramsey: Minolta Corporation Instrument Systems Division, 1994.

MOHAMEED, H.; ABU-JDAYIL, B.; ALSHAWABKEH, A. Effect of solids concentration on the rheology of labneh (concentrated yogurt) produced from sheep milk. **Journal of Food Engineering**. v. 61, n.3, p. 347-352, 2004.

MOODLEY, R.; KINDNESS, A.; JONNALAGADDA S. B. Elemental composition and chemical characteristics of five edible nuts (almond, Brazil, pecan, macadamia and walnut) consumed in Southern Africa. **J. of Env. Sci. and Health**, **42**, 585-591. 2007.

MORGADO, F. E. F.; BRANDÃO, S. C. C. Ultrafiltração do leite para produção de queijo tipo petit-suisse. **Indústria de Laticínios**, Juiz de Fora, v. 2, p. 35-44, 1998.

NETO, V. Q.; BAKKE, O. A.; RAMOS, C. M. P.; BORA, P. S.; LETELIER, J. C.; CONCEIÇÃO, M. M. Brazil nut (*Bertholletia excelsa* H.B.K) seed kernel oil: characterization and thermal stability. **Revista de biologia e farmácia**. v. 03, n. 01, 2009.

O'DONNELL, H. J.; BUTLER, F. Time-dependent viscosity of stirred yogurt. Part II: tube flow. **Journal of Food Engineering**, v. 51, n. 3, p. 255-261, 2002.

O'FLAHERTY, S.; KLAENHAMMER, T.R. the role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host. **International Dairy Journal**, v.20, p.262-268, 2010.

PACHECO, Ariane Mendonça. **Selênio e Aflatoxinas em Castanhas-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) e qualidade de produtos derivados**. Florianópolis: UFSC, 2007. 144 p.

PHILIPS, K.; RUGGIO, D.M.; ASHRAF-KHORASSANI, M. Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 24, p. 9436-9445, 2005.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.M.; OKSMAN-CALDENTY, K.M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Sci. Technol.**, Amsterdam, v.13, p.3-11, 2002.

REIG, A.L.C.; ANESTO, J.B. Prebióticos y probióticos, una Relación Beneficiosa. Instituto de Nutrición e Hgiene de los Alimentos. **Revista Cubana de Alimentação e Nutrição**. v. 16, n. 1, p. 63-8, 2002.

REILLY, C. **Selenium in food and health**. Springer: United States of Americana, 2. ed. P 158-172, 2006.

REIS, R.C.; MINIM, V.P.R.; DIAS, B.R.P.; CHAVES, J.B.P.; MINIM, L.A.; Impacto da utilização de diferentes edulcorantes na aceitabilidade de iogurte “light” sabor morango. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n.1, p. 53-60, 2009.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARO, U. Non-dairy probiotic products. **Food Microbioloy**, v.27, p.1-11, 2010.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**. v. 34, Suppl. 2, p. 105-10, 2002.

RODRÍGUEZ, M.B.S.; MEGÍAS, S.M.; BAENA, B.M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**. v. 77, n. 3, p. 317-331, 2003.

ROY, D. Technological aspects related to the use of Bifidobacteria in dairy products. **Lait**, v.85, p.39-56, 2005.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANCHEZ, C.; BEAUREGARD, J. L.; CHASSAGNE, M. H.; BIMHENET J. J.; HARDY J. Effects of processing on rheology and structure of double cream cheese. **Food Research International**, v. 28, n. 6, p. 541-552, 1996.

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.8, p.341-347, 1998.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutr. Rev.**, New York, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SANDRAZ, M.H. Fromage frais: le bénéfice de l'innovation. **Revue Laitiere Francaise**, v.486, p.26-30, 1989.

SANTOS, O.V.; CORRÊA, N.C.F.; LANNES, S.C.S. Caracterização física, físico-química, microbiológica e icotoxicológica da castanha-do-brasil (*bertholletia excelsa* H.B. K). **Revista Eletrônica-Illuminart**, v. 1, n. 7, 2011.

SANTOS, V.S. **Desenvolvimento de barras de alto teor protéico a partir da castanha-do-Brasil**. 2008. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

SCHREZENMEIER, J.; de VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, n.2 (S), p.361-364S, 2001.

SEIFRIED, H. E. et al. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. **J. of Nut. Biochemistry**, 18, p.567-579, 2007.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-1277, 2007.

SOLANO-AGUILAR, G.; DAWSON, R.; RESTREPO, M.; ANDREWS, K.; VINYARD, B.; URBAN, J.F. Detection of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12) in the intestine after feeding of sows and their piglets. **Applied and Environmental microbiology**, v.74, n.20, p.6338-6347, 2008.

SOLANO-AGUILAR, G.; DAWSON, R.; RESTREPO, M.; ANDREWS, K.; VINYARD, B.; URBAN, J.F. Detection of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Bb12) in the intestine after feeding of sows and their piglets. **Applied and Environmental microbiology**, v.74, n.20, p.6338-6347, 2008.

SOUZA, M. L.; MENEZES, H. C. Processamento de amêndoa e torta de castanha-do-brasil e farinha de mandioca: parâmetros de qualidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 120-128, 2004.

TEODORO, D. M. D. **Avaliação dos teores de Mercúrio e Selênio em pescados da Região Amazônica**. 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, Pará, 2006.

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebióticos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26, n.3, p.589-595, 2006.

VEIGA, P.G.; CUNHA, R.L.; VIOTTO, W.H.; PETENATE, A.J. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial de queijo *petit suisse* brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, p.349-357, 2000.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S.K. Chemical composition of selected edible nut seeds. **Journal of Agricultural Food chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4705-4714, 2006.

VINDEROLA, C.G.; PROSELLO, W.; GHIBERTO, D.; REINHEIMER, J.A. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and nonprobiotic microflora in Argentinian fresco cheese. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v.83, n.9, p.1905-1911, 2000.

VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.10, p.271-275, 2000.

VOROBJEVA, N.V. Selective stimulation of the growth of anaerobic microflora in the human intestinal tract by electrolyzed reducing water. **Medical Hypotheses**, v. 64, p.543-546, 2005.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LTWT – Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p. 1573-1580, 2009.

YILDIRIM, Z.; WINTERS, D.K.; JOHNSON, M.G. Purification, amino acid, sequence and mode of action of Bifidocin B produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.45-54, 1999.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. An overview of probiotics and synbiotics in the functional food concept; perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v.8, p.473-479, 1998.