

**INSTITUTO FEDERAL DE  
EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
RIO DE JANEIRO**

**Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.**

**Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

Campus Rio de Janeiro

Ramon Silva

**REQUEIJÃO PROBIÓTICO REDUZIDO DE SÓDIO: POTENCIAL USO DA  
MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY CHILLING**

Rio de Janeiro- RJ

2015

Ramon Silva

**REQUEIJÃO PROBIÓTICO REDUZIDO DE SÓDIO: POTENCIAL USO DA  
MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY CHILLING**

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Gomes da Cruz  
Co- Orientadora: Prof. Dr.<sup>a</sup> Márcia Cristina da Silva

Rio de Janeiro- RJ  
2015

# Ficha catalográfica

Ramon Silva

**REQUEIJÃO PROBIÓTICO REDUZIDO DE SÓDIO: POTENCIAL USO DA  
MICROENCAPSULAÇÃO POR SPRAY CHILLING**

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Data da aprovação:

---

Dr. Adriano Gomes da Cruz. (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

---

Dr<sup>a</sup>. Aline dos Santos Garcia Gomes

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

---

Dr. Marco Antonio Sloboda Cortez  
Universidade Federal Fluminense

---

Dr<sup>a</sup>. Thaís Souza Silveira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro - RJ

2015

## I-AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que sou e por tudo que conquistei.

Agradeço a todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho:

Aos professores Adriano Gomes da Cruz e Márcia Cristina da Silva por todo incentivo, pela orientação, acompanhamento e direcionamento que tornaram possível o desenvolvimento deste trabalho.

Ao IFRJ, pela oportunidade e pelas condições oferecidas para a realização do Mestrado; Aos docentes do Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos do IFRJ que, de alguma maneira, colaboraram para a realização deste trabalho.

À banca examinadora por ter aceitado o convite.

Aos meus pais e meus sogros, a quem devo tudo que sou hoje, e por todo o amor que sempre recebi deles.

A minha namorada Aline Lima Damasceno Batista, pelos momentos de compreensão, e pelo apoio na revisão da minha tese.

Aos meus colegas de turma, pelo companheirismo e amizade.

## II- LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Requisitos físico-químicos para as diferentes variedades de requeijão.	20
<b>Tabela 2</b>	Análises microbiológicas das bactérias e probióticas.	39
<b>Tabela 3</b>	pH, Umidade, proteína, gordura, sódio, cálcio e potássio em requeijão probiótico com <i>Lactobacillus acidophilus</i> livre e microencapsulado.	40
<b>Tabela 4</b>	Análise Sensorial em requeijao probiótico reduzido de sódio adicionado de Lactobaciillus acidophilus livre e microencapsulado.	41

### III- LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Etapas do processamento do requeijão reduzido de sódio com bactérias probióticas livres e microencapsuladas. 38
- Figura 2** Viabilidade e Funcionalidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em requeijao probiótico. 42

#### IV- LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

**UFC** Unidade Formadora de Colônia.



Silva. R. Requeijão probiótico reduzido de sódio: Potencial uso da microencapsulação por spray chilling. 54p. Dissertação de Mestrado, apresentado ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia de Alimentos- IFRJ, Campus Maracanã, 2015.

## V-RESUMO

O desenvolvimento de processos que possibilitam a oferta de alimentos funcionais, em especial, matrizes lácteas que sejam adicionadas de microrganismos benéficos a saúde, como os microrganismos probióticos, e reduzido de sódio representa uma tendência para a moderna indústria de alimentos. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de um requeijão probiótico reduzido de sódio, utilizando a microencapsulação por spray chilling como opção tecnológica. Nossos resultados mostram que o uso da microencapsulação por spray chilling apresentou-se como uma opção interessante para o processamento do requeijão probiótico reduzido de sódio, mantendo a contagem de probióticos dentro do valor recomendado para conferir benefícios à saúde do consumidor e com adequado desempenho no teste sensorial.

**Palavras-chaves:** requeijão, redução de sódio, probióticos, spray chilling.

Silva. R. Requeijão probiótico reduzido de sódio: Potencial uso da microencapsulação por spray chilling. 54p. Dissertação de Mestrado, apresentado ao Programa de Pós-graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia de Alimentos- IFRJ, Campus Maracanã, 2015.

## VI-ABSTRACT

The development of technology that enable the offering of functional foods, in particular dairy foods which are able to offer health beneficial microorganisms, such as probiotic microorganisms and low sodium content, is a tendency for modern food industry. The objective of this study was to develop a reduced sodium probiotic processed cheese – “requeijão cremoso”, using microencapsulation by spray chilling as technological option. Our results show that the use of microencapsulation by spray chilling was presented as an interesting option for the development of the reduced sodium probiotic “requeijão cremoso”, keeping the probiotic count within the recommended value to confer benefits to consumer health and adequate performance in consumer test.

**Keywords:** “requeijão cremoso”, sodium reduction, probiotics, spray chilling.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2. OBJETIVO</b> .....	13
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	14
<b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
4.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	15
4.2. PROBIÓTICOS.....	16
4.3 REQUEIJÃO CREMOSO.....	19
<b>4.3.1 TECNOLOGIA BÁSICA DE REQUEIJÃO CREMOSO</b> .....	24
4.4 MERCADO BRASILEIRO.....	25
4.5 REDUÇÃO DE SÓDIO.....	25
4.6 REDUÇÃO DE SÓDIO E QUEIJOS.....	27
4.7 REQUEIJÃO PROBIÓTICO REDUZIDO DE SÓDIO.....	29
4.8 MICROENCAPSULAÇÃO.....	30
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
5.1 MATERIAL.....	34
5.2 PRODUÇÃO DA MICROCÁPSULA.....	34
5.3 PROCESSAMENTO DO REQUEIJÃO.....	35
5.4 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICAS.....	36
<b>5.4.1 pH</b> .....	36
<b>5.4.2 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL</b> .....	36
<b>5.4.3 TEOR DE MINERAIS</b> .....	36
5.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS.....	39
5.6 ANÁLISE SENSORIAL.....	40
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	40
<b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	40
6.1 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	40
6.2 ACEITAÇÃO SENSORIAL DO REQUEIJÃO PROBIÓTICO.....	41
6.3 AVALIAÇÃO DA FUNCIONALIDADE E VIABILIDADE DOS MICRORGANISMO.....	42
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	43
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A saúde sempre foi um assunto muito estudado e discutido, as modificações no estilo de vida da sociedade têm afetado a qualidade da vida do homem atual. Cada vez mais as pessoas se preocupam com sua melhoria na qualidade de vida e bem estar praticando atividades físicas e cuidando de sua alimentação, visando à prevenção ao invés da cura da doença, e neste aspecto cada vez mais vem aumentando a procura por alimentos com diminuição de sódio, gorduras e açúcares bem como por alimentos que tragam benefícios à saúde (TIRAPÉGUI, 2002; ANTUNES et al.; 2007; SILVA 2007).

Os produtos de origem animal constituem a base da alimentação humana, destacando-se o leite, que apresenta grande importância como fonte de proteínas, lactose, gordura e minerais, principalmente o cálcio. Por outro lado, o crescente interesse mundial pela manutenção da saúde e do bem-estar torna-se compulsório a aquisição de alimentos que exerçam além da intrínseca função de nutrição, benefícios adicionais no que diz respeito à prevenção de doenças. Nesse contexto, a suplementação de micro-organismos probióticos bem como a redução de sódio em um mesmo alimento constitui-se uma potencial opção de alimento funcional, dado que um produto com esse apelo pode ter um impacto positivo na saúde gastrointestinal e cardiovascular.

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de mortalidade no Brasil e no mundo (OMS 2009). Dentre estas doenças, as mais importantes podem ser relacionadas a dietas ricas em gorduras e em sódio. O derrame cerebral se destaca como a mais letal, sendo a hipertensão arterial descontrolada a grande responsável por essa liderança (PORTAL DO CORAÇÃO 2009). Uma alternativa para atender às necessidades atuais do mercado consumidor, cada vez mais preocupado com a manutenção da saúde, seria a produção de um requeijão com teor reduzido de sódio com bactérias probióticas. ANTUNES et al. (2007); SANTOS et al. (2001), relataram que a indústria de laticínios vem se destacando nesse aspecto com o maior número de produtos funcionais, através de adição de probióticos e prebióticos em alimentos como o iogurte e os leites fermentados no geral. Adicionalmente, o requeijão cremoso é um produto típico do Brasil, ocupando importante lugar no consumo de lácteos, motivo pelo qual tem se tornado um dos focos das pesquisas de desenvolvimento de produtos funcionais.

## 2. OBJETIVO

Tendo em vista o aumento do consumo de alimentos com adição de probióticos devido à percepção do consumidor por seus benefícios à saúde, o objetivo principal deste trabalho é o desenvolvimento da tecnologia do requeijão reduzido de sódio, adicionado de bactérias probióticas na forma livre e microencapsulada, avaliando o metabolismo e atividade dessas linhagens no produto. Nessa perspectiva, os objetivos específicos foram:

- Caracterizar físico-quimicamente os produtos obtidos quanto aos teores de proteólise, extrato seco total, proteína total, gordura, minerais e pH dos produtos obtidos;
- Avaliar o comportamento dos microrganismos probióticos utilizados no processamento do requeijão reduzido de sal na forma livre e microencapsulada no que diz respeito a sua viabilidade e sobrevivência às condições do trato gastrointestinal;
- Avaliar a aceitação sensorial do produto por uma amostra representativa de consumidores.

### **3. JUSTIFICATIVA**

A preocupação com ingestão de alimentos funcionais, que além de tradicional função de prover os nutrientes necessários para o metabolismo das funções vitais humanas, possam ajudar na prevenção de doenças é crescente em todo mundo. Dessa forma, o desenvolvimento de um alimento funcional com nível reduzido de sódio em sua formulação bem como a suplementação de micro-organismos capazes de conferir benefícios à saúde humana, como os micro-organismos probióticos, apresenta relevância para a saúde cardiovascular e intestinal dos consumidores.

Em particular, tem-se ainda que o requeijão cremoso já se apresenta integrado à dieta da população brasileira, apresentando um consumo diário. Além disto, este queijo sendo uma matriz ideal para inserção de micro-organismos probióticos, que necessitam de uma ingestão contínua para realização dos benefícios a saúde pelo consumidor. A microencapsulação vem, dessa forma, auxiliar no desenvolvimento de um novo processo onde ocorram mudanças nos parâmetros operacionais sem prejuízos à viabilidade da cultura probiótica, o que não afetaria a seu potencial funcional.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

O mercado de alimentos funcionais encontra-se em profunda expansão. A concepção de alimentos funcionais foi inicialmente divulgada pelo Japão na década de 80, por intermédio de um programa criado pelo governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e demonstrava uma grande expectativa de vida (ANJO, 2004).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância sanitária (Anvisa) alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que alegam propriedades funcionais ou de saúde, que além de atribuírem funções nutricionais básicas, produzem efeitos metabólicos e ou fisiológicos, devendo ser seguros para consumo humano sem supervisão médica (ANVISA, 1999).

Os alimentos funcionais são aqueles que fornecem uma nutrição básica e geram benefícios à saúde através de mecanismo não previsto na nutrição convencional e o seu objetivo principal é de promover saúde e não curar uma doença (BECKER 2009; SANTOS *et al.*; 2011). Ferrari e Torres (2010) explicam que isto acontece devido ao mecanismo de ação através de vias bioquímicas e fisiológicas ou farmacológicas pelas quais uma determinada substância interage com os componentes celulares e/ou teciduais para realizar um conseqüente efeito biológico.

Segundo Cardoso (2012), a intensificação dada a essas informações tem sido evidente pelo fato que os consumidores estão cada vez mais se certificando da relação existente entre saúde e nutrição, ou seja, a preferência à prevenção e não somente à cura de doenças. Estudo mostra a evidência científica sobre a eficiência dos alimentos funcionais crescendo cada vez mais e passando segurança ao ser consumido (VIDAL, 2012).

De acordo com SOUZA, SOUZA NETO e MAIA (2003), Os alimentos funcionais podem ser classificados quanto à fonte (origem animal ou vegetal) ou quanto aos benefícios que oferecem as áreas do organismo (sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular, metabolismo de substrato, crescimento e desenvolvimento de diferenciação celular, no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes).

Como características básicas, os alimentos funcionais, devem ser alimentos convencionais, consumidos na dieta normal; devem ter efeitos positivos, além do valor básico nutritivo, promovendo benefícios à saúde, aumentando a qualidade de vida, através do desempenho físico, psicológico e comportamental (RBERFROID, 2002). Já CLYDESDALE (2005), relatou que os alimentos funcionais podem assumir diversas tipologias, podendo ser enriquecidos e especialmente desenvolvidos para reduzir o risco de doença para um determinado grupo de pessoas, ou podem ser alimentos convencionais, com componentes bioativos adicionados, que são relacionados com resultados positivos à saúde.

A ingestão de alimentos funcionais é só mais uma estratégia para prevenir e controlar alguns tipos de doenças crônico-degenerativas, lembrando que eles não impendem o

aparecimento da doença, mas apenas atuam ajudando o organismo a se fortalecer, caso essa doença surja (VIDAL *et al.*, 2012).

Um papel importante na avaliação de alimentos funcionais é desempenhado pela disponibilidade dos antioxidantes, que é considerado como um fator chave na atividade biológica de substâncias no trato digestivo e sua absorção através das paredes intestinais para a circulação do sangue (GRAJEK; OLENJNIK; SIP, 2005).

Segundo CLYDESDALE (2005), os alimentos funcionais disponíveis atualmente representam apenas uma fração das potenciais oportunidades que consumidores têm de melhorar sua saúde, ingerindo alimentos especiais. Os avanços da ciência, ligados aos estudos conduzidos à área, servem para garantir que benefícios sejam levados aos consumidores com a adição destes alimentos à dieta diária.

A importância da matriz alimentar no que diz respeito a funcionalidade do produto é atualmente de grande relevância para as pessoas envolvidas na indústria de alimentos funcionais (SANDERS; MARCO, 2010). A viabilidade futura e o sucesso dos alimentos funcionais no mercado dependem de vários elementos, porém, a questão essencial é a aceitação consciente de consumo de tais produtos (BALDISSERA *et al.*, 2011).

#### 4.2. PROBIÓTICO

O intestino humano é colonizado por numerosos microrganismos, cerca de 500 a 1000 espécies diferentes (KELY; KING; AMINOV, 2007), envolvidos com diversas funções fisiológicas como, por exemplo, a prevenção da colonização por micro-organismos potencialmente patogênicos (SALMINEN; ISOLAURI 2006), facilitando assim o desenvolvimento de uma microbiota mais benéfica (LOSA; OLHEIROS, 2002). Esta proteção pode ser afetada por múltiplos fatores, como doenças crônicas, quimioterapia e estresse. Em consequência disso, conduziu-se o desenvolvimento de alimentos especificamente designados para fortalecer a microbiota intestinal, destacando-se os probióticos (TUOHY *et al.*, 2003).

O termo probiótico é de origem grega e significa “*para a vida*”, sendo inicialmente proposta por LILLY e STILLWL (1965). Desde então diversas definições foram propostas. Probióticos são definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, trazem benefícios para a saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001). Paralelamente, um alimento probiótico é definido como um produto processado que contém micro-organismos probióticos viáveis em um meio adequado e em concentração suficiente para (SAXELIN *et al.*, 2003). Isso significa que a viabilidade e a atividade metabólica desses microrganismos benéficos devem ser mantidas durante todas as fases e operações do processamento do alimento, desde a sua elaboração até a sua ingestão pelo consumidor, sendo estes também capazes de sobreviver no trato gastrointestinal (SANZ, 2007).



VINDEROLA & REINHEIMER (2003), bem como ZUCCOTTI *et al.* (2008) relataram que os microrganismo para serem considerados probióticos devem ser reconhecidos internacionalmente e resistir à passagem pelo trato gastrointestinal para seguirem até o intestino e promoverem seus benefícios. Para que isso aconteça devem resistir ao suco gástrico e sais biliares e aderirem ao muco ou epitélio intestinal, apresentando viabilidade até o consumo final, além de comprovação *in vivo* e *in vitro* por doses reconhecidas.

De acordo com a legislação brasileira podem ser considerados alimentos com probióticos ou com alegação de probiótico os que apresentarem *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei shirota*, *Lactobacillus casei variedade rhammosus*, *Lactobacillus casei variedade defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalles*, *Bifidobacterium longum*, *Enterococcus faecium* (ANVISA, 2008).

A aplicação dos probióticos *Bifidobacterium sp.* e/ou *Lactobacillus acidophilus* em leites fermentados tornou-se popular na década de 70 como resultado de grande ampliação no conhecimento da taxonomia e ecologia das bifidobactérias (GOMES e MALCATA, 1999).

Na literatura científica, populações de  $10^6$ - $10^7$  UFC  $g^{-1}$  no produto final são estabelecidas como sendo quantidades terapêuticas mínimas de culturas probióticas em alimentos processados (TALWALKAR *et al.*, 2004), atingindo  $10^8$ - $10^9$  UFC providos por um consumo diário de 100g ou 100 mL do alimento, beneficiando, assim, o ser humano (CRUZ *et al.*, 2009). No Brasil, a legislação vigente determina que a quantidade mínima viável da cultura probiótica deve estar entre  $10^8$  e  $10^9$  UFC por dia, ou seja, por porção de produto, e que a quantidade de microrganismos presentes no produto deve constar em seu rótulo (ANVISA, 2008).

Os benefícios à saúde destes microrganismos têm sido correlacionados com diferentes processos, sendo os mecanismos de ação relacionados ao tipo de micro-organismo probiótico, ao método de produção e administração, à viabilidade da preparação e à condição da microbiota intestinal (DRUNKLER; SENE; OLIVEIRA, 2005).

LAZADA *et al.* (2011), destacaram que os possíveis mecanismos de ação dos probióticos são justicados pela competição por sítio de adesão formando uma barreira física contra agentes patogênicos associado a produção de substâncias antibacterianas, que tem ação bacteriostática ou bactericida em relação às bactérias patogênicas (LIMA *et al.*, 2007).

Inúmeros benefícios à saúde são adquiridos pela ingestão de alimentos contendo culturas probióticas. Os principais efeitos benéficos à saúde relacionados aos probióticos são: atividade antimicrobiana, prevenção e tratamento de diarréias, alívio dos sintomas de intolerância a lactose, atividades antimutagênicas e anticarcinogênicas, estímulo do sistema imunológico, melhora da saúde urogenital, alívio da constipação, otimização de efeito de vacinas, tratamento de resfriados e infecções de inverno (NAGPAL *et al.*, 2007). Bactérias probióticas têm sido recomendadas para o tratamento de dermatites atópicas, enterocolites, colites pseudomembranosas, doenças hepáticas crônicas, doenças alérgicas e alergias alimentares (CANDY *et al.*, 2008; REIFF e

KELLY, 2010). É importante mencionar que os efeitos de promoção de saúde dependem da linhagem/cepa presente na formulação do produto e que não existe uma cepa probiótica capaz de conferir, ao mesmo tempo todos os benefícios recentemente reportados (SHAH, 2007).

Segundo COSTA *et al.*, (2012) que avaliaram *in vitro* duas linhagem de lactobacilos e uma de bifidobactéria quanto a capacidade de inibição de micro-organismos patogênicos envolvidos nas comuns toxinfecções alimentares, os autores relataram que a inibição dos agentes patogênicos ocorreu devido a produção dos ácidos láctico e acético, produzidos a partir da fermentação. A produção desses ácidos potencializa o efeito antimicrobiano e o equilíbrio da microbiota intestinal.

DELIA *et al.* (2007) realizaram um estudo com 490 pacientes com neoplasia de cólon que estavam em tratamento com radioterapia e concluíram que os probióticos apresentaram-se como um fator de proteção e segurança aos pacientes, contribuindo para redução dos episódios de diarreia.

De acordo com SAAD (2006) o mecanismo de ação dos probióticos sobre efeitos carcinogênicos ainda é desconhecido. Diversos autores sugerem vários mecanismos como a ligação e degradação de compostos com alto potencial carcinogênico, alterações metabólicas e fisiológicas intestinais, alterações quantitativas e qualitativas no intestino e resposta imune do hospedeiro. A associação de suplementos a base de *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Saccharomyces boulardii* reduziram em 8% a diarreia do viajante, 34% a diarreia oriunda de causas diversas e em 57% a diarreia em crianças (ZASWAL *et al.*; 2006). Estudo realizado por XIAO *et al.* (2006) que avaliaram grupos utilizando *Bifidobacterium longum* e placebo durante quatro semanas, concluíram que houve diminuição dos sintomas oculares de alergia referentes ao pólen nos indivíduos que utilizaram o microrganismos supracitado.

Os alimentos que contêm probióticos são tipicamente ativos no intestino, embora outros locais de ação tenham sido descritos (LENIOR-WIJMKOOP *et al.*; 2007). O consumo de alimentos contendo probióticos confere melhorias e benefícios à saúde, melhorando a qualidade de vida das pessoas e contribuindo para prevenção de várias doenças, promovendo a saúde da população (WENDLING *et al.*; 2013). De fato, a capacidade de microrganismos probióticos em se desenvolver e sobreviver no hospedeiro influencia fortemente nos seus efeitos probióticos. O microrganismo que permanecer metabolicamente estável no produto e sobrevive à passagem pelo trato digestivo poderá apresentar efeitos benéficos quando presente no intestino do hospedeiro (ANAL *et al.*; 2007).

As alegações funcionais conferidas aos probióticos têm gerado grande interesse nas indústrias, e muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas com o escopo de incorporar esses microrganismo aos alimentos (STANTON *et al.*, 2001). Adicionalmente, o número de produtos disponíveis e de consumidores familiarizados com o conceito “probiótico” tem aumentado e, como

consequência, a pesquisa em torno desses produtos também. Mais de 600 produtos alimentícios lançados pela indústria láctea em 2006 fizeram uso do termo probiótico (SVEJE, 2007).

A aplicação dos probióticos esbarra na dificuldade de elaboração de produtos que tenham uma boa resistência às etapas de processamento, e na viabilidade microbiana durante a vida útil do produto e passagem pelo trato digestório, já que algumas cepas são extremamente sensíveis, bem como na manutenção das qualidades sensoriais do produto (SHAH; RAVULA, 2000; DRUNKLER; SENE; OLIVEIRA, 2005). Para tentar solucionar esse problema, têm sido apresentadas diversas técnicas para aumentar a resistência desses micro-organismos contra condições adversas, incluindo a seleção de cepas resistentes ao ácido estomacal e bile, incorporação de micronutrientes, como peptídeos e aminoácidos, e a microencapsulação (FAVARO-TRINDADE *et al.*; 2008; BRINQUES *et al.*; 2011; CHAMPANGNE *et al.*; 2011).

É importante que os produtos probióticos contenham cepas bem caracterizadas, no sentido de compreender os fatores determinantes sobre a funcionalidade probiótica e os benefícios do hospedeiro. A seleção de cepas probióticas deve ser direcionada aos efeitos atribuídos desejáveis para o produto específico ou para a população-alvo daquele produto. Adicionalmente, bactérias probióticas utilizadas na produção em escala industrial e de processamento devem ser bem caracterizadas e apropriadas para cada tipo de produto, bem como manter-se com boa viabilidade durante seu armazenamento (SAAD; BURITI; KOMATSU; 2008).

#### 4.3. REQUEIJÃO CREMOSO

Segundo OLIVEIRA (1986), qualquer queijo cujas características da massa revelem uma destruição completa da estrutura original do coágulo pode ser classificado como queijo de massa fundida ou queijo processado. A legislação brasileira define basicamente dois tipos de produto que se enquadram nessa classificação: os queijos processados ou fundidos e o requeijão.

O requeijão é queijo processado tipicamente brasileiro, fabricado em todo território nacional, com algumas variações de tecnologia e surgiu como forma de aproveitamento do leite coagulado devido à ação da microbiota láctica natural do leite. É fabricado a partir do leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas (VAN DENDER, 2012a).

A legislação brasileira, de acordo com a Portaria n°359, de 04 de setembro de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), define requeijão, como

*produto obtido pela fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e /ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e /ou manteiga e /ou gordura anidra de leite ou butter oil. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias (BRASIL, 1997).*

Existem, no mercado brasileiro, diversos produtos com a denominação requeijão, mas que diferem quanto aos teores de umidade e gordura. De acordo com o MAPA (1997), a classificação do requeijão é baseada nas matérias-primas empregadas no processo de elaboração, teor de gordura no extrato seco e teor de umidade podendo existir na forma de: requeijão, requeijão cremoso e requeijão de manteiga. O Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão classifica o requeijão em três categorias: requeijão, requeijão cremoso e requeijão manteiga (MAPA 1997). A Tabela 1 mostra os requisitos físico-químicos exigidos para cada uma dessas variedades.

**Tabela 1.** Requisitos físico-químicos para as diferentes variedades de requeijão.

Requisito	Requeijão	Requeijão cremoso	Requeijão de manteiga
Matéria gorda no extrato seco g/100g	45,0 a 54,9	Min. 55	25,0 a 59,9
Umidade g/100g	Max. 60	Max. 65	Max. 58

Fonte: Ministério do Estado da Agricultura e do Abastecimento, 1997

FERNANDES *et al.*, (1985) destacam que a diferença entre estes consiste no tipo de matéria-prima e de sal fundente empregados no processo de fabricação, e dos teores de gordura e umidade contidos no produto final.

De modo geral, esses produtos devem apresentar as seguintes características sensoriais: consistência (untável ou fatiável); textura (cremosa, fina, lisa ou compacta); formato (variável); cor e odor (característicos) e sabor (a creme levemente ácido, proporcionalmente salgado para requeijão ou requeijão cremoso, levemente ácido, salgado a ranço para requeijão manteiga) (VAN DENDER, 2014).

Dentre os vários tipos de requeijões comercializados no Brasil, destaca-se o requeijão cremoso como o mais tradicional e de amplo consumo no mercado nacional (RAPACCI, 1997). Ao final do processo, o requeijão cremoso típico deverá apresentar a seguinte composição: 38 a 40% de extrato seco total, 60 a 62% de gordura no extrato seco, 30 a 33% de nitrogênio total, 1,0 a 1,5% de cloreto de sódio e pH entre 5,2 e 5,7 (VAN DENDER, 2006).

Na preparação de requeijão cremoso, empregam-se como matéria-prima o leite e/ou leite reconstituído (BRASIL, 1997). Dentre os tipos, o leite de vaca é o mais utilizado, ainda que possa ser possível elaborar este produto utilizando leite de cabra e búfala (DRUNKLER *et al.*, 2006; SOUSA *et al.*, 2002). A etapa inicial consiste na escolha da massa de queijo a ser utilizada e os

queijos fundidos apresentam em sua composição os seguintes ingredientes: sais fundentes, água, gordura, cloreto de sódio e outros ingredientes (VAN DENDER, 2006).

A água é um ingrediente indispensável no processo de elaboração de queijos fundidos, tanto por auxiliar a transferência de energias térmica e mecânica durante a formação do sol de caseinato como por atuar como solvente e dispersante da mistura. Ela é adicionada à massa para dissolver o sal, produzir boa dispersão da caseína, além de formar uma emulsão perfeita com proteína e gordura (BERGER *et al.*, 1989; LEE; ANEMA; KLOSTERMEYER, 2004). A água pode ser adicionada tanto de uma só vez, no início do processo de fusão, como em duas vezes, ou seja, metade no início e a outra metade próxima ao final do processo, quando a temperatura, atingir 85°C. A vantagem de se adicionar água em duas vezes é que a absorção da caseína é acelerada, pois o sal fundente se encontra mais concentrado quando se adiciona só metade da água no início do processo. O cálculo da quantidade de água a ser usado é feito a partir do extrato seco da matéria-prima e do produto final. Deve ser efetuado corretamente, uma vez que o teor de água é um dos fatores que influenciam a consistência do queijo processado (VAN DENDER 2006).

O requeijão cremoso deve apresentar no mínimo 55% de gordura no extrato seco (BRASIL, 1997), logo, a gordura, na forma de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite, é ingrediente obrigatório na elaboração de requeijão cremoso, e deve ser adicionada antes da fusão, sendo sua quantidade dependente do teor de gordura desejado (OLIVEIRA, 1990). A adição de gordura é efetuada antes do aquecimento da massa e pode ser feita colocando-se creme ou manteiga. A quantidade de gordura a ser adicionada depende do teor de gordura que se deseja no extrato seco e das porcentagens de gordura e sólidos totais inicial. Ao adicionar-se a gordura, a viscosidade diminui consideravelmente e a consistência se torna macia e adquire aspectos amanteigado, além de realçar o sabor do produto tornando-o mais atraente para consumo e melhorando suas características organolépticas (VALLE, 1981;).

O cloreto de sódio normalmente é adicionado na proporção de 1,5% - 2,0% em relação à massa a ser fundida, na forma de solução ou mesmo polvilhada sobre a mesma. A função do sal, neste caso, é contribuir para o sabor do queijo processado (VAN DENDER *et al.*, 2006). O tipo e a quantidade de sal emulsificante que será usado no processamento de queijos fundidos depende de uma série de fatores, entre os quais podem destacar: pH, grau de maturação e estrutura do queijo usado como matéria-prima; características de textura desejadas no produto final; ingredientes utilizados; equipamento utilizado na etapa de fusão; vida de prateleira e estabilidade microbiológica do produto final; (Zehren & Nusbaum, 1992). De um modo geral, três categorias de sais emulsificantes são empregados extensivamente na fabricação de queijos fundidos: citratos, monofosfatos e polifosfatos. Cada grupo confere ao produto final características básicas de firmeza, espalhabilidade, maciez e poder tampão, e dependendo da ação desejada, pode-se usá-los isoladamente ou combinados em proporções variadas (FERNANDES, 1981; BERGER *et al.*,

1989). Ao utilizar a quantidade correta de sais fundentes, este será capaz de desenvolver todas as características necessárias, tais como: troca de íons, peptização da proteína, dispersão da proteína, estabilização da emulsão, regulação do pH e cremificação (VAN DENDER, 2006).

O processo de cremificação é um fenômeno físico-químico que resulta em um aumento da viscosidade devido à hidratação das proteínas, decorrente da quelação do cálcio e da reação de troca iônica promovida pelos sais fundentes, bem como um aumento das interações proteína – proteína. No início do cozimento, as caseínas sofrem dissociação por ação dos sais fundentes, liberando unidades proteicas menores (possivelmente ao nível de submicelas). Essa reação aumenta a hidratação das proteínas, ao mesmo tempo em que aumenta a exposição de seus grupos polares e apolares. Com isso, as interações proteína-proteína aumentam, formando-se uma nova rede proteica, provavelmente similar a que se forma durante a desnaturação de proteínas globulares e a gelificação. Quando a cremificação é muito intensa, a re-associação proteica atinge níveis muito elevados, resultando numa estrutura compacta, que já não é capaz de reter água e gordura adequadamente. (LEE *et al.*, 2003; VAN DENDER *et al.*, 2006).

A qualidade do leite empregado exerce forte influência no processamento e nas características básicas desses produtos, a saber, aparência, consistência, textura, sabor, aroma e na sua vida de prateleira (MORENO *et al.*, 2006). Atualmente, trabalha-se com leite desnatado devido às perdas de gordura no soro durante o repouso necessário à coagulação, sendo perdida no soro durante a etapa denominada dessoragem (OLIVEIRA, 1990; VAN DENDER, 2006). Quando se utiliza leite cru, não há necessidade da adição de fermento, o leite apenas permanece em repouso, em latões ou tanque próprio, por aproximadamente 10 horas à temperatura ambiente (20°C), sendo obtida ao fim uma coalhada (SILVA e FERNANDES, 2003).

Uma vez obtida a matéria-prima, parte-se para elaboração da massa, que será submetida à fusão com adição dos demais ingredientes para fabricação do requeijão cremoso. Em termos gerais, propriedades de fusão referem-se à capacidade que as partículas do queijo possuem de se unirem umas às outras, de forma uniforme quando submetidas ao aquecimento, formando uma fase contínua (VAN DENDER, 2014). A fusão adequada depende de vários fatores, como as características da massa, com relação à acidez e ao equilíbrio salino entre o cálcio e o caseinato, e outros fatores, como temperatura, duração do processo, vapor, vácuo, homogeneização, tempo de fusão, tipo e quantidade de sais fundentes utilizados (VAN DENDER, 1997; 2001).

Sal fundente é um composto capaz de inativar o íon cálcio, o qual determina a estabilidade da massa na forma gel, bem como de peptizar a caseína, ou seja, forma fragmentos de caseína solúvel. Um sal fundente deve apresentar as seguintes características: ser um agente capaz de converter, pela ação do calor, a massa granular em uma emulsão suave, cremosa e fluida; ter efeito regulador de pH; ter efeito tampão; permitir que, ao esfriar, a emulsão solidifique formando um queijo de corpo firme, textuura suave e com boas características de corte ou de untabilidade; não influir no paladar e no aroma do produto final; não se decompor ou recristalizar durante o

armazenamento do queijo processado; ser solúvel em pouca água e ter ação bacteriostática (VAN DENDER, 2014).

A massa utilizada pode ser constituída de queijos maturados ou não, de massa fresca obtida da coagulação do leite, seguida de dessoragem e massas pré-fundidas. No Brasil, utiliza-se basicamente queijo de massa fresca (VANDENDER, 2014).

O pH da massa no momento da fusão é um fator fundamental, pois determina a consistência do produto final. Desta maneira, seja qual for o tipo de processo usado para obter a massa, o pH deve ser corrigido para um valor entre 5,4 e 6,2. Sem essa correção, não é possível obter uma fusão homogênea (Fernandes, 1981; Berger *et al.*, 1989). O ajuste do pH depende do tipo de queijo que será processado. Assim, se o objetivo é fabricar um queijo processado com corpo firme, o pH deve ser menor que 5,7; se, por outro lado, deseja-se um queijo com consistência macia e untavel, o pH deve ser maior que 5,7 (FERNANDES, 1981).

De modo geral, na fabricação industrial de requeijão cremoso, a obtenção da massa fresca pode ser efetuada basicamente por três processos: o tradicional, por adição de culturas lácteas (coagulação ácida por fermentação), acidificação direta do leite aquecido, em que se adiciona ácido láctico ao leite aquecido e a coagulação enzimática, em que a massa é obtida por adição da renina (OLIVEIRA, 1990). As massas obtidas em cada caso apresentam características diferentes, o que irá influenciar as etapas posteriores do processamento (FERNANDES e MARTINS, 1980).

Na coagulação ácida por fermentação, a acidificação do leite ocorre por meio da adição de uma cultura mesófila acidificante, composta normalmente por *Lactococcus Lactis ssp. lactis* e *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, a qual utiliza a lactose do leite como substrato. Já no processo de fabricação de queijos por meio da coagulação enzimática, emprega-se coalho rico em enzimas proteolíticas de origem animal, extraído do abomaso de bovino lactente ou adulto. Para se obter a fusão desse coágulo enzimático é necessário que haja uma remoção do cálcio bivalente, que se encontra ligado às moléculas de caseína, o que ocorre por meio de uma troca iônica entre o cálcio do paracaseinato e o sódio, a qual é geralmente induzida pela adição de sais fundentes. Esses sais (citratos ou fosfatos de sódio) têm a capacidade de sequestrar o cálcio bivalente tornando o paracaseinato mais solúvel pela entrada de sódio monovalente na sua molécula. Quando a massa é obtida no processo de acidificação direta à quente do leite, os efeitos da acidez e do calor sobre as proteínas do leite somam-se, ocorrendo aumento do ponto isoelétrico das frações de caseína com a elevação da temperatura do leite, resultando em um valor denominado de ponto isoelétrico aparente e a precipitação ocorre em um pH maior que 4,6. A coagulação completa das proteínas do leite aquecido depende das forças ativas de coesão, adesão e hidratação aplicada às partículas proteicas, o que é bastante influenciado pela quantidade de ácido adicionada. O aumento do ponto isoelétrico ocorre devido à associação das frações de caseína com as proteínas do soro (VAN DENDER, 2006).

Como a coagulação das proteínas do leite é efetuada quase que imediatamente após a adição do ácido láctico, a dessora é realizada logo após a completa precipitação a 80°C, seguida da prensagem (RAPACCI, 1997). A massa, assim obtida, é submetida à moagem, que possibilita o contato íntimo do sal fundente com a mistura da massa durante o processamento, seguida da adição dos ingredientes e o processo de fusão propriamente dito.

RAPACCI (1997) afirmou que a acidificação direta a quente demonstrou ser uma técnica bastante prática de coagulação de proteínas do leite, a redução do tempo e simplicidade do método de obtenção da massa, quando comparada como processo de acidificação por fermentação láctica. Alguns estudos têm investigado outras possibilidades para a obtenção da massa de requeijão. GIGANTE (1998) estudou a fabricação de requeijão cremoso a partir de retentados obtidos pela ultrafiltração de leite preacidificado, e verificou que os produtos apresentaram ótima aceitação sensorial.

#### **4.3.1 TECNOLOGIA BÁSICA DE FABRICAÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO**

Segundo VAN DENDER (2006), as principais etapas envolvidas na produção de queijos fundidos em geral são as seguintes: descascar, cortar e ralar os queijos; misturar as matérias-primas no tacho de fabricação com acréscimo de outros produtos lácteos; adicionar, no máximo 3% de sais fundentes; fundir a 85-90°C por aproximadamente 8 a 12 minutos; submeter opcionalmente, a mistura a um tratamento térmico UHT (135-145°C/5-10s); envasar a mistura líquida e quente (temperatura superior a 71°C) usando diversos tipos de materiais de embalagem; resfriar o produto embalado e, finalmente, estocar em temperatura apropriada.

A temperatura de fusão é um fator muito importante, pois o calor influencia a peptização da caseína e a estrutura do produto final. O tempo necessário para a fusão depende do equipamento utilizado, do tipo de matéria-prima, das propriedades desejadas no produto final e do tipo e quantidade de sal emulsificante usado (MEYER, 1973; ZEHEN & NUSBAUM, 1992). A cremificação é consideravelmente maior quando a temperatura é aumentada de 70°C para até cerca de 90 °C (FERNANDES, 1981). De acordo com VALLE (1981), recomenda-se o uso de temperaturas superiores a 75°C, para assegurar a pasteurização do produto. Uma vez que o requeijão cremoso é submetido a um tratamento térmico que pode substituir a pasteurização do leite, sob o ponto de vista higiênico-sanitário, não há exigência de pasteurização da matéria-prima. Porém, sob o ponto de vista tecnológico, a pasteurização, seguida de inoculação com cultura láctica apropriada, permite uma garantia no controle do processo fermentativo da coagulação, o que leva à obtenção de um produto de qualidade padronizada (VAN DENDER, 2006).

Quando ainda quente, o requeijão é fluido e nestas condições é então envasado (OLIVEIRA, 1990). O resfriamento deste produto deve ser feito o mais rápido possível e normalmente é realizado abaixo de 10°C, embora a utilização destas temperaturas possa promover a formação de cristais (VAN DENDER *et al.*, 2006). O resfriamento pós-processamento



varia conforme o tipo de queijo fundido. Queijos cremosos devem ser resfriados rapidamente para interromper a cremificação da massa e garantir que o produto mantenha a cremosidade ideal (FERNANDES, 1981). Com relação ao armazenamento do requeijão cremoso, este requer refrigeração da mesma forma que a maioria dos queijos processados, entretanto, a sua conservação é bem maior quando mantido hermeticamente fechado (RAPACCI, 1997).

#### 4.4. MERCADO BRASILEIRO

A produção de queijos processados tem-se mantido relativamente estável desde 1990 e em 2005 o total da produção de queijos processados nos Estados Unidos foi de aproximadamente 1014 milhões/Kg (IDFA, 2006). O consumo de queijos por brasileiros vem crescendo, e aumentou em 30% entre 2000 e 2008. Atualmente, uma pessoa adulta consome em média 3,4Kg/ano, em comparação com 2,6Kg/ano em 2006 (LIMA FILHO e POMBO, 2010).

Com relação ao mercado de queijos e produtos lácteos, a produção brasileira aumentou e com isso a produção de requeijão também. A produção do requeijão cremoso aumentou no período de 1991-2011 de 9.350 toneladas para 72.100 toneladas conforme dados fornecidos pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ, 2012; VAN DENDER 2012a), o que demonstra o seu potencial como alimento de consumo diário e constante na dieta da população brasileira.

Segundo Barros *et al.*, (2002) foram comercializados em 2002, 49.247 toneladas de requeijão, perfazendo 11,9% da produção total de queijos. Desses 11,9% referem-se ao requeijão cremoso 7,1%. Nos últimos 12 anos, o crescimento da produção de requeijão cremoso foi de 119,26%.

#### 4.5. REDUÇÃO DE SÓDIO

As doenças não transmissíveis são as principais causas de morte em todo mundo. Em 2005, as doenças cardiovasculares foram responsáveis por 30% de todas as mortes o equivalente a doenças infecciosas. A pressão arterial elevada e a hipertensão são fatores de risco para doenças cardiovasculares e estima-se que contribuam para 49% de todas as doenças coronarianas (WHO, 2009).

O consumo diário médio atual de sódio nos Estados Unidos é mais do que 3.400 mg/dia, bem acima do nível de ingestão básica recomendada de 2.300mg/dia (KUHN, 2010). Em resposta à pressão pública para reduzir o teor de sódio, não só nos Estados Unidos, mas em todo mundo, os fabricantes de alimentos estão estabelecendo metas para reduzir os níveis de sal em seus produtos ao longo dos próximos anos (KATZ; WILLIAMS, 2010).

O cloreto de sódio (NaCl), comumente chamado de sal de cozinha, é composto por 40% de sódio, sendo a principal fonte deste mineral na dieta humana. Assim como o potássio, participa de uma série de funções metabólicas essenciais no corpo humano e tem um papel importante de

regular os fluidos celulares, manutenção do volume plasmático, equilíbrio ácido-base e equilíbrio da água no interior da célula (BRASIL, 2005; DOULE e GLASS, 2010.; TAAL *et al.*, 2011). No entanto, o excesso de ingestão desse nutriente tem sido com a elevação da pressão arterial, que é considerada um problema de saúde pública, e é um fator de risco para doenças cardiovasculares, enquanto o consumo de potássio diminui o risco dessas doenças (REDDY *et al.*, 2004).

O sódio é atualmente o principal foco das políticas públicas de saúde em todo mundo que visam prevenir e controlar a hipertensão (HE, BURNIER, e MACGREGOR, 2011; MCLEAN, HOEK, e HEDDERLEY, 2012; WYNESS, BUTRISS, e STANNER, 2012).

Estudos demonstram que o consumo de sal aumenta progressivamente durante a infância e a adolescência, e se mantém constante na fase adulta (CRUZ *et al.*, 2011a). Em uma pesquisa realizada com estudantes de 13 a 15 anos foi verificado que 23,2% deles se apresentam com sobrepeso ou obesidade o que representa preocupação, considerando que o excesso de peso, assim como o consumo de álcool são fatores que também estão associados à hipertensão arterial (CRUZ *et al.*, 2011a). Assim, o consumo de sódio deve ser limitado, considerando todas as fontes na dieta, como por exemplos aditivos e conservantes, a fim de reduzir os riscos de saúde causados pelo consumo excessivo desse mineral. Dessa forma, a Organização Mundial da Saúde recomenda que o consumo de cloreto de sódio não deva exceder 5g por dia (WHO/FAO, 2003).

NANCY *et al.*, (2013), realizaram um estudo sobre os efeitos da ingestão de sódio e mostraram que a diminuição no consumo de sódio reduz a pressão arterial e constatou uma associação significativa entre a ingestão de sódio com acidente vascular cerebral e eventos coronarianos.

No Brasil é estimado que o consumo pela população exceda em mais de duas vezes esse valor, sendo necessárias campanhas que informem a população sobre a importância de reduzir a quantidade de sal adicionado nos alimentos, assim como a redução da quantidade de sal adicionado em alimentos processados (SARNO *et al.*, 2009). De fato, estima-se que 25% da população adulta brasileira, 50% após os 60 anos e 5% das crianças e adolescentes são acometidos pela hipertensão. A pressão arterial alta é responsável por 40% dos infartos, 80% dos derrames e 25% dos casos de insuficiência renal terminal. (BRASIL, 2010). Dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2002/03, demonstraram que o consumo individual de sal no Brasil foi de 9,6 gramas por dia, quase o dobro recomendado pela OMS. Acredita-se que esse valor esteja subestimado, uma vez que não foi mensurado o consumo extradomiciliar, e como a maioria do sal está contida nos alimentos industrializados, a redução no consumo exigirá mudanças nas práticas de industrialização de alimentos (BRASIL, 2008).

Dessa forma, na Portaria 3092/2007, o Ministério da Saúde (MS) propõe a redução gradativa dos teores de sódio em alimentos processados (BRASIL, 2007). Em termo de compromisso elaborado junto às principais associações da indústria alimentícia, o MS

compromete-se a elaborar, em parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Plano Nacional de Redução do Consumo de Sal, a monitorar o teor de sódio nos alimentos processados, a acompanhar as tendências de consumo alimentar da população e a avaliar o impacto da redução desse consumo nos custos do Sistema Único de Saúde (SUS) e na incidência de doenças crônicas (BRASIL, 2011). Foi determinado que produtos alimentícios processados com teor de sódio igual ou superior a valores 400mg/100g são considerados produtos com elevados teores deste micronutriente, enquanto valores abaixo de 120mg/100g classificam o produto com baixo teor de sódio (BRASIL, 1998).

O requeijão cremoso, tradicionalmente apresenta elevado teor de sódio em sua composição, na medida em que há necessidade da adição de sais fundentes, que são em sua grande maioria sais de sódio bem como há adição de cloreto de sódio na sua formulação (CRUZ *et al.*, 2011b; ZACARCHENCO *et al.*, 2009). Isto tem se refletido nos produtos comerciais, que apresentam variação excessiva no que diz respeito ao nível desse elemento sendo observada variação de 511% entre valores declarados nos rótulos dos produtos (RAMOS *et al.*, 2012).

#### 4.6. REDUÇÃO DE SÓDIO E QUEIJOS

A redução do teor de cloreto de sódio em queijo apresenta desafios específicos para fabricantes de queijo, pois o sal tem muitos papéis importantes. Tem sido um componente integral no queijo, utilizado para manter o sabor esperado, o corpo, textura e vida de prateleira, controlando as atividades de enzimas e micro-organismos, (JOHNSON, 2009).

As autoridades sanitárias recomendam que o consumo de sódio não deve ser superior a 200 mg por dia (OMS, 2011). A principal estratégia adotada pelas agências do governo é criar acordos com empresas de alimentos processados para redução gradual do teor de sódio de seus produtos. No Brasil, o Ministério da Saúde determinou que 16 produtos, incluindo alguns produtos lácteos, deve apresentar redução em seu conteúdo de sódio até 2010 (BRASIL, 2011).

Dentre os produtos lácteos, o queijo apresenta contribuição decisiva no consumo de sódio (MHURCHU, 2011; MOSHFEGH *et al.*, 2012), sendo observado que os níveis de sódio determinados de forma analítica não são condizentes com o exposto no rótulo do produto; sendo reportado variação de 125% e 106% para queijo Minas frescal nas versões integral e *light*, respectivamente (SILVA e FERREIRA, 2010). Resultados similares foram observados para queijos *cheddar*, mussarela e queijo processado, queijos populares nos Estados Unidos, sendo verificado que os fabricantes desses tipos de queijos necessitarão reformular seus processos a fim de atender as recomendações mundiais das Agências de Saúde (AGARWAL *et al.*, 2011).

Queijos disponíveis no Brasil têm alto teor de sódio, o que sugere a necessidade de reformulação por parte dos fabricantes. Considerando-se que o tamanho da porção e frequência de consumo para queijos varia entre os consumidores, estes resultados são bastante alarmante

de um ponto de vista de saúde pública, como queijo, contribui significativamente para o consumo de sódio da população (FELICIO, 2013).

Os três principais ingredientes que contribuem para o aumento do teor de sódio em queijo processado são: sais de emulsionantes à base de sódio, e o sal adicionado. Por isso, iniciativas de redução de sódio em queijo fundido envolvem principalmente a modificação de um ou todos os dois ingredientes durante formulação e fabricação de queijo processado (JHONSON, 2010). Inúmeros esforços de pesquisa no passado foram direcionados para o desenvolvimento de queijo naturais com baixo teor de sódio como um ingrediente para o queijo processado (KARAHADIAN, LINDSAY 1984; METZGER E KAPOOR 2007). Os esforços têm também sido dirigidos para o desenvolvimento de novas formulações a fim de utilizar os sais de potássio à base de emulsão como substitutos do sal, e outros intensificadores de sabor sem causar um efeito prejudicial sobre o sabor, e as propriedades funcionais do queijo processado (GUPTA, *et al.*, 1984; KARAHADIAN, LINDSAY, 1984; HENSON, 1997; METZGER, KAPOOR 2007).

A adição de cloreto de sódio (NaCl) no processo de fabricação de queijo, também contribui para a sua segurança, foi relatado que uma redução de 50% no teor de NaCl do queijo afeta sua estabilidade microbiológica e facilita a sobrevivência de patógenos, como Salmonella e Listeria monocytogenes (ILHAK, OKSUZTEPE, CALICIOGLU e PATIR , 2011; SHRESTHA, *et al.*, 2011).

A substituição do cloreto de sódio por outros sais, ou a sua simples redução implica em diversas barreiras no processamento de queijos, com reflexos na qualidade físico-química, reológica e funcional e sensorial do produto (CRUZ *et al.*, 2011a). O sal modifica as interações entre as proteínas, a atividade de água do queijo, as características físicas e de funcionalidade do queijo, além de interferir na atividade microbiana (PASTORINO *et al.*, 2003). Uma opção tecnológica bastante difundida é substituir o NaCl por cloreto de potássio (KCl) para reduzir o teor de sódio dos alimentos. O KCl auxilia a manter o gosto salgado, pode reduzir o teor de sal nos alimentos em até 25%, sem perdas na palatabilidade (FLATCHEL, 2008).

JOHNSON *et al.* (2009), resumiram que inúmeros esforços de pesquisa no passado foram direcionados para o desenvolvimento de queijo natural com baixo teor de sódio, como ingrediente para fabricação de queijo processado reduzido de sódio. Esforços também foram direcionados para a mistura adequada de cloreto de potássio como sais emulsificantes. GUPTA; KARAHADIAN; LINDSAY (1984) avaliaram os efeitos de vários sais em relação ao sabor e textura e concluíram que alguns emulsificantes a base de potássio funcionam adequadamente em queijos processados. Os autores relataram também que apenas o uso do ortofosfato de potássio que não foi bem sucedido. Como potássio apresenta diversas vantagens dietéticas (NAISMIT; BRASCHI, 2003), pode ser adicionado aos queijos na forma de cloreto de potássio ou como parte de um sal dietético (NAISMITH; BRASCHI, 2003).

#### 4.7. REQUEIJÃO PROBIÓTICO REDUZIDO DE SÓDIO

A organização das Nações Unidas para Agricultura e a Alimentação, bem como a Organização Mundial de Saúde, já afirmavam em 2001 que existem evidências científicas adequadas indicando o potencial dos alimentos probióticos em fornecer benefícios à saúde, além da existência de linhagens seguras para o consumo humano (OTIENO, ASHTON e SHAH, 2005).

A elaboração de produtos lácteos utilizando micro-organismo probiótico depende do conhecimento de diversas áreas da ciência e tecnologia de alimentos. O maior desafio associado com a aplicação de culturas probióticas no desenvolvimento de alimentos funcionais é a manutenção de sua viabilidade durante o processamento. Microrganismos probióticos devem ser também, tecnologicamente adequados para incorporação nos produtos alimentícios, de forma que eles retenham viabilidade e eficácia no produto alimentício durante a sua vida de prateleira (STANTON *et al*, 2003). Para queijos probióticos, isto significa conhecimento obrigatório de todas as etapas de seu processamento, bem como sobre a sua influência - positiva ou negativa - sobre a sobrevivência desses micro-organismos durante a sua vida de prateleira, bem como seu impacto sobre a qualidade intrínseca do produto (CRUZ *et al*, 2009).

O requeijão cremoso tem sido demonstrado como matriz alimentícia carreadora de diversos micro-organismos probióticos entre eles *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium animalis* tem sido previamente reportado (DRUNKLER *et al.*, 2009; GAINO *et al.*, 2012) desde que exista uma adaptação do processamento. Em particular, o envase que tradicionalmente ocorre a altas temperaturas (aproximadamente 90°C) e é realizado depois do cozimento da massa, deve acontecer após seu resfriamento a temperaturas mais baixas (50-45 °C) para posterior adição da cultura probiótica. O uso da microencapsulação de bactérias probióticas, como proposto neste trabalho pode apresentar como alternativa interessante, pois pode possibilitar que o envase do produto seja realizado a quente, ainda que uma temperatura menor de fusão seja realizada na massa. Tem sido mostrado que o processo de microencapsulação pode conferir uma proteção as bactérias próbioticas quando elas são submetidas a temperaturas na faixa 60-70°C. (MANDAL, *et al.*, 2006; DING, SHAH, 2007).

FRITZEN-FREIRE *et al.*, (2013), afirmaram que as bactérias probióticas encontram dificuldades de viabilidade perante as condições de temperatura e pressão osmótica durante o processo de secagem por atomização. Isto está associado com o estresse proporcionado pela temperatura de processamento e mudanças bruscas da fase de secagem, sendo uma combinação que confere danos às membranas celulares e proteínas do micro-organismo.

Trabalhos envolvendo queijos com reduzido teor de sódio com bactérias probióticas apresentam-se em ascensão (HOFFMANN *et al.*, 2012; KAMLEH *et al.*, 2012; GOMES *et al*, 2011; AYYASH e SHAH, 2011 a,b; ČERNÍKOVÁ *et al.*, 2010) sendo relacionados a queijos de alto consumo nos respectivos países. No requeijão cremoso, objeto de estudo desse trabalho, a adição de uma mistura de sais fundentes (1,0% de JohaS9, base fosfato de sódio e 1,2% de Joha

SK75, base fosfato de potássio e sódio) e adição de sal *light* no processamento tornou o produto com bons scores em teste hedônico nos atributos sabor, espalhabilidade, consistência na colher e aceitação global sendo compatível com a formulação adicionada somente de cloreto de sódio (VAN DENDER 2010, 2012b).

O uso da microencapsulação possibilita que haja mínima mudança do processo original e principalmente que sejam evitadas problemas potenciais de deterioração microbiológica do produto, na medida em o tempo de espera entre a fusão e o resfriamento a 50°C pode proporcionar a sobrevivência e possível multiplicação de bactérias esporuladas como *Bacillus sp* e *Clostridium sp*, que tem sido relatados como constituintes intrínsecos da microbiota do leite cru. Adicionalmente, até o presente momento, trabalhos que avaliem o comportamento de bactérias probióticas nos diversos parâmetros de qualidade do requeijão cremoso reduzido de sódio (perfil de ácidos graxos, produção de ácido conjugado linoléico e ácido orgânicos, proteólise utilizando o de perfil proteolítico, e voláteis usando espectrometria de massas) ao longo de todo o período de estocagem não são relatados, sendo por isso inexistente. Conseqüentemente, isso demonstra a relevância deste estudo, no sentido de aumentar o caráter funcional do requeijão, o qual aliado a uma dieta saudável do ponto de vista alimentar, bem como a prática constante de exercícios físicos, pode se constituir como matriz alimentícia capaz de fornecer benefícios para a saúde do consumidor. GAINO *et al.* (2012) avaliaram a viabilidade de *Lactobacillus casei* e os autores concluíram que o requeijão cremoso apresenta-se como um produto adequado para a adição de micro-organismo probiótico.

#### 4.8. MICROENCAPSULAÇÃO

Microencapsulação é um processo que permite recobrir materias sólidos ou pequenas gotas de materias líquido ou gasoso, formando cápsulas em miniaturas as quais podem liberar seu conteúdo sob velocidade controlada e/ou sob condições específicas (JIZOMOTO *et al.*, 1993; CHAMPAGNE *et al.*, 2007; FAVARO-TRINDADE *et al.*, 2008; FRITZEN-FREIRE *et al.*, 2013).

O material encapsulado é denominado de núcleo ou recheio, e o material que forma a cápsula, encapsulante, cobertura ou parede (GIBBS,199). As cápsulas podem ser classificadas por tamanho em três categorias: macro- (>5.000 µm), micro- (0,2 – 5.000 µm) e nanocápsula (<0,2 µm). A forma da microcápsula é bastante variável e depende do método e do agente encapsulante utilizado durante a preparação (JACKSON e LEE, 1991). Dependendo da característica de composição, esses fatores podem ser alterados para atender distintos mecanismos de liberação do núcleo, tamanho da partícula, morfologia e custo, referentes à aplicação específica das microcápsulas (DESAI e PARK, 2005).

As microcápsulas podem ser projetadas para liberação gradual de ingredientes ativos em áreas específicas do organismo (CHAMPAGNE *et. al.*, 2011). Os mecanismos de liberação do material ativo microencapsulados podem variar de acordo com a natureza do agente encapsulante

e com o método empregado para produzir a encapsulação, sendo que normalmente ocorre devido variação de temperatura e de pH, solubilidade do meio, ruptura mecânica, dissolução em solventes, biodegradação, ação de enzimas, permeabilidade seletiva e gradiente de concentração existe em relação ao meio de liberação (BRANNON-PEPPAS, 1993; REINECIUS, 1995; GOUIN, 2004; FAVARO-TRINDADE, 2008).

HEGENBART (1993) destacou que a técnica de microencapsulação deve apresentar as seguintes características, mantendo sua eficiência em relação ao meio externo: (a) Proteção contra luz, temperatura, umidade e oxigênio; (b) Liberação controlada e gradativa sob condições de pH e (c) Facilidade de manuseio e estocagem.

A técnica de encapsulação pode ter diversas aplicações na indústria de alimentos, podendo ser utilizada para estabilização de material encapsulado, controle de reações oxidativas, liberação controlada, mascarar sabores ou odores indesejáveis e proteger compostos de valores nutricional aumentando sua vida útil (FÁVARO-TRINDADE *et al.*, 2008).

Dentre os materiais que tem sido encapsulado, estão: ácidos, bases, óleos, vitaminas, sais, gases, aminoácidos, óleos essenciais, aromas, edulcorantes, enzimas, peptídeos bioativos e micro-organismos probióticos (AUGUSTIN *et al.*, 2001; FAVARO-TRINDADE, 2008).

Tem sido proposto para diversos produtos lácteos fermentados para melhorar a viabilidade dos micro-organismos nos produtos e no trato gastrointestinal. A proteção das células contra bacteriófagos no interior da cápsula e o amentor da sobrevivência dos micro-organismos durante a liofilização, congelamento e armazenamento (RAO *et al.*, 1989, CHAMPAGNE *et al.*, 1992, SHEU e MARSHALL, 1993, ROKKA; RANTAMAKI, 2010).

Os alimentos funcionais contendo bactérias probióticas estão se tornando cada vez mais popular por causa dos benefícios de saúde atribuídos aos probióticos (SANDERS; MARCO, 2010). A microencapsulação de probióticos tem sido amplamente empregada nos últimos anos, com objetivo de promover proteção, manutenção da viabilidade da bactéria, durante toda vida útil do produto, liberação controlada no sitio de ação do micro-organismo e diminuição da multiplicação no alimento, prevenindo alterações sensorias (SHIMA *et al.*, 2009; FAVARO-TRINDADE; HEINEMANN; PEDROSO, 2011).

Os probióticos encapsulados devem ser finalmente lançados no microambiente do intestino através de diversos meios, tais como mudanças no pH, atividade enzimática, ou força osmótica, para promover a sua colonização no intestino (HEIDEBACH *et al.*, 2012).

O material de revestimento deve possuir algumas características, deve ser capaz de resistir às condições ácidas no estômago, permitindo que os ingredientes ativos possam permear o estômago de forma intacta (CHAMPAGNE *et al.*, 2011).

De acordo com KAILASPATHY (2002), a tolerância as condições ácidas do estômago e aos sais biliares são os principais requisitos de funcionalidade a serem avaliados, uma vez que o

ambiente intestinal age como uma barreira física a esses micro-organismos, acarretando perda significativa na viabilidade.

Vários polímeros como alginato, carragena, goma arábica, e ágar; carboidratos amido, amidos modificados, dextrinas e sacarose; as celuloses, carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose; os lipídeos parafina, mono e dialcilgliceróis, óleos e gorduras; os materiais inorgânicos sulfato de cálcio e silicat; as proteínas do glúten, caseína, gelatina e albumina são aplicadas utilizando várias técnicas de microencapsulação (GOULIN, S. 2004; FAVARO-TRINDADE, 2008). Sendo os polissacarídeos como alginato, carragena e amido os mais empregados na microencapsulação de bifidobactérias e lactobacilos (ROKKA; RANTAMAKI, 2010).

O alginato é um polissacarídeo muito utilizado com agente encapsulante, visto que não é tóxico, apresenta baixo custo e forma facilmente uma matriz ao redor das células. Uma desvantagem apresentada por esse polissacarídeo é a formação de poros na superfície das cápsulas, tornando-as sensíveis as condições ácidas do meio (MORTAZAVIAN *et al.*, 2007).

Diversos pesquisadores estão evitando esse problema utilizando uma combinação desse polissacarídeo com outros compostos poliméricos para recobrir as cápsulas com objetivo de garantir maior efeito protetor aos micro-organismos (KRASAEKOOPT *et al.*, 2004; GBASSI *et al.*, 2009; CHÁVARRI *et al.*, 2010).

Segundo ANAL e SINGH (2007), a encapsulação de probióticos em polímeros biodegradáveis possui uma série de vantagens. As células probióticas tornam-se mais fáceis de manusear do que estando em suspensão ou emulsão e o número de células no interior das microcápsulas pode ser quantificado, permitindo que a dose possa ser devidamente controlada.

Diversas técnicas podem ser utilizadas para encapsulação de probióticos, sendo que a seleção do método é dependente da aplicação que será dada à microcápsula, do tamanho médio da partícula que se espera obter, do mecanismo de liberação e propriedades biológicas e físico-químicas, tanto da cultura quanto do agente encapsulante, da estabilidade da atividade biológica, do organismo ou substância a ser encapsulado (COOK *et al.*, 2012).

Entre as técnicas utilizadas para elaboração de microcápsula e encapsulação de probióticos, estão as técnicas de: atomização ou *spray drying*, *spray cooling*, coacervação ou técnica de separação de fases, extrusão, recobrimento em leite fluidizado, lipossomas, complexação por inclusão, método eletrostático (ANAL e INGH, 2007; FAVARO-TRINDADE, 2008; ROBERTS e KMORR, 2009).

Nem todas as técnicas existentes, se adequam à microencapsulação de probióticos, pois algumas fazem uso de solventes orgânicos, que podem ser tóxicos para estes micro-organismos. Outros fatores limitantes são o tamanho das células (1 a 5 µm), que impedir a obtenção de partículas na escala nano, e o custo, que representa um obstáculo para utilização do ingrediente



encapsulado pelas indústrias alimentícias (FAVARO-TRINDADE; HEINEMANN; PEDROSO, 2011).

A microencapsulação por atomização é a tecnologia mais comumente usada na indústria de alimentos, devido ao seu baixo custo, a disponibilidade de equipamentos, alta reprodutibilidade e alta taxa de produção (MURUGESAN; ORSAT, 2011). No entanto, o processo de secagem por pulverização está associado com mortalidade celular elevada resultante da desidratação simultânea e inativação térmica dos micro-organismos probióticos, devido a utilização de altas temperaturas ou solventes orgânicos (ANAL; SHING, 2007; LAMBERT *et al.*, 2008).

Devido à natureza delicada de muitas bactérias probióticas, a sobrevivência em números suficientemente altos durante a estocagem e passagem pelo trato gastrointestinal permanece sendo um dos maiores desafios para entrega efetiva dessas bactérias benéficas (ANNAN; BORZA; HANSEN, 2008). Frente a isto, vários estudos têm sido realizados, com objetivo de verificar o efeito benéfico da microencapsulação sobre a viabilidade da cultura probiótica, durante a estocagem do produto e passagem pelo trato gastrointestinal.

A microencapsulação de probióticos, em alginatos, por extrusão, tem mostrado bons resultados sobre a sobrevivência das células, durante estocagem (FAVARO-TRINDADE; HEINEMANN; PEDROSO, 2011). Segundo ZHAO (2008) a encapsulação de *L. acidophilus* em goma dextrina proporcionou maior vida de prateleira da cultura.

LATINEN *et al.* (2007) imobilizaram *bifidobactérias* em uma matriz lipídica, a base de manteiga de cacau, o que resultou em um aumento da viabilidade da bactéria durante estocagem, em modelos simulando bebidas fermentadas e não fermentadas. GEREZ *et al.* (2012) mostraram que o *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 aprisionado em partículas de gel de pectina revestidas com proteína do soro de leite aumentou a sobrevivência dos micro-organismos após exposição a condições gástricas (pH 1,2-2,0).

BILIADERIS; MOSCHAKIS; LOULOUDA (2014) realizaram um estudo de microencapsulação de *L. paracasei* E6 e *L. paraplantarum* B1 utilizando a técnica de coacervação complexa, e avaliaram a viabilidade destes micro-organismos, mostraram que houve um rendimento elevado de encapsulamento e melhoria da viabilidade dos micro-organismos quando expostos a um ambiente de baixo pH (pH 2,0) e durante o armazenamento de refrigeração (pH 4,0, 4°C, mais de 60 dias) quando comparados com os respectivas células livres.

A tecnologia de spray *chilling*, utiliza lipídios como agente encapsulante e, pelo fato de não utilizar solventes orgânicos associados à utilização de lipídios com baixo ponto de fusão, como material de parede, pode ser uma alternativa para a microencapsulação de probióticos, permitindo baixo custo de operação pelo emprego de temperaturas amenas e liberação controlada do micro-organismo (GIUNCHEDI; CONTE, 1995; WESTESEN; Bunjes; Koch, 1997; GOUIN, 2004; SATO; UENO, 2005).

A microencapsulação por *spray chilling*, também conhecido por *spray cooling* ou *spray congealing*, é similar a tecnologia por *spray drying*. Fundamenta-se na injeção de ar frio para permitir a solidificação da partícula. Ocorre uma atomização entre a mistura do ingrediente ativo com agente encapsulante, formando gotículas que rapidamente se solidificam na presença do ar frio (CHAMPAGNE; FUSTIER, 2007).

Em relação à indústria de alimentos, o uso da técnica de microencapsulação tem sido intensificado devido às novas necessidades demonstradas nas formulações dos produtos. A utilização dos processos de microencapsulação de probióticos é uma alternativa promissora para solucionar os problemas que esses micro-organismos encontram no processamento de alimentos (MENEZES *et al.*, 2013). Desse modo, através de propriedades de liberação controlada, a microencapsulação deixa de ser somente um método de agregação de substâncias a uma formulação alimentícia, e se torna uma fonte de ingredientes totalmente novos com propriedades únicas (GOUIN, 2004; DESAI e PARK, 2005, ANEKELLA e ORSAT, 2013).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Material

A produção do requeijão probiótico reduzido de sódio e adicionado de culturas probióticas livres e microencapsuladas foi realizada com leite pasteurizado obtido da Cooperativa de Produtores de Leite Barra Mansa, Barra Mansa, RJ. A cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus* LA 5) foi obtida da Chr Hansen (Valinhos, São Paulo, Brazil). Esse micro-organismo possui longo histórico de uso em produtos lácteos, apresentando-se seguros para o consumo humano, com benefícios diversos relatados para a saúde além dos requisitos tecnológicos para serem considerados microrganismos probióticos (SAAD *et al.*, 2011). Os sais fundentes foram obtidos por doação pela Empresa BKG, Campinas, São Paulo SP, Brasil.

### 5.2. Produção da microcápsula

A produção da microcápsula de *L. acidophilus* (contendo aproximadamente 8 log UFC/g de *L. acidophilus* La5 ) foi realizada no Departamento de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de São Paulo (USP), campus Pirassununga e transportada até o Rio de Janeiro, utilizando isopores térmicos com gelo. Foi utilizada a técnica de *spray chilling* de acordo com método descrito por CHAMBI *et al.* (2008), com algumas modificações. Uma solução contendo gordura de palma fundida a 48°C *L. acidophilus* e lecitina (1%), como emulsificante, foi homogeneizada em Ultraturrax (IKA-T10) a 9.500 rpm, por 60 segundos. Foram avaliadas as proporções de inócuo: gordura de 1:10 e 1:4, com objetivo de atingir a menos contagem de 10<sup>7</sup> nas micropartículas. As partículas lipídicas foram formadas pela atomização da emulsão em

câmara fria, a 10°C, utilizando atomizador duplo fluido ( $\varnothing = 0,7$  mm) com pressão de ar 1,0 kgf/cm<sup>2</sup>. As micropartículas foram mantidas congeladas a -18°C até o momento da análise.

### 5.3. PROCESSAMENTO DO REQUEIJÃO

A parte experimental do projeto foi feita na planta de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRJ), campus Rio de Janeiro, sendo os procedimentos e etapas realizados de acordo com GAINO *et al* (2012) com modificações. O processamento do requeijão foi realizado em três etapas que serão realizadas de forma seqüencial: Na etapa 1 foi processado apenas o requeijão adicionado de cloreto de sódio (100%), com ausência de bactérias probióticas e sal fundente tradicional (Joha S9, 30,5% p/p de sódio, formulação I) sendo com a fusão da massa ocorrendo a 90°C/2 minutos seguido de envase a mesma temperatura. Na etapa 2, foi processado o requeijão reduzido de sódio com *L. acidophilus* livre (7-8 log UFC/g) com misturas de sal fundentes (substituição parcial do sal fundente Joha S9 pelo Joha SK75, teor de sódio 8,2%, proporção de 1,0/1,2%, respectivamente) e substituição parcial do cloreto de sódio pelo cloreto de potássio (proporção 50/50 % p/p), a fusão da massa ocorrendo a 90°C/2 minutos resfriamento a 50°C e adição do de *Lactobacillus acidophilus* La 5 livre (7-8 log UFC/g, Chris Hansen, Valinhos, São Paulo, Brazil), sob agitação. Finalmente, na etapa 3, será processado o requeijão reduzido de sódio com *L. acidophilus* microencapsulada (7-8 log UFC/g) com misturas de sal fundentes (substituição parcial do sal fundente Joha S9 pelo Joha SK75, teor de sódio 8,2%, proporção de 1,0/1,2%, respectivamente) e substituição parcial do cloreto de sódio pelo cloreto de potássio (proporção 50/50 % p/p), a fusão da massa ocorrendo a 70°C/5 minutos, seguido de envase a mesma temperatura. As cápsulas serão adicionadas no início do processo de aquecimento da massa, sob agitação.

Os produtos foram armazenados em copos de plásticos de polipropileno com tampa rosqueável e armazenados durante 60 dias sob refrigeração (T=5°C). A escolha das proporções de sal fundentes está baseada em trabalho prévio, onde verificou-se que o requeijão desenvolvido com essa formulação apresentou boa aceitabilidade sensorial, indicando seu potencial de comercialização (Van Dender *et al.*, 2012). As formulações deste projeto, contudo, serão fabricadas a partir de leite integral pasteurizado conforme figura 1.

Em ambas as etapas a massa foi obtida pelo aquecimento do leite pasteurizado padronizado até a temperatura de 70°C com a posterior adição o ácido láctico 85% (0,8% v/v, Vetec, Rio de Janeiro, RJ). O leite será mantido sob agitação lenta e contínua até completa mistura do ácido láctico, seguida de repouso até haver a precipitação da massa (coagulação ácida a quente). Em seguida, será feita a dessora com auxílio de pano de algodão e duas lavagens com água filtrada até que a massa atinja o pH de 5,2. Posteriormente, a massa será prensada e triturada, sendo os demais ingredientes pesados conforme a seguinte formulação: 40,7% de massa, 37,7% de creme de leite pasteurizado com 35% de gordura, 0,6% de cloreto de sódio,

0,6% de sal fundente e 20,3% de água filtrada, sendo os quantitativos calculados em relação ao total de massa obtida. A figura 1 mostra as etapas de processamento do requeijão cremoso.

#### 5.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas foram realizadas 24 horas após o processamento. As análises físico-químicas compreenderão composição centesimal (sólidos totais, proteínas, gordura). Todas as análises serão realizadas em no mínimo em triplicata, e estão descritas em seguida:

##### 5.4.1 pH

O pH das amostras foi determinado utilizando potenciômetro marca Digimed (São Paulo - SP), modelo DM-20, a 25°C, com determinação por inserção direta do eletrodo na amostra (BRASIL, 2006).

O método de medição do pH descrito por SPINLER E CORRIEU (1989) é amplamente usada na determinação da cinética de acidificação durante a formação do gel. Vários investigadores têm tentado otimizar o processo de acidificação para a fabricação de produtos fermentados e modelos desenvolvidos para prever a cinética de acidificação. Modelos matemáticos foram utilizados para prever a influência de temperaturas operacionais de fermentação sobre a taxa de crescimento das células, concentração de células, a taxa de utilização do substrato e da taxa de produção de ácido láctico. Como para os modelos, certo número deles, puramente empírico ou parcialmente, têm sido descritos na literatura. (SHIBY & MISHRA, 2013).

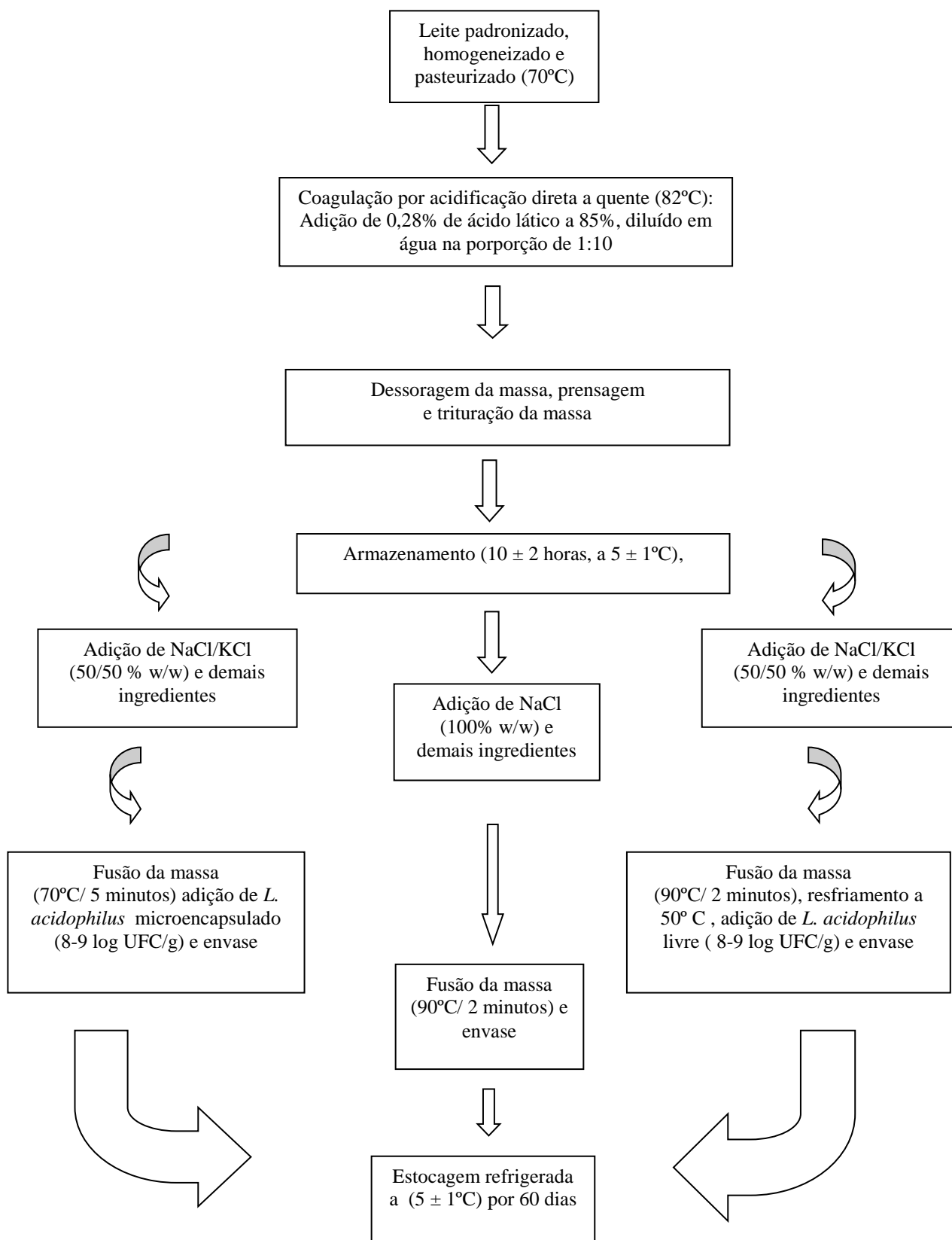
##### 5.4.2. Composição centesimal

Sólidos totais foram determinados de forma gravimétrica após 24 horas de secagem em estufa (Micronal, São Paulo, Brasil). As cinzas foram determinadas gravimetricamente após aquecimento de 2g da amostra utilizando uma mufla a 550°C. A proteína foi determinada com base no total de nitrogênio, utilizando o método de Kjeldahl com posterior multiplicação pelo fator 6,38. A gordura foi determinada utilizando o método de Gerber. Todas as análises seguiram procedimentos padronizados e foram executados em triplicata (Brasil, 2006).

##### 5.4.3 Teor de minerais

O teor de minerais foi determinado de acordo com metodologia de MORENO-ROJAS *et al.* (1993). 10 g de requeijão serão submetidas a secagem a peso constante por 24 horas em estufa de circulação de ar e depois incineradas a 460°C por 16 horas. Após resfriamento serão adicionados 2 mL de ácido nítrico 2 M e posterior incineração por mais uma hora. As cinzas obtidas do processo serão dissolvidas em 5 ml ácido nítrico 2 N, diluídas em frasco de 25 mL com

solução 0,1 M de ácido nítrico e mantida sobre refrigeração. As análises foram realizadas utilizando espectrofotômetro de absorção atômica (Spectro Analytical Instrument – Spectroflame P, Nova Iorque, Estados Unidos). Lâmpadas catódicas serão utilizadas para o magnésio e o cálcio, com exceção do sódio e potássio que foram determinados por emissão usando o mesmo instrumento.



**Figura 1** – Etapas do processamento do requeijão reduzido de sódio com bactérias probióticas livres e microencapsuladas.

## 5.5. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas utilizadas para verificar a viabilidade da cultura probiótica ao longo da estocagem nos queijos incluem a enumeração dos micro-organismos probióticos, *Lactobacillus acidophilus* La 5 sendo realizadas em 1, 15, 30, 45 e 60 dias de estocagem tanto na forma livre como microencapsulada. A metodologia a ser executada para quantificação total de microrganismos probióticos e sua respectiva referência está mostrada na Tabela 1. As contagens de *L. acidophilus* livre e microencapsulado foram determinadas em Agar MRS (Oxoid) adicionado de 0,15% de bile (Sigma). As placas foram incubadas a 37°C por 72 horas em aerobiose, com posterior contagem da população de microrganismos probióticos (VINDEROLA e REINHEIMER, 1999). Para o *L. acidophilus* microencapsulado, as microcápsulas inicialmente serão rompidas com citrato de sódio (2% p/v) em pH 7,0 sob vigorosa agitação para promover o rompimento das mesmas e liberação dos micro-organismos. Em seguida, serão realizadas diluições sucessivas em água peptonada (0,1% p/v), e plaqueamento em profundidade em placas de Petri utilizando ágar MRS. As placas serão incubadas a 37°C por 72 horas aerobiose. Todo o plaqueamento foi realizado em duplicata.

**Tabela 2** - Análise microbiológica da bactéria e probiótica.

Micro-organismo	Meio de Cultura	Procedimento
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La 5	MRS + Bile 0.15% p/v	Inoculação por profundidade, aerobiose, 3 dias, 37°C

Além disto, foi realizada a verificação da funcionalidade dos microrganismos probióticos, que consiste na sobrevivência em condições similares às condições encontradas no trato gastrointestinal; para isso foi utilizada a condição real gastrointestinal, ou seja, a condição de uma pessoa normal e saudável após o consumo de produto contendo probiótico quando a pessoa não está em jejum por um longo período de tempo. (MORTAZAVIAN *et al.*, 2008). Essa metodologia foi utilizada recentemente em sobremesa láctea adicionada de *L. acidophilus* ( FERNANDES *et al.*, 2013). De forma geral, 1 g de requeijão cremoso foi adicionado a tubos de 9 mL de solução gástrica ( pH=2,0 e 0,2% de NaCl), seguido de incubação a 37 °C/30 min. 1 ml dessa mistura foi transferido a tubos contendo 9 mL de solução intestinal ( pH=7,0 e 0.6% w/v de sais biliares) com posterior incubação a 37°C/60 min. Antes de cada plaqueamento, as amostras de requeijão contendo microcápsulas foram diluídas em citrato de sódio (2% p/v) pH 7,0 sob vigorosa agitação para rompimento das cápsulas e liberação dos micro-organismos. As análises de funcionalidade foram realizadas em 1, 15, 30, 45 e 60 dias de estocagem tanto na requeijão cremoso contendo *L. acidophilus* na forma livre como na forma microencapsulada.

## 5.6. ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi constituída de teste afetivo utilizando o requeijão controle, com 100% de cloreto de sódio e o requeijão reduzido de sódio adicionado de *L. acidophilus* nas formas livre e microencapsulada. O teste afetivo foi realizado com 120 consumidores de produtos lácteos que serão recrutados aleatoriamente no campus do Instituto Federal do Rio de Janeiro. Foram avaliados os seguintes atributos: aparência, cor, aroma, sabor, textura dos queijos utilizando escala hedônica híbrida de 9 cm, sendo os extremos da escala: 1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente (MEILGAARD *et al.*, 2007). Os efeitos first-order- carry-over serão balanceados através de delineamento publicado por MAC FIE *et al.*, (1989).

## 5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados das análises físico-químicas, microbiológicas e sensorial foram avaliados através de Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de  $p < 0,05$ , utilizando o programa XLSTAT for Windows 2012 (Adinsoft, Paris, France).

# 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 6.1. Análises Físico-Químicas

Dentre as análises físico-químicas do requeijão probiótico reduzido de sódio, as análises de umidade, proteína, gordura, sódio, cálcio e potássio foram realizadas para todos os ensaios em triplicata e os resultados médios destas estão apresentadas na Tabela 3.

**Tabela 3.** pH, umidade e proteína, conteúdo de gordura, sódio, cálcio e potássio em requeijão probiótico com *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado \*

Amostra	pH	Umidade	Proteína	Gordura	Na	K	Ca
C	6.2a	49,8a	10,5a	33,3b	12,54a	2,37b	1,45a
PL	6.13a	48,5a	10,8a	35,1a	9,66b	12,64a	1,67a
PE	6,09a	49,3a	10,9a	35,1a	9,13b	13,38a	1,65a

\*C=controle, PL=probiótico livre, PE=probiótico microencapsulado. Análises em duplicata. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. pH é adimensional. Umidade, Proteína, Gordura são expressas em g/100g. Na, K, e Ca são expressos em mg/100g.

Não foi observado diferença entre os níveis de pH, umidade, proteína e gordura entre os requeijões, sugerindo que a microencapsulação e a redução de sódio bem como a adição de probióticos não influenciaram nesses parâmetros ( $p > 0,05$ ). Os teores de gordura variaram entre 33,3 e 35,1 g/100g, resultados próximos encontrados por RUTH *et al.* (2013) que foram entre 23,25 a 35,83 g/ 100g, sugerindo que a gordura de óleo de palma presente na microcápsula não influenciou no valor desse parâmetro. Para proteínas e Umidade foi observada variação de 10,5 a 10,9 e 49,3 a 49,8 g/100g, respectivamente.



Quanto aos valores de minerais, observou-se variação significativa entre os tratamentos no que diz respeito ao teor de sódio – variação entre 9,13 a 12,54 mg/100g ( $p < 0,05$ ) e o de potássio – variação entre 2,37 a 13,38 mg/100g ( $p > 0,05$ ). Essa diferença já era previsto devido a substituição do sódio pelo potássio durante o processamento do requeijão. Não foi observada diferença entre os teores de cálcio observados entre os diferentes tratamentos, que variaram entre 1,45 e 1,65 mg/100g ( $p < 0,05$ ). Ressalta-se que os valores de sódio são muito inferiores aos valores reportado nos rótulos de requeijões comerciais brasileiros por FELICIO *et al.* (2013) sendo 652,1 mg Na/100g, o que demonstra que de fato o requeijão é um alimento processado com alto teor de sódio e há um caminho para sua reformulação por parte dos fabricantes.

Finalmente em relação ao valor de pH, observou-se variação de 6,02 a 6,20 ( $p > 0,05$ ) sem diferença significativa entre os tratamentos.

## 6.2 Aceitação Sensorial do Requeijão Probiótico

Os resultados médios obtidos no teste de aceitabilidade da aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, das amostras de requeijão probiótico reduzido de sódio adicionado de *Lactobacillus Acidophilus* livre e microencapsulado são apresentados na tabela 4. A inserção do microorganismo bem como a substituição parcial do sódio pelo potássio no requeijão probiótico, não influenciou nos parâmetros avaliados pelos consumidores, o que indica que não afetou a aceitação sensorial dos mesmos, todos apresentaram boa aceitação sensorial (notas maiores que 6 para todos os atributos avaliados, que corresponde ao faixa “ gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente ), o que evidenciou a viabilidade técnica da obtenção do requeijão probiótico reduzido de sódio.

**Tabela 4.** Análise sensorial em requeijão probiótico reduzido de sódio adicionado de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado.

Amostra	Aparencia	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
C	6,7 (0,9) a	7,1 (0,8) a	7,5(0,7) a	6,3(1,2) b	7,2(0,6) a
PL	6,9(1,2) a	6,5(1,1) b	7,0 (1,1) a	6,6(1,5) a	7,6(0,8) a
PE	7,2(0,9) a	7,2(0,4) a	7,0(1,3) a	7,4(0,7) a	6,8(0,9) a

\*C=controle, PL=probiótico livre, PE=probiotico microencapsulado Resultado expresso como média (desvio-padrão). Para cada atributo (coluna), valores seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente entre si ao nível de erro de 5%.

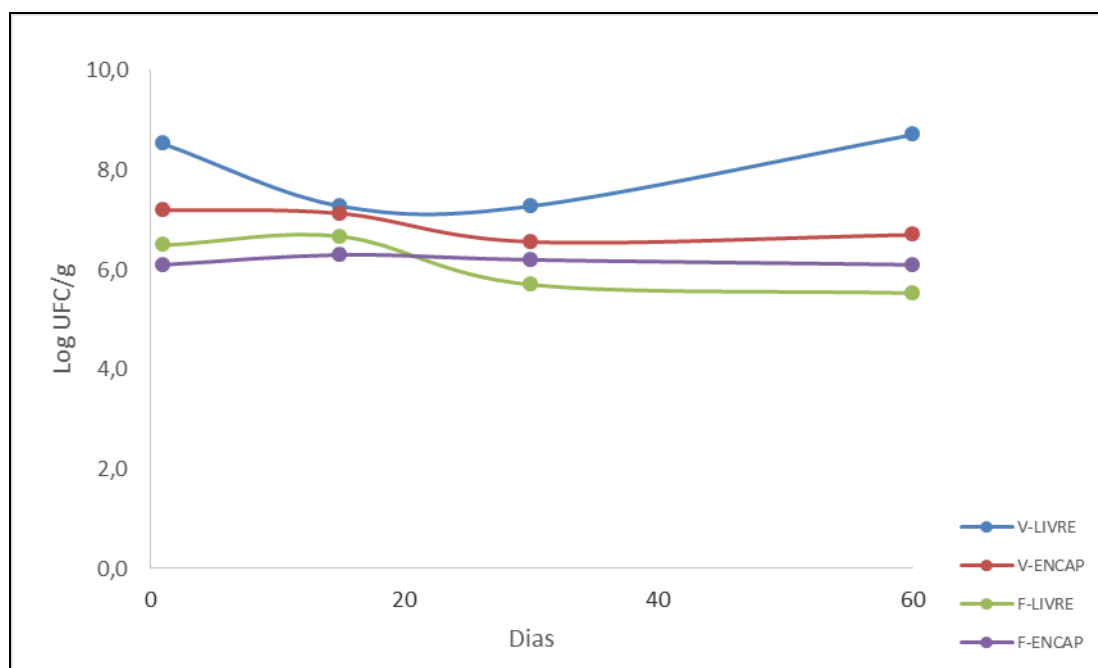
Estudos envolvendo análise sensorial de requeijão probiótico são escassos na literatura o que dificulta qualquer comparação. GAINO *et al.* (2012) efetuando a avaliação de requeijão cremoso probiótico com *Lactobacillus casei*, verificou aceitação sensorial e apresentou compatibilidade quanto aos resultados obtidos na tabela 4 no aroma, sabor e impressão global. De forma geral, nossos resultados sugerem que a adição de bactérias probióticas e redução de sódio não influenciaram os atributos sensoriais do requeijão.

### 6.3 Avaliação da viabilidade e Funcionalidade dos microrganismos

A figura 1 apresenta a população (log UFC/g) dos micro-organismos presentes no requeijão probiótico com *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado, durante 60 dias de armazenamento refrigerado.

Observa-se que tanto para forma microencapsulada quanto a forma livre houve uma redução no número de células viáveis durante o armazenamento refrigerado do requeijão probiótico embora essa redução fosse muito mais drástica no requeijão com bactérias microencapsuladas, o que pode ser, devido o aquecimento do produto que dissolve as cápsulas que foram feitas de gordura de palma. Por outro lado, a manutenção da viabilidade e funcionalidade celular é desejada, logo, a microencapsulação, consegue manter o probiótico com uma concentração de até 6 Log/UFC durante 60 dias de estocagem sem precisar alterar o processo de fabricação tradicional do requeijão, que é o envase a quente. De fato, desde a contagem inicial do microrganismo na forma encapsulada (8 log CFU/g), houve um decréscimo de dois ciclos logs que permaneceu constante ao longo de todo o período de estocagem.

Com relação à funcionalidade, que representa a sobrevivência ao trato gastrointestinal, o uso da microencapsulação por spray chilling usando como material de parede usando gordura de palma apresenta-se como uma alternativa adequada, na medida e apresentou valores em torno de 6 log UFC/g, o que sugere que o spray chilling foi eficaz em proteger a bactéria probiótica ao longo do trato gastrointestinal.



**Figura 2.** Viabilidade e Funcionalidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em requeijão probiótico.

Os resultados desse trabalho quanto à viabilidade e funcionalidade do micro-organismo probiótico vêm a corroborar com os dados da literatura que indicam, no geral, que a microencapsulação pode ser um recurso adequado para manter a viabilidade do microorganismo no requeijão por maior tempo. Os resultados de diversos trabalhos indicam que a microencapsulação pode proteger os micro-organismos probióticos contra as condições drásticas encontradas durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Diversos autores avaliaram a exposição desses micro-organismos às condições que simulam essa passagem, e obtiveram melhores resultados para os micro-organismos na forma encapsulada quando comparados aos micro-organismos livres (CHANDRAMOULI *et al.*, 2004; FÁVARO TRINDADE e GROSSO, 2000; MANDAL *et al.*, 2006; SULTANA *et al.*, 2000).

## **7. CONCLUSÃO**

O desenvolvimento de processos que possibilitam a oferta de alimentos funcionais, em especial, matrizes lácteas que sejam adicionadas de microrganismos benéficos à saúde, como os microrganismos probióticos e reduzido de sódio representa uma tendência para a moderna indústria de alimentos.

Nossos resultados mostram que o uso da microencapsulação por spray chilling apresentou-se como uma opção interessante para o processamento do requeijão probiótico reduzido de sódio, mantendo a contagem de probióticos dentro do valor recomendado para conferir benefícios a saúde do consumidor e com adequado desempenho no teste sensorial. Adicionalmente, uma nova opção de tecnologia do produto torna-se possível para a produção de um alimento funcional.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, S.; MCCOY, D.; GRAVES, P.D.; CLARK, S. Sodium content in retail Cheddar, Mozzarella, and process cheeses varies considerably in the United States. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 1608-1611, 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº19 de 30 de abril 1999. **Aprova Regulamento Técnico de Procedimentos Para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais ou de Saúde em sua Rotulagem**. D.O.U - Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 03 de maio de 1999. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/connect/> Acessado em 02 jun. 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho, 2008. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acessado em 01 nov. 2013.

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

ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v.50, p.17-24, 2013.

ANJO, D. L. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**. v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

ANNA, N. T.; BORZA, A. D.; HANSEN, L. T. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. **Food Research International**, v. 41, p. 184-193, 2008.

ANTUNES, A.E.C.; MARASCA, E.T.G.; MORENO, I.; DOURADO, F.M.; RODRIGUES, L.G.; LERAYER, A.L.S.; Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, V. 27, p. 83-90, 2007.

AYYASH, M.M.; SHAH, N.P. Proteolysis of low-moisture Mozzarella cheese as affected by substitution of NaCl with KCl. **Journal of Dairy Science**, v.94, p. 3769-3777, 2011a.

AYYASH, M.M.; SHAH, N.P. The effect of substitution of NaCl with KCl on chemical composition and functional properties of low-moisture Mozzarella cheese. **Journal of Dairy Science**, v.94, p. 2701-2706, 2011b.

AUGUSTIN, M. A.; *et al.* Microencapsulation of food ingredients. **Food Australia**, v.53, p.220-223, 2001.

BAKAN, J. A. Microencapsulation of food and related products. **Food Technology**, Chicago, v.27, n.11, p.34-4, 1973.

BALDISSERA, A.C; BETTA, F.D; PENNA, A.L.B; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: Uma nova fronteira para desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Ciências Agrárias**, v.32, p.1497-1512, 2011.

BARROS, G. A.; *et al.* A indústria de Laticínios brasileira e mineira em números. INDI – Instituto de Desenvolvimento Industrial de Minas Gerais, 2002.

BECKER, L.V. **logurte probiótico com teor reduzido de lactose adicionado de óleo de linhaça**. 2009 110p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

BERGER, W.; KLOSTERMEYER, H.; MERKENICH, K.; UHLMANN, G. **Processed cheese manufacture: a JOHA Guide**. Ladenburg: BK Ladenburg, 1989. 238p.

BILIADERIS, C. G., MOSCHAKIS, T., BOSNEA, L. A. Complex Coacervation as a Novel Microencapsulation Technique to Improve Viability of Probiotics Under Different Stresses. **Food Bioprocess Technology**, published online: abril, 2014.

BRANNON-PEPPAS, L. Controlled release in the food and cosmetics industries In: **Polymeric delivery systems: properties and applications**, 1993, 411p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não-transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência**. Brasília, 2008 disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/> Acesso em: 22 ago.2013.

Brasil. Extrato do termo de compromisso nº 4/2011. Disponível em. <<http://www.in.gov.br> pelo código 00032011040800081>. Accessed 23.06.14 (2011).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Termo de compromisso de ajustamento de conduta para informação nutricional**. Brasília, DF, 2010a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.092, de 04 de dezembro de 2007. **Institui Grupo Técnico com o objetivo de discutir e propor ações conjuntas a serem implementadas para a melhoria da oferta de produtos alimentícios e promoção da alimentação saudável**. D.O.U - Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, n. 233, 05 de dezembro de 2007, Seção 1, p. 73. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa no. 68, de 12 de dezembro de 2006**. Métodos Analíticos Oficiais Físico Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Acessado 20 abril 2014. <http://www.agricultura.gov.br>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Coordenação-Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**, Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

Brasil (1998). Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento Técnico Referente a Informação nutricional complementar**. <<http://www.anvisa.gov.br>> Accessed 12.04.13.

BRINQUES, G.B.; AYUB, M.A.Z. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration and yogurt. **Journal of Food Engineering**, v.103, p.123-128, 2011.

BURAY, P. et al. Gel particles from spray-dried disordered polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v.76, p.206-213, 2009.

CANDY, D.C.A., HEATH, S.J., LEWIS, J.D.N., THOMAS, L.V. Probiotics for the young and the not so young. **International Journal of Dairy Technology**, v.61, p. 215-221, 2008.

CAMPOS, S.D.S. Reologia de requeijão e outros queijos fundidos. In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.) Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. **Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 1981. Cap. 11, p.XI1-XI8.

ČERNÍKOVÁ, M.; BUŇKA, F.; POSPIECH, M.; TREMLOVÁ, B.; HLADKÁ, K.; PAVLÍNEK, V.; BŘEZINA, P. Replacement of traditional emulsifying salts by selected hydrocolloids in processed cheese production. **International Dairy Journal**, v.20, p.336-343, 2010.

CHAMPAGNE C.P.; FUSTIER P. Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v.18, p.184-190, 2007.

CHAMPAGNE C.P. et al. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v.149, p.185-193, 2011.

CHÁVARRI, M.; MARAÑÓN, I.; ARES, R.; IBÁÑEZ, F. C.; MARZO, F.; VILLARÁN, M. C. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, p. 185–189, 2010.

CLYDESDALE, F. Functional foods: opportunities and challenges. **Institute of Food Technologists Expert Report**, Washington, p. 1-66, 2005.

CONDURSO, C., A. VERZERA, V. ROMEO, M. ZIIN; CONTE, F. Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. **International Dairy Journal**, v.8, p. 819-825, 2008.

COOK, M.T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v.162, p.56-67, 2012.

COSTA, G. N.; SUGUIMOTO, H. H.; MIGLIORANZA, L. H. S.; GOMEZ, R. J. H. C.; Atividade Antimicrobiana frente a microorganismo patogênicos "in vitro". *Ciências Agrárias*, Londrina, V. 33, p. 1839-1846, 2007.

CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; POLLONIO, M. A. R.; BOLINI, H. M. A.; CELEGHINI, R. M. S.; GRANATO, D.; SHAH, N. P. Cheeses with reduced sodium content: effects on functionality, public health benefits and sensory properties. **Trends in Food Science and Technology**, v.22, p. 276-291, 2011a

CRUZ, A. G., ANTUNES, A. E. C., CELEGHINI, R. M. S., FARIA, J. A. F. Processed cheese. Relevance for low sodium cheese development. In: R. D. Foster (Org.). **Cheese. Types, nutrition and consumption** (pp. 1–14). New York: Nova Publisher.2011b

CRUZ, A.G., CADENA, R.S., GRANATO, D., FARIA, J.A.F, BOLINI, H.M.A. Sensory analysis: relevance for probiotic, prebiotic and symbiotic food development. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v.9, p.292-302, 2010.

CRUZ, A. G.; CADENA, R.S.; FARIA, J. A. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; CAVALCANTE, R. N.; BONA, E.; BOLINI, H. M. A.; SILVA, M. A. A. P. Consumer acceptability and purchase intent of probiotic yoghurt with added glucose oxidase using sensometrics, artificial neural networks and logistic regression. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 549-556, 2011c.

CRUZ, A. G. ; BURITI, F. C. A. ; Souza, C.H.B. ; FARIA, J. A. F. ; SAAD, S. M. I. Probiotic Cheese: Health Benefits, Technological and Stability Aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 344-354, 2009.

DELIA, P.; SANSOTTA, G.; DONATO, V.; FROSINA, P.; MESSINA, G.; RENZIS, C.; FAMULARO, G. Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, p. 912-915, 2007.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v. 23, n. 7, p. 1361-1394, 2005.

DING, W. K., SHAH, N. P. Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. **Journal of Food Science**, v.9, p.1750–3841, 2007.

DOYLE, M. E., GLASS, K. A. Sodium reduction and its effect on food safety, food quality, and human health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p. 44–56, 2010.

DRUNKLER, D. A., ISHIHARA, R.Y., GRAFF, A.I., DALCIN, D., FARINA, L.O., KASKANTIS NETO, G. Padronização da metodologia de adição de probióticos em requeijão cremoso. **Higiene Alimentar**, v. 23, p. 524-525, 2009.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 2001. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina. Available in: [ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport\\_en.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf). Accessed in 16 November 2013.

FÁVARO-TRINDADE, C. S. et al. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, p.103-112, 2008.

FÁVARO-TRINDADE, C. S.; HEINEMANN, R. J. B.. PEDROSO, D. L. Developments in probiotic encapsulation. **CAB Reviews: Perspective in Agriculture, Veterinary Science. Nutrition and Natural Resources**, v.6, n.4, p. 1-8, 2011.

FELICIO, T.L., ESMERINO, E.A., CRUZ, A.G., NOGUEIRA, L.C., RAICES, R.S.L., DELIZA, R., BOLINI, H.M.A., & POLLONIO, M.A.R. Cheese.: What is its contribution to the sodium intake of Brazilians? **Appetite**, v.66, p.84-88, 2013.

FERNANDES, A.G.; MARTINS, J.F.P. Fabricacao de requeijao cremoso a partir de massa obtida por precipitacao acida a quente de leite de bufala e de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.35, n.212, p.7-13, 1980.

FERNANDES, A. G. et al. Formulação de sias emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos: parte II. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, V.40, n.238, p.27-39, 1985.

FERRARI, C.K.B.; TORRES, E.A.F.S. Alimentos funcionais: melhorando a nossa saude. **Espaço para a Saúde**, UEL. Londrina, PR, v. 3, n. 2, p. 3-4. Disponível em: <<http://www.ccs.uel.br/espacoparasaude/v3n2/doc/nut.>>. Acesso em: 27 jan. 2014.

FERNANDES, M.S., A.G. CRUZ, D.M.D. ARROYO, J.A.F. FARIA, M. CRISTIANINI, A.S. SANT'ANA. On the behavior of *Listeria innocua* and *Lactobacillus acidophilus* co-inoculated in a dairy dessert and the potential impacts on food safety and product's functionality. **Food Control**, 34, 331-335, 2013.

FLATCHER, A. Selako salt replacer targets health-conscious consumers. Disponível em: <[www.foodnavigator.>](http://www.foodnavigator.>). Acesso em: 5 set. 2008.

FRITZEN-FREIRE, C.B. et al. Effect of microencapsulation on survival of Bifidobacterium BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT- Food Science and Technology**, v.50, p.39-44, 2013.

GAINO, V.O., VOLTARELLI, V.P., RENSIS, C.M.V.B., VIANNA, P.C.B. Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-química e aceitação sensorial. **Semina Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 2, p. 3133-3142, 2012.

GBASSI, G. K; VANDAMME, T.; ENNAHAR, S.; MARCHIONI, E. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* spp in an alginate matrix coated with whey proteins. **International Journal of Food Microbiology**, v.129, p. 103–105, 2009.

GEREZ, C. L., de VALDEZ, G. F., GIGANTE, M. L., Grosso, C. R. F. Whey protein coating bead improves the survival of the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL 1505 to low pH. **Letters in Applied Microbiology**, v,6, p.552–556., 2012.

GIBBS, B, F.; KERMASH, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review. **International Journal of Food Sciences and nutrition**, v.50, p. 213-224, 1999.

GIGANTE, M.L. Requeijão cremoso obtido por ultrafiltração de leite pré-acidificado adicionado de concentrado protéico de soro. Campinas, 1998. 122p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) – **Faculdade de Engenharia de Alimentos**, Universidade Estadual de Campinas.

GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: an overview. **STP Pharma Sciences**, v. 5, p. 276-290, 1995.

GOMES, A. A. , CRUZ, A. G. , CADENA, R.S. , FARIA, J. A. F. , CARVALHO, C. C. , BOLINI, H. M. A. 2011. Effect of the inoculation level of *L. acidophilus* in probiotic cheese on the physicochemical features and sensory performance towards commercial cheeses. **Journal of Dairy Science**, v.94, p. 4777-4786, 2011b.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, n.4/5, p. 139-157, 1999.

GOUIN, S. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. **Food Science and Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.

GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. **Acta Biochimica Polonica**, Poznań, v. 52, n. 3, p. 665-671, 2005.

GRANATO, D.; BRANCO, F. G.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SHAH, N. P. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p.455-470, 2010.

GUPTA, S. K., KARAHDIAN, C., LINDSAY, R. C. Effect of emulsifier salts on textural and flavor properties of processed cheeses. **Journal Dairy Science**, v.67, p.764–78, 1984.

HE, F. J., BURNIER, M., MACGREGOR, G. A. Nutrition in cardiovascular disease. Salt in hypertension and heart failure. **European Heart Journal**, v.32, p.3073–3080 (2011).

HEIDEBACH, T., FÖRST, P., KULOZIK, U. Microencapsulation of probiotic cells for food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.4, p.291–311, 2012.



HEGENBART, S. Encapsulated ingredients keep problems conversed. **Food Prod Des** v.3, p.28–34, 1993.

HENSON, L. S., inventor; FMC CORPORATION, assignee. Reduced sodium content process cheese and method for making it. U.S. **patent** 5871797Aq1, 1997.

HOFFMANN, W., GÄRTNER, J., LÜCK, K., JOHANNSEN, N., MAURER, A. Effect of emulsifying salts containing potassium on the quality of block-type processed cheese. **International Dairy Journal**, 25, 66-72, 2012.

ILHAK, O. I., OKSUZTEPE, G., CALICIOGLU, M., e PATIR, B. Effect of acid adaptation and different salt concentrations on survival of *Listeria monocytogenes* in Turkish white cheese. **Journal of Food Quality**, v.34, p.379–385, 2011.

JACKSON, L. S.; LEE, K. Microencapsulation and Food Industry. **LWT – Food Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 289-297, 1991.

JOHNSON, M. E.; KAPOOR, R.; MCMAHON, D. J.; MCCOY, D. R.; NARASIMMON, R. G. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed chesses: Scientific and technological aspects. **Food Science and Food Safety**, v.8, p252-268, 2009.

KAILASAPATHY, K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. **Current Issues in Intestinal Microbiology**, v. 3, p. 39-48, 2002.

KAMLEH, R.; OLABI, A., TOUFEILI, I.; NAJM, N.E.O.; YOUNIS, T.; AJIB, R. The effect of substitution of sodium chloride with potassium chloride on the physicochemical, microbiological, and sensory properties of Halloumi cheese. **Journal of Dairy Science**, v.95, p. 1140-1151, 2012.

KARAHADIAN, C. Technological aspects of reduced-sodium process American cheese. M.S. Thesis, Madison, WI: **University of Wisconsin-Madison**, 1984.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 737-743, 2004.

LAHTINEN, S. J.; OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S. J.; FORSSELL, P.; MYLLARINEM, P. Effect of starch-and lipid-based encapsulation on the culturability of two *Bifidobacterium longum* strains. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, p. 500-505, 2007.

LAMBERT, J. M.; WEINBRECK, F.; KLEEREBEZEM, M. In vitro analysis of protection of the enzyme bile salt hydrolase against enteric conditions by whey protein – gum Arabic microencapsulation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8360- 8364, 2008.

LAZADO, C. C.; Caipang, C.M.; Brinchmann, M. F.; *In vitro* adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 148, n. 2-4, p. 252-259, 2011.

LEE, S. K. *et al.* Changes in the rheologyand microstrutecture of processed cheese during cooking. **Lebensm.-Wiss. U. – Technology**, [S.l.], v. 36, p. 339-345, 2003.

LEE, S. K.; ANEMA, S.; KLOSTERMEYER, H. The influencew of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. **International Journal of Food Science and Technology**, [S. l.], v. 39, p. 763-771, 2004

- LENOIR-WIJNKOOP, I., Sanders ME, Cabana MD, Cagler E, Corthier G. Probiotic and probiotic influence beyond the intestinal tract. **Nutrition Review**. 65(11):469–89, 2007.
- LI, B. et al. Fabrication of starch-based microparticles by an emulsification-crosslinking method. **Journal of Food Engineering**, v.92, p.250-254, 2009.
- LIMA, E. T.; FILHO, R. L. A.; OKAMOTO, A. S.; NONJAIM, S. C.; BAROS, M. R.; CROCCI, A. J. Evaluation in vitro of the antagonistic substances produced by *Lactobacillus* spp. isolated from chickens. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 71, p. 103-107, 2007.
- LIMA FILHO, R. R., POMBO, G. Aumenta o consumo de queijo no Brasil. **Carta Leite**, v.6, p.1–2 2010.
- MANDAL, S., PUNIYA, A. K., MSINGH, K. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. **International Dairy Journal**, v.10, p.1190–1195, 2006.
- MASUDA, T.; YAMANARI, R.; ITOH, T. The trial for production of fresh cheese incorporated probiotic *lactobacillus acidophilus* group lactic acid bacteria. **Milchwissenschaft**, v. 60, p. 167-171, 2005.
- MCLEAN, R., HOEK, J., HEDDERLEY, D. Effects of alternative label formats on choice of high- and low-sodium products in a New Zealand population sample. **Public Health Nutrition**, v.15, p.783–791, 2012.
- MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press. 2007. 218 p.
- MENEZES, C.R.D.; ARIM, J.S.; CHICOSKI, A.J.; ZEPKA, L.Q.; JACOB-LOPES, E.; FRIES, L.L.M.; TERRA, N.N. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciências Rural**. v.43, n.7, p. 1309-1316, 2013.
- METZGER, L. E., KAPOOR, R. Novel approach for producing with reduced-fat and reduced sodium content. **Journal Dairy Scienci**, v. 86, p.198, 2007.
- MHURCHU, C. N. Sodium content of processed foods in the United Kingdom: analysis of 44000 foods purchased by 21000 households. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 93, p. 596-598, 2011.
- MOSHFEGH, A.J., HOLDEN, J.M., COGSWELL, M.E., KUKLINA, E.V., PATEL, S.M., GUNN, J.P., GILLESPIE, C., GALUSKA, D.A. Vital signs: Food categories contributing the most to sodium consumption - United States, 2007-2008. **Morbidity and Mortality Weekly Report** , v.61, p. 92-98, 2012.
- MORENO-ROJAS, R., POZO-LARA, R., ZURERA, G.C.; LOPEZ, A.M.. Calcium, magnesium, manganese, sodium and potassium variations in manchego-type cheese during ripening. **Food Chemistry**, v.50, p. 373–378, 1993.
- MORTAZAVIAN, A. M.; RAZAVI, S. H., EHSANI, M. R.; SOHRABVANDI, S. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. **Iranian Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 1-18, 2007.
- MORTAZAVIAN, A.; EHSANI, M.U.; RAZAVI, S. H.; MOUSAVI, R.; SOHRABVANDI, S.; REINHEIMER, J. Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after

the product exposure to the simulated gastrointestinal conditions. **Milchwissenschaft**, v.63, p. 262-265, 2008.

MOZZI, F.; GERBINO, E.; FONT DE VALDEZ, G.; TORINO M. I. Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in an in vitro gastric system. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 56–64, 2009.

MURUGESAN, R., ORSAT, V. Spray drying for the production of nutraceutical ingredients - a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 3-14, 2011.

NAGPAL, R.; YADAV, H.; PUNIYA, A.K.; SINGH, K.; JAIN, S.; MAROTTA, F. Potential of probiotic and prebiotics for synbiotic functional dairy foods: an overview. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 2, p. 75-84, 2007.

OLIVEIRA, J.S. **Queijo: Fundamentos Tecnológicos**. Campinas: Icone, 1986. 146p

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1990.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH. N.P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v. 16, p.446–456, 2006.

OTINEO, D. O.; ASTHON, J. F.; SHAH, N. P. Stability of  $\beta$ -glucosidase Activity Produced by *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp. in Fermented Soymilk During Processing and Storage. **Journal of Food Science**, v.70, p. 236-241, 2005.

PASTORINO, A. J.; HANSEN, C. L.; McMAHON, D. J. Effect of salt on structure-function relationships of cheese. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.60-69, 2003.

PICOT, A.; LACROIX, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Dairy Journal**, v.14, p.505–515, 2004.

RAMOS, F.M., HADDAD, F.F., RAMOS, R.A., PINTO, S.M. (2012). Adequacy of creamy requeijão cheese to the Standards of identity and quality and the labeling Standards. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, 389, 05-14, 2012.

RABÊLO, A. M. S. *et al.* Avaliação das características físico-químicas e viscosidade de requeijão cremoso tradicional e *light* comercializado em Goiânia, GO. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 327, p. 242-245, jul./ ago. 2002.

RAPACCI, M. Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta. **Tese de doutorado**, UNICAMP, Campinas, 1997.

REIFF, C.; KELLY, D. Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy. **International Journal of Medical Microbiology**, v.300, p. 25-33, 2010.

REDDY, K. S.; KATAN, M. B. Diet, nutrition and the prevention of hypertension and cardiovascular diseases. **Public Health Nutrition**, v.7, p.167-186, 2004.

REINECCIUS, G. A. Controlled release techniques in the food industry. In: Encapsulation and controlled release of food ingredients. ACS Symposium Series. **American Chemical Society**,

- Washington, 1995. SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. vol.42, p. 1-16, 2006.
- ROBERFROID, M. B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, Louvain, v. 34, n. 2, p. 105-110, 2002.
- ROKKA, S.; RANTAMAKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, v. 231, p. 1-10, 2010.
- SAAD, S. M. I.; BURITI, F. C. A.; KOMATSU, T. R. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 329-347, 2008.
- SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prebióticos em alimentos: fundamentos e aplicações tecnológicas**. 1. ed. São Paulo: Varela Editora e Livraria Ltda., 2011. v. 1. 672p.
- SANDERS, M.E.; MARCO, M.L. Food Formats for Effective Delivery of Probiotics. **Food and Scienci Technolgy**, v.1, p. 65-85, 2010.
- SANTOS, K.M.O., BONFIM, M.A.D., VIEIRA, A.D.S., BENEVIDES, S.D., SAAD, S.M.I., BURITI, F.C.A., EGITO, A.S. Probiotic caprine Coalho cheese naturally enriched in conjugated linoleic acid as a vehicle for *Lactobacillus acidophilus* and beneficial fatty acids. **International Dairy Journal**, v.24, n.2, p. 107-112, 2012.
- SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: micrororganismo funcionais. **Ciência Equatorial**, Amapá, V. 1, p. 26-38, 2008.
- SANZ, Y. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. **International Dairy Journal**, v.17, p. 1284-1289, 2007.
- SARNO, F., R. M. CLARO, R. B. LEVY, D. H. BANDONI, S. R. G. FERREIRA, and C. A. MONTEIRO. Estimated sodium intake by the Brazilian population, 2002–2003. **Revista de Saúde Pública** v.43, p. 1–6, 2009.
- SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in fats and oils. Industrial oils and fat products edible oil and fat products: **Chemistry properties and health effects**. Inc F. Shahidi Ed.; New York, USA, 2005.
- SAXELIN, M. Probiotic Formulation and Applications, the current Probiotic Market, and Changes in the MarketPlace: A European Perspective. **Clinical Infectious Disease**, v. 46, p. S76-S79, 2008.
- SAZAWAL, S.; HIREMATH, G.; DHINGRA, U.; MALIK, P.; DEB, S.; BLACK, R.; Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. **The Lancet Infectious Diseases**, v.6, p. 374-382, 2006.
- SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n.11, p. 1262-1277, 2007.
- SHAH, N.P.; RAVULA, R.R. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. **The Australian journal of dairy technology**, v. 55, n. 3, p. 139-144, 2000.
- SHIMA, M.; MATSUO, T.; YAMASHITA, M.; ADACHI, S. Protection of *Lactobacillus acidophilus* from bile salts in a model intestinal juice by incorporation into the inner-water phase of a W/O/W emulsion. **Food Hydrocolloids**, v.23, p. 281-285, 2009.

SHRESTHA, S., GRIEDER, J. A., McMahon, D. J., NUMMER, B. A. Survival of *Listeria monocytogenes* introduced as a post-aging contaminant during storage of low-salt Cheddar cheese at 4, 10, and 21°C. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.4329–4335, 2011.

SILVA, C.A.B.; FERNANDES, A.R. **Projetos de empreendimentos agroindustriais: Produtos de origem animal**. Viçosa: UFV. V.1, p. 308, 2003.

SILVA, L.M.F.; K. S. FERREIRA, K.S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal “light” e ricotta. **Alimentos e Nutrição**, v.21, p. 437-441, 2010.

SILVA, S. V. Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico. 2007. 107 p. **Disertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

SOUZA, P. H.M.; SOUZA NETO, M, H.; MAIA, G. A. Componentes funcionais nos alimentos. **Boletim da SBCTA**.v. 37, n. 2, p.127-135, 2003.

STANTON, C; GARDINER, G.; MEEHAN, H.; COLLINS, K.; FITZGERALD, G.; LYNCH, P. B.; ROSS, R. P. Market potential for probiotics. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 3, p. 476-483, 2001.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: Farnworth, E. R., ed. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Ranton: CRC Press, 2003. p. 27-58.

SVEJE, M. Probiotic and Prebiotics – improving consumer health through food consumption. **Nutracos**, sept/oct, 28-31, 2007.

SULTANA, K.; GODWARD, G.; REYNOLDS, N.; ARUMUGASWAMY, R.; PEIRIS, P.; KAILASAPATHY, K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, p. 47-55, 2000.

TALWALKAR, A.; MILLER, C.W.; KAILASAPATHY, K.; NGUYEN, M.H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 39, p. 605-611, 2004.

TAAL, M. W., CHERTOW, G. M., MARSDEN, P. A., SKORECKI, K., YU, A. S. L., BRENNER, B. M. Brenner and Rector’s the kidney. **Saunders Elsevier**, 2011.

THARMARAJ, N.; SHAH, N.P. Selective Enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobacteria, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and Propionibacteria. **Journal of Dairy Science**, 86, 2288-2298, 2003.

WESTESEN, K.; BUNJES, H.; KOCH, M. H. J. Physicochemical characterization of lipid nanoparticles and evaluation of their drug loading capacity and sustained release potential. **Journal of Controlled Release**, V. 48, P. 223 -236, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF UNITED NATIONS. **Diet, Nutrition and the prevention of chronic diseases**, Geneva, 2003, 160p.

World Health Organization. Global health risks: **Mortality and burden of disease attributable to selected major risks**. WHO, 2009.

WYNESs, L. A., BUTRISS, J. L., STANNER, S. A. Reducing the population's sodium intake. The UK Food Standards Agency's salt reduction programme. **Public Health Nutrition**, 15, 254–261, 2012.

VALLE, J.L.E. Qualidade fisico-quimica da materia-prima e do produto acabado. In: MARTINS, J.F.P.; FERNANDES, A.G. (Ed.) Processamento de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1981. Cap. 2, p.1-5.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão: aspectos gerais. IN: VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006.

VAN DENDER, A.G.F.; SPADOTI, L.M.; ZACARCHENCO, P.B.; TRENTO, F.K.H.S.; ALVES, A.T.S.; MENDES, T.Q.; ORMENESE, R.C.S.C.; YOTSUYANAGI, K. Optimisation of the manufacturing of processed cheese without added fat and reduced sodium. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.65, p. 217-221, 2010.

VAN DENDER, A. G., SPADOTI, L.M., ZACARCHENCO, P.B., GALINA, D.A. & ALVES, A.T.S. Requeijão cremoso: pesquisas e inovações tecnológicas do século XXI. **Leite & Derivados**, v. 133, p. 86-97, 2012a.

VAN DENDER, AG., SPADOTI, L.M., ZACARCHENCO, P.B., TRENTO, F.K.H., ORMENESE, R.S.C., MORGANO, M.A. Efeito dos sais fundentes nas características do requeijão cremoso sem adição de gordura e com teor reduzido de sódio. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.387, p. 38-47, 2012b.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão: aspectos gerais. IN: VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2 edição, 2014.

VIDAL, A.M; DIAS, D.O; MARTINS, E.S.M; OLIVEIRA, R.S; NASCIMENTO, R.M.S; CORREIRA, M.G.S. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. *Ciências Biológicas e da Saúde.*, v.1 p.43-52, 2012.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 497-505, 1999.

VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Lactic acid starter and probiotic bacteria a comparative "in vivo" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. **Food Research International**, Essex, V. 36, p. 895-904, 2003.

WANG, J.; GUO, Z.; ZHANG, Q.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, M. X.; ZHANG, H. P. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 2468- 2476, 2009.

ZACARCHENCO, P.B; VAN DENDER, A. G SPADOTI, L.M., LINS, L.G. Desafios tecnológicos na fabricação de queijos e requeijão cremoso de baixo teor de sódio. **Indústria de Laticínios**, v. 80, p. 82-85, 2009.

ZHAO, R. X.; SUN, J. L.; TORLEY, P.; WANG, D. H.; NIU, S. Y. Measurement of particle diameter of *Lactobacillus acidophilus* microcapsule by spray drying and analysis on its microstructure. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 24, p. 1349-1354, 2008.