

ISABELLA DE BONA MUÑOZ

**IMPACTO DA CRIOCONCENTRAÇÃO DO LEITE E
AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E
FUNCIONAIS DE UM QUEIJO FRESCO SIMBIÓTICO**

**FLORIANÓPOLIS
2018**

ISABELLA DE BONA MUÑOZ

**IMPACTO DA CRIOCONCENTRAÇÃO DO LEITE E
AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E
FUNCIONAIS DE UM QUELJO FRESCO SIMBIÓTICO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do título de Doutora em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio

Coorientador: Prof. Dr. Eduard Henández

**Florianópolis
2018**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Muñoz, Isabella de Bona

Impacto da criocconcentração do leite e avaliação das propriedades químicas, físicas e funcionais de um queijo fresco simbiótico / Isabella de Bona Muñoz ; orientadora, Profa. Dra. Elane Schwinden Prudêncio, coorientador, Prof. Dr. Eduard Henández, 2018 .

87 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2018 .

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. leite concentrado, criocconcentração em bloco. 3. criocconcentração progressiva. 4. queijo fresco funcional. 5. simulação gastrointestinal in vitro. I. Prudêncio, Profa. Dra. Elane Schwinden . II. Henández, Prof. Dr. Eduard . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. IV. Título.

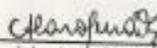
**IMPACTO DA CRIOCONCENTRAÇÃO DO LEITE E AVALIAÇÃO
DAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS E FUNCIONAIS DE
UM QUELJO FRESCO SIMBIÓTICO**

Por

Isabella de Bona Muñoz

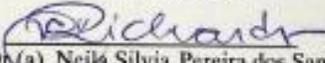
Esta Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de "Doutora em Ciência dos Alimentos", e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

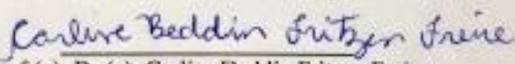
Florianópolis, 09 de maio de 2018


Prof. (a). Dr. (a). Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenador

Banca Examinadora:


Prof.(a). Dr.(a). Elane Shwinden Prudêncio
Orientador (UFSC)


Prof.(a). D^{ma}(a). Neila Silvia Pereira dos Santos Richards
Membro (UFSM)


Prof.(a). Dr.(a). Carlise Beddin Fritzen Freire
Membro (UFSC)


Prof.(a). Dr.(a). Carmen Maria de Olivera Müller
Membro (UFSC)

*“Dedico este trabalho aos meus
amados pais,*

Alejandro e Lair”

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos à todos que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial:

À Universidade Federal de Santa Catarina por conceder-me uma formação superior e também ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos pela oportunidade de realizar o doutorado.

À CAPES e CAPES-PDSE pelo apoio financeiro para a concretização desta pesquisa.

À todos os funcionários e professores da universidade que de alguma maneira ajudaram e incentivaram esta pesquisa.

À minha orientadora Profa. Dra. Elane Schwinden Prudêncio por toda a sua ajuda durante a realização deste trabalho. Muito obrigada professora por há nove anos atrás ter recebido esta aluna. Você me apresentou o universo da pesquisa e foi muito mais do que uma orientadora durante todos esses anos.

À professora Dra. Renata Dias de Mello Castanho Amboni que vem acompanhando minha trajetória desde a graduação, agradeço pela valiosa colaboração, disposição, pelo incentivo, e pelos ensinamentos.

À professora Dra. Carmen Maria de Olivera Müller, pela dedicação e paciência em ensinar e também aconselhar. Muito obrigada professora por todas as palavras, levarei elas comigo por toda a vida.

À professora Dra. Edna Regina Amante por abrir as portas do Laboratório de Frutas e Hortaliças e por todos os seus ensinamentos durante minha trajetória acadêmica.

Ao secretário do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos Sérgio agradeço por toda ajuda nos momentos burocráticos.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC, pela disponibilidade para realização de análises microscópicas.

À todos os colegas da Pós-Graduação, obrigada pela receptividade, pelos sorrisos de bom dia, ou boa noite. Vocês tornaram esta caminhada mais leve.

Às minhas companheiras de pesquisa do Laboratório de Leite e Derivados, as presentes, às recém chegadas e as que já partiram, agradeço pela imensurável ajuda, pelas risadas, pelos deliciosos cafés e principalmente pela amizade.

Às minhas grandes amigas e companheiras de pesquisa Carolinne, Nathália e Julia. Meninas, muito obrigada por tudo, este trabalho também é de vocês. Esta amizade que surgiu em meio a tubos de ensaio, livros, cafés, risadas e choros levarei em meu coração para sempre.

À minha amiga Maria Helena. Obrigada pelo ombro amigo, pela companhia nas noites de análises, pelos sonhos compartilhados, as tristezas desabafadas e por todas as nossas mensagens trocadas em olhares. Você não é só uma amiga, você é família.

À Universidad Politécnica de Catalunya (ES) por conceder-me a oportunidade de realizar uma parte deste trabalho em suas instalações. Obrigada pela receptividade de todos em especial aos professores Dra. Mercè Raventós e Dr. Eduard Hernández por compartilharam todos os seus conhecimentos e pela acolhida.

À minha querida família, meus pais, Alejandro e Lair e minha irmã Letícia. À vocês eu devo e dedico tudo, muito obrigada por acreditarem em mim. Pai e mãe, muito obrigada por todos os sacrifícios feitos, sonhos deixados de lado para que eu pudesse realizar os meus. Espero poder retribuir ao menos um pouco tudo que vocês fizeram e fazem por mim.

Ao meu amado Douglas obrigada por acreditar em meus sonhos e lutar comigo para a realização deles. Você iniciou esta trajetória no papel de namorado, depois como noivo e hoje como um esposo maravilhoso que sempre acreditou em mim. Obrigada por ser a minha maior torcida e estar sempre ao meu lado, por mostrar que tudo que passamos é necessário para o nosso crescimento.

À minha filha de quatro patas Maria Flor, muito obrigada pelos seus olhares de carinho, suas lambidas de consolo, pelo amor incondicional e por todos os dias me acordar com suas enormes patas.

E por fim, mas não menos importante, À Deus por guiar-me nesta jornada

Muito obrigada!

"Apesar dos nossos defeitos, precisamos enxergar que somos pérolas únicas no teatro da vida e entender que não existem pessoas de sucesso e pessoas fracassadas. O que existem são pessoas que lutam pelos seus sonhos ou desistem deles."

Augusto Cury

RESUMO

O aumento da produção de leites é também associado à incorporação de novas tecnologias envolvendo o seu processamento. Dentre estas tecnologias tem-se a crioc Concentração que é baseada no degelo de um alimento líquido resultando em uma fase concentrada e uma na forma de gelo. Em relação ao alimento líquido, a sua fração concentrada, obtida do processo de crioc Concentração, pode apresentar maior qualidade nutritiva, sem serem observadas mudanças químicas e bioquímicas indesejáveis. Desta forma, este trabalho de tese de doutorado avaliou duas técnicas de crioc Concentração do leite, ou seja, a em bloco e a progressiva. Entretanto, independentemente da técnica de crioc Concentração empregada, seria considerado também um fato inédito e relevante à utilização do concentrado do leite na elaboração e avaliação das propriedades de queijo fresco funcional. Assim, primeiramente este trabalho estudou a crioc Concentração em blocos do leite, visando escolher o melhor concentrado para a elaboração de queijos frescos adicionados de microrganismo probiótico (*Bifidobacterium* BB-12) e/ou prebiótico (5 g 100 mL⁻¹ de inulina), ambos considerados benéficos à saúde de consumidores regulares deste tipo de produto. Estes queijos frescos, não submetidos à etapa de dessoragem, foram avaliados quanto as suas propriedades físicas, químicas, microbiológicas e microestruturais. A fim de avaliar a sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 nos queijos frescos os mesmos foram submetidos à simulação gastrointestinal *in vitro*. Por último, foi realizado o estudo do desempenho da crioc Concentração progressiva do leite em equipamento piloto, variando as temperaturas de resfriamento (-5, -10, -15 °C) e as taxas de agitação (0, 500, 1000 RPM). Na primeira etapa deste estudo, o leite concentrado proveniente do segundo estágio da crioc Concentração foi escolhido e empregado na obtenção dos queijos frescos funcionais. Como esperado, foi verificado que somente o queijo fresco adicionado de inulina apresentou aumento no teor de sólidos totais, refletindo no teor de carboidratos totais e na diminuição da coloração esverdeada do queijo. Tanto a inulina, quanto a presença de soro, pois não foi realizada a dessoragem dos queijos, resultaram em queijos mais firmes, menos quebradiços e compactos. A adição de bifidobactéria não influenciou nas propriedades do queijo e ainda apresentou-se acima dos valores recomendados para que o mesmo fosse considerado probiótico. Os queijos com bifidobactéria e inulina puderam também ser classificados como simbióticos. Após as condições gastrointestinais simuladas, foi possível verificar um efeito positivo na contagem de células viáveis e na

taxa de sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 no queijo probiótico seguido do queijo simbiótico (com bifidobactéria e inulina). Assim ambos os tipos de queijo (probiótico e simbiótico) puderam ser considerados uma matriz protetora na sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12. Assim como na primeira etapa deste trabalho, a crioconcentração progressiva foi eficiente na concentração do leite. Nesta última etapa, foi comprovado que a temperatura e a taxa de agitação influenciaram na eficiência do processo bem como no rendimento do leite concentrado. A partir dos resultados obtidos para a crioconcentração progressiva, pode-se concluir que as melhores condições desta técnica foram alcançadas quando empregada uma temperatura de refrigeração de - 5 ° C e agitação mecânica de 1000 RPM, sendo que a taxa de agitação apresentou maior influencia no sistema. Enfim, vale ressaltar o potencial inovador que este trabalho representa através do estudo de dois diferentes tipos crioconcentrações, consideradas emergentes, a fim de obter leites concentrados. Cabe ressaltar que a utilização do leite concentrado na obtenção de queijos frescos funcionais também demonstrou potencial inovador para o setor lácteo.

Palavras-chave: leite concentrado, crioconcentração em bloco, crioconcentração progressiva, queijo fresco funcional, simulação gastrointestinal *in vitro*.

RESUMO EXPANDIDO

Introdução

A busca por alimentos adicionados de ingredientes funcionais como bactérias probióticas e fibras vêm crescendo. Uma vez que o consumidor esta cada vez mais interessado em consumir alimentos saudáveis, a indústria alimentícia sentiu a necessidade de investigar novos processos tecnológicos com o intuito de desenvolver novos produtos de alto valor biológico e nutricional. Neste contexto técnicas de concentração que empregam o frio estão sendo estudadas. O método de crioconcentração consiste na cristalização da água do alimento através do resfriamento abaixo do seu ponto de congelamento, o que possibilita a formação e separação de cristais de gelo, resultando em uma fração líquida concentrada e outra na forma de gelo. Entre os métodos de crioconcentração podemos citar a crioconcentração em bloco e a crioconcentração progressiva. No primeiro processo a solução é completamente congelada e através do descongelamento parcial gravitacional a fração líquida concentrada é obtida. Já a crioconcentração progressiva é caracterizada pela formação de um único cristal de gelo em contato com uma superfície refrigerada, facilitando assim a separação entre cristal de gelo e solução concentrada. Em ambos os processos a eficiência é determinada através da pureza da fração de gelo, ou seja, com o mínimo de solutos retidos. Esta tecnologia vem sendo aplicada e estudada em alimentos líquidos como sucos, extrato de café e leite. Para a indústria láctea a sua utilização torna-se interessante em termos de manutenção de sabores e também no que diz respeito à concentração de proteínas do leite (caseínas e proteínas do soro). Além disso, processos envolvendo a transformação desta matéria prima poderiam ser melhorados como, por exemplo, o rendimento de queijos frescos funcionais. Queijos frescos são produzidos a partir de leite através de coagulação enzimática apresentando ao final do processo coloração branca e sabor levemente ácido. São classificados como queijos de alta umidade devendo ser consumidos frescos. Devido as suas características físicas e químicas estes tipos de queijos apresentam excelentes condições para a sobrevivência de microrganismos probióticos, como as *Bifidobacterium* BB-12. A sobrevivência das bifidobacterias adicionadas em queijos já foi avaliada e comprovada em trabalhos prévios, contudo, a sua viabilidade em um queijo fresco elaborado a partir de leite concentrado pela técnica de crioconcentração ainda não foi investigada. No entanto, além da viabilidade das

bifidobactérias é preciso avaliar a sua sobrevivência em condições gastrointestinais para assim assegurar a sua funcionalidade ao hospedeiro. Pode-se também destacar a adição de ingredientes prebióticos como a inulina que possui resistência às enzimas digestivas apresentando potencial sinérgico com as bactérias probióticas. Por fim, é importante ressaltar que quando o processamento de um produto lácteo é modificado e são adicionados outros ingredientes, as suas propriedades físicas e tecnológicas são modificadas e por isso devem ser estudadas. Diante deste cenário, o objetivo central deste trabalho foi avaliar e caracterizar técnicas de crioconcentração (bloco e progressiva) para a concentração do leite e posterior aplicação em queijos frescos funcionais.

Objetivos

O objetivo geral deste estudo foi o desenvolvimento e caracterização de leite concentrado pela técnica de crioconcentração e o desenvolvimento de queijos frescos funcionais a partir do leite concentrado. Como objetivo inicial foi realizado o processo de crioconcentração em bloco do leite e os objetivos específicos foram: avaliar o desempenho do processo através do estudo das propriedades físicas e químicas dos concentrados e gelos obtidos em cada estágio de concentração. Além disso, cálculos de fator de concentração (FC) e balanço de massa foram utilizados para determinar o melhor estágio de concentração. Posteriormente, o melhor estágio de concentração foi utilizado na elaboração de queijos frescos funcionais com adição do probiótico *Bifidobacterium* BB-12 e também do prebiótico inulina. As formulações de queijo foram avaliadas quanto às suas propriedades físico-químicas, colorimétricas, microestruturais, de textura e reológicas. A contagem de células viáveis de *Bifidobacterium* BB-12 também foi determinada nestes queijos. A segunda etapa do estudo consistiu em avaliar o efeito protetor dos queijos frescos adicionados de *Bifidobacterium* BB-12 em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. Com base no potencial da tecnologia de crioconcentração para o setor lácteo, a terceira etapa deste estudo, realizada durante o período de doutorado sanduíche na Universidad Politecnica de Catalunya (ES), consistiu em realizar independentemente ensaios de crioconcentração progressiva para leite UHT desnatado. Especificamente, foram avaliadas diferentes combinações de temperatura e agitação durante o processo com o intuito de estabelecer os melhores parâmetros de operação. Como objetivos específicos foram determinados: o teor de sólidos totais para todas as frações (leite, leite

concentrado e gelo), eficiência do processo, concentração de solutos, balanço de massa e o ponto de congelamento das frações de leite UHT e os concentrados.

Metodologia

O primeiro método de concentração consistiu na crioconcentração em bloco onde 30 litros de leite pasteurizado integral foram divididos em porções e congelados utilizando congelador de placas. Uma vez que o leite foi congelado, 50% da sua massa (g) inicial foram descongelados gravitacionalmente obtendo-se ao final do processo duas frações: leite concentrado (LC) e gelo (G). A fração líquida concentrada foi novamente congelada e utilizada como solução inicial para o estágio seguinte do processo de crioconcentração. Este procedimento foi repetido até o terceiro estágio de concentração. Alíquotas das frações concentradas e do gelo (LC e G), referentes aos estágios de crioconcentração, foram armazenadas a -20 ± 2 °C até o momento das análises. Para avaliação do desempenho do processo foi determinado o teor de sólidos totais de todas as frações (leite, LC e G), o fator de concentração (FC) assim como o balanço de massa do sistema. Três formulações de queijo fresco (Controle, Probiótico e Simbiótico) foram elaboradas utilizando leite concentrado proveniente do melhor estágio de crioconcentração. O queijo fresco Controle foi produzido sem adição de cultura probiótica e inulina. O queijo fresco Probiótico foi produzido com adição de *Bifidobacterium* BB-12 e o queijo fresco Simbiótico foi preparado com adição de *Bifidobacterium* BB-12 e 5 g de inulina. Para o preparo de todos os queijos frescos, o leite concentrado (LC) foi aquecido a 37 ± 1 °C, e foram adicionados ácido láctico, cloreto de cálcio e enzima coagulante com posterior coagulação a 37 ± 1 °C, por 40 minutos. Após coagulação os queijos foram selados termicamente e armazenados a 5 ± 1 °C. Os queijos frescos foram analisados quanto aos teores de sólidos totais ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), umidade ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), proteína ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), lipídeos ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), carboidratos totais ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$), acidez titulável ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de ácido láctico), pH, cor, textura (TPA), compressão uniaxial, liberação de soro, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise microbiológica. Adicionalmente, os queijos frescos adicionados de cultura probiótica (Probiótico e Simbiótico) também foram avaliados em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. Neste método a viabilidade da bactéria foi avaliada sequencialmente em meios que simulam diferentes seções do trato gastrointestinal (boca, esôfago/estômago, duodeno e íleo). A análise foi conduzida em banho

termostático com agitação, mantido a 37 ± 1 °C com o intuito de simular a temperatura corporal e os movimentos peristálticos de cada seção do trato digestivo. A mastigação foi simulada empregando uma solução de CaCl_2 (1mM) contendo α -amilase (100 U mL^{-1}) ajustada a pH 6,9 com NaHCO_3 1M e tendo duração de 2 minutos. Para a etapa do esôfago/estômago foi adicionado uma solução de pepsina (25 mg mL^{-1}) preparada com HCl 1M tendo o seu pH ajustado até 2,0 com HCl 1M e duração de 90 minutos. A etapa do duodeno foi conduzida utilizando uma solução contendo pancreatina (2 g L^{-1}) e sais biliares bovinos (12 g L^{-1}) preparada com NaHCO_3 0,1 M e com duração de 20 minutos. Por fim, a etapa de passagem pelo íleo foi simulada aumentando o pH para 6,5 com solução de NaHCO_3 0,1 M com duração de 90 minutos. Além disso, para avaliar o efeito protetor da matriz de queijo mediante a estirpe probiótica, caldo MRS foi utilizado. Este caldo foi preparado da mesma forma que as amostras de queijo fresco e submetido ao mesmo processo de simulação gástrica. A taxa de sobrevivência da *Bifidobacterium* BB-12 após cada etapa da simulação foi determinada através da enumeração em Agar MRS-LP. Posteriormente, na última etapa deste trabalho, a criocentralização progressiva de leite UHT desnatado foi realizada utilizando equipamento em escala piloto. O aparato consistia de um tanque encamisado de aço inoxidável com capacidade de 2400 mL, conectado a um banho de refrigeração contendo como fluido refrigerante solução de etilenoglicol-água 50%. A solução a ser concentrada foi adicionada ao tanque com temperatura próxima a 0 °C e quando desejado foi agitada utilizando um agitador mecânico. Para controlar a temperatura do sistema durante os ensaios uma sonda de temperatura conectada a um registrador foi utilizada. O delineamento experimental consistiu de nove variáveis de estudo modificando os parâmetros de temperatura e agitação. Foram estudadas as temperaturas de -5, -10 e -15 °C onde cada uma delas foi avaliada a 0, 500 e 1000 RPM. Os ensaios foram realizados em triplicada para cada uma das variáveis, utilizando 1 L de leite em cada teste com duração de 60 minutos. Ao fim de cada ensaio se obteve uma fração de leite concentrado e uma fração de gelo. Ambas as frações (concentrado e gelo) foram coletadas, pesadas, e armazenadas em recipientes plásticos sob-refrigeração até o momento das análises. O teor de sólidos totais de cada uma das frações foi calculado e utilizado para os cálculos de eficiência (*eff*), rendimento da concentração (*Y*) e balanço de massa para cada variável. Para avaliar a adequação dos valores teóricos com os valores experimentais o desvio médio quadrático (RSM) foi calculado para cada teste realizado. O modelo linear geral (MLG) também foi

utilizado para avaliar a influência dos dois fatores estudados (temperatura e agitação) nos resultados de concentração de sólidos (C_f), eficiência (eff) e rendimento da concentração (Y). Por fim, o ponto de congelamento do leite UHT desnatado e das frações concentradas também foi determinado.

Resultados e Discussão

Através do processo de crioconcentração em bloco foi possível concentrar leite integral a um fator de concentração (FC) igual a 2 no terceiro estágio de concentração. O efeito da crioconcentração foi significativo ($P < 0,05$) no teor de sólidos totais nos três estágios de concentração, quando comparado ao leite inicial. Contudo, foi observado que o teor de sólidos totais na fração de gelo no terceiro estágio foi maior ($P < 0,05$). Este comportamento está associado ao aumento da viscosidade durante os estágios de concentração que resulta em uma maior retenção de sólidos na fração de gelo. Através dos dados de balanço de massa foi verificado que a maior transferência de massa para a fração concentrada, em relação ao teor de sólidos, ocorreu no segundo estágio de concentração (68%). Levando estes dados em consideração, o concentrado proveniente do segundo estágio de concentração foi utilizado na elaboração dos queijos frescos. A adição de inulina na terceira formulação de queijo fresco promoveu um aumento no teor de sólidos totais, refletindo, também nos valores de carboidratos totais ($P < 0,05$) obtendo-se alta correlação ($R = 0,981$) entre estes dois parâmetros. O teor de umidade dos queijos apresentou valores acima dos encontrados na literatura. Este comportamento deve-se ao fato de que os queijos foram elaboração a partir de leite concentrado e sem realização da etapa de corte da coalhada e liberação do soro, resultando em um aumento do teor de umidade. Os teores de proteína e lipídeos assim como os valores de pH e acidez titulável não sofreram influência da adição de inulina ($P > 0,05$) e do processo de crioconcentração. Em relação à análise de cor dos queijos foi possível observar que no queijo contendo inulina (Simbiótico) os parâmetros a^* e h° aumentaram ($P < 0,05$) enquanto que b^* e C^* diminuíram ($P < 0,05$). Este comportamento indica que a adição de inulina resultou em uma tendência menor à coloração verde, em relação aos outros queijos. Todos os queijos apresentaram valores elevados para L^* o qual esta relacionado à coloração branca dos ingredientes lácteos. O parâmetro b^* indicou uma tendência à coloração amarela associada à presença de carotenoides no leite em todas as formulações de queijo. Com respeito às características físicas dos

queijos frescos durante a análise de textura e compressão, foi possível constatar que o queijo com adição de inulina apresentou maior firmeza e dureza ($P < 0,05$) quando comparado às outras formulações de queijo desenvolvidas. Em relação à análise de microestrutura, os queijos Controle e Probiótico apresentaram uma matriz com estrutura mais aberta ao passo que, o queijo Simbiótico apresentou-se com olhaduras menores, indicando uma rede proteica mais compacta, que esta relacionada à sua maior dureza. Além disso, através das micrografias foi possível observar os glóbulos de gordura aprisionados à matriz proteica dos ambos os queijos (Controle, Probiótico e Simbiótico). Em relação à contagem de células viáveis probióticas, ambos os queijos, Probiótico e Simbiótico, apresentaram contagens acima do recomendado para um produto probiótico e a adição de inulina não afetou a contagem de células. Neste estudo também foi avaliado o efeito protetor das matrizes de queijo fresco (Probiótico e Simbiótico) na sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*. O queijo Probiótico apresentou maior proteção quando comparado ao queijo Simbiótico sendo este comportamento creditado a dissolução parcial de inulina no queijo Simbiótico. Contudo, as duas formulações de queijo apresentaram contagens de células viáveis acima do recomendado em todas as etapas da simulação. Em contrapartida, o caldo MRS não foi capaz de manter a sobrevivência das bactérias confirmando assim a efeito protetor da matriz de queijo. Na última etapa deste trabalho foi possível avaliar o efeito da temperatura e da agitação no processo de crioconcentração progressiva do leite UHT desnatado. Em todos os ensaios realizados obtiveram-se frações concentradas de leite com alto teor de sólidos totais ($P < 0,05$), quando comparado ao leite inicial e as frações de gelo. A maior ($P < 0,05$) concentração de sólidos foi alcançada nos ensaios realizados com a menor temperatura ($-15\text{ }^{\circ}\text{C}$) e alta velocidade de agitação (1000 RPM) ($8,60 \pm 0,03\text{ g } 100\text{ g}^{-1}$), enquanto que o menor valor foi obtido nos testes com temperatura elevada ($-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) e sem nenhuma agitação (0 RPM) ($5,19 \pm 0,03\text{ g } 100\text{ g}^{-1}$). Contudo, a menor ($P < 0,05$) retenção de sólidos na fração de gelo foi observada nos ensaios realizados com temperatura elevada ($-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) e alta velocidade de agitação (1000 RPM) ($2,39 \pm 0,14\text{ g } 100\text{ g}^{-1}$). Este comportamento pode estar associado a velocidade de crescimento de cristal de gelo. Através dos dados obtidos pelo modelo linear geral foi possível verificar que os fatores temperatura, agitação e a interação entre eles foram significativos ($P < 0,05$) na concentração de sólidos. Além disso, constatou-se que o efeito da temperatura apresentou uma dependência do fator agitação, uma vez que a velocidade de agitação

apresentou maior influência na concentração de sólidos do que a temperatura do sistema. Todos os testes realizados a 1000 RPM apresentaram valores de *eff* elevados constatando que para este parâmetro o único fator que influenciou foi a agitação. A maior eficiência (*eff*) foi observado nos testes realizados a -5 °C com agitação de 1000 RPM, que também foi a variável com menor retenção de sólidos na fração de gelo. Os fatores temperatura, agitação e a interação entre eles influenciaram ($P < 0,05$) no valores de *Y* onde o maior valor foi obtido nos testes realizados a -5 °C com 500 RPM de agitação enquanto que o menor valor foi observado nos ensaios a -5 °C com 1000 RPM. Resultados semelhantes foram observados em estudos anteriores em sistemas de crioconcentração progressiva para soluções de sacarose. Todas as variáveis estudadas apresentaram um bom ajuste, com valores de RSM abaixo de 25%. O ponto de congelamento (PC) do leite UHT foi de -0,35 °C a uma concentração inicial de $5,00 \pm 0,03$ de sólidos totais, valor semelhante ao observado em outros estudos. Todas as soluções concentradas apresentaram uma diminuição da temperatura do PC, comportamento já descrito por outros autores. Os ensaios realizados a -15 °C e com agitação de 1000 RPM foram os que apresentaram menor PC (-1 °C) e também maior concentração de sólidos ($8,60 \pm 0,12$). Estes resultados corroboram com estudos prévios que apontam que o aumento da concentração de sólidos em uma solução, provoca a diminuição do seu ponto de congelamento.

Considerações finais

Os processos de crioconcentração em bloco e crioconcentração progressiva mostraram-se como alternativas promissoras para concentração de leite. Em ambas as técnicas obtiveram-se frações concentradas com elevado teor de sólidos totais. O leite concentrado pela técnica em bloco foi empregado com êxito no desenvolvimento de queijos frescos funcionais uma vez que as formulações de queijo fresco mantiveram suas contagens de células viáveis acima do recomendado sendo possível ao término deste estudo desenvolver um queijo fresco Probiótico (com adição de *Bifidobacterium* BB-12) e um queijo fresco Simbiótico (com adição de *Bifidobacterium* BB-12 e inulina). Além disso, ambos os queijos apresentaram uma matriz protetora para as bifidobactérias em condições gastrointestinais simuladas *in vitro*, comprovando assim a funcionalidade dos produtos desenvolvidos. Por fim, foi possível obter novos dados a respeito da concentração do leite pelo método de crioconcentração progressiva. Conclui-se através dos

ensaios realizados que para cada matriz alimentar os parâmetros de temperatura e agitação do sistema devem ser estudados com o intuito de encontrar as melhores condições de operação. Através dos dados de C_f , eff e Y foi possível concluir que as melhores condições de operação para a crioconcentração progressiva de leite UHT desnatado foram temperatura de refrigeração elevada (-5 °C) e alta velocidade de agitação (1000 RPM). Estes resultados contribuirão para a compreensão das propriedades físicas e nutricionais do leite possibilitando assim o desenvolvimento de novos produtos lácteos. Por fim, o potencial tecnológico e nutricional do leite foi confirmado através deste trabalho, contudo, novos estudos devem ser conduzidos para obterem-se mais informações sobre os melhores parâmetros de operação para este alimento e a elaboração de novos produtos funcionais a partir do concentrado do leite.

Palavras-chave: leite, crioconcentração, bloco, queijos frescos, *Bifidobacterium* BB-12, inulina, funcional, progressiva.

ABSTRACT

The increase in milk production is also associated with the incorporation of new technologies involving processing. Among these technologies is the freeze concentration that is based on the defrosting of a liquid food resulting in a concentrated fraction and an ice fraction. About the liquid food, its concentrated fraction obtained from the freeze concentration process can present higher nutritional quality, without being observed undesirable chemical and biochemical changes. In this sense, this thesis work evaluated two techniques of milk freeze concentration process, i.e., blocks and progressive. However, independently of the freeze concentration technique employed, it would be considered an unprecedented and relevant fact to the use of milk concentrate in the elaboration and evaluation of functional fresh cheese properties. This work aimed to study the milk block freeze concentration, to select the best concentrate for the preparation of fresh cheese with a probiotic microorganism (*Bifidobacterium* BB-12) and/or prebiotic (5 g 100 mL⁻¹ of inulin), both considered beneficial to the health of regular consumers of this type of product. These fresh cheeses, not submitted to the desorption stage, were evaluated for their physical, chemical, microbiological and microstructural properties. To evaluate the survival of *Bifidobacterium* BB-12 in the fresh cheese was done the survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. Finally, the performance of the progressive freeze concentration in pilot equipment was studied, varying the coolant temperatures (-5, -10, -15 ° C) and the agitation rates (0, 500, 1000 RPM). In the first stage of this study, the concentrated milk from the second stage of freeze concentration was chosen and used to obtain functional fresh cheeses. As expected, it was verified that only the fresh cheese added of inulin presented an increase in the total solids content, reflecting in the total carbohydrates content and the decrease in the greenish color of the cheese. Both inulin and the presence of whey, because the cheeses were not desorbed, resulted in firmer, less crumbly and compact cheeses. The addition of bifidobacteria did not influence about the properties of the cheese and still presented above the recommended values for it to be considered probiotic. Cheeses with bifidobacteria and inulin could also be classified as symbiotic. After simulated gastrointestinal conditions, a positive effect on viable cell counts and survival rate of *Bifidobacterium* BB-12 on probiotic cheese followed by symbiotic cheese (with bifidobacteria and inulin) was observed. Thus, both types of cheese (probiotic and symbiotic) could be considered a protective matrix for the survival of

Bifidobacterium BB-12. As in the first stage of this work, progressive freeze concentration was efficient in milk concentration. In this last step, it was proved that the temperature and the agitation rate influenced about the efficiency of the process, as well as the yield of the concentrated milk. From these last results, it can be concluded that the best conditions were reached when used a coolant temperature of - 5 ° C and mechanical stirring of 1000 RPM. However, the agitation rate presented more significant influence in the progressive system. Finally, it is worth emphasizing the innovative potential that this work represents through the study of two different freeze concentration types, considered as emerging, to obtain concentrated milk. It should also be highlighted that the use of concentrated milk in the production of functional fresh cheeses demonstrated the innovative potential for the dairy sector.

Keywords: concentrated milk, block freeze concentration, progressive freeze concentration, functional fresh cheese, *in vitro* simulation gastrointestinal condition.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 - Curva adaptada de resfriamento de suco de laranja.....	43
Figura 1.2 - Processo de cristalização em suspensão (a) e cristalização em película (b).....	45
Figura 1.3 - Esquema básico de crioconcentração em bloco.....	46
Figura 1.4 - Estrutura química da inulina.....	51
Figura 1.5 - Curva padrão para determinação dos parâmetros da análise instrumental do perfil de textura de queijo, obtida pela relação entre a força e o tempo através de dois ciclos de penetração. F_1 = firmeza; A_3 = adesividade; A_2/A_1 = coesividade; T_1/T_2 = elasticidade; dureza x coesividade = gomosidade; gomosidade x coesividade = mastigabilidade.	53
Figura 1.6 - Curva de tensão <i>versus</i> deformação em queijos.	55
Figura 1.7 - Coordenadas tridimensionais para medida instrumental da cor.....	56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1.1 - Composição química média do leite bovino.	41
---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	31
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	39
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	40
1.1 O LEITE.....	40
1.2 CRIOCONCENTRAÇÃO	42
1.2.1 Conceitos do processo	42
1.2.2 Crioconcentração em suspensão	44
1.2.3 Crioconcentração em película	44
1.2.4 Crioconcentração em bloco	46
1.2.5 Eficiência do processo e aplicações na área de alimentos	47
1.3 QUEIJOS FRESCOS	48
1.4 PROBIÓTICOS.....	49
1.5 PREBIÓTICOS	50
1.6 ANÁLISE INSTRUMENTAL DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)	52
1.7 ANÁLISE REOLÓGICA.....	54
1.8 ANÁLISE DE COR	56
REFERÊNCIAS.....	57
CAPÍTULO 2 – POTENCIAL DA CRIOCONCENTRAÇÃO DO LEITE NA PRODUÇÃO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS	67
ANEXO A	69
ANEXO E	73
ANEXO F	77
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
ANEXOS	81
ANEXO A – COMPROVANTE DE ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO NO PERIÓDICO <i>ADVANCE JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY</i> ISSN: 2042-4868, V.13(5), 196-209, 2017.....	82
ANEXO B – CERTIFICADO DE TRABALHO APRESENTADO NO XII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA	

DE ALIMENTOS. ALIMENTOS INOVADORES: DESAFIOS E OPORTUNIDADES, 2015.	83
ANEXO C – CERTIFICADO DE PREMIAÇÃO DO TRABALHO INTITULADO: EMPREGO DO CRIOCONCENTRADO DO LEITE NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS. TRABALHO APRESENTADO NO XII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. ALIMENTOS INOVADORES: DESAFIOS E OPORTUNIDADES, 2015.....	84
ANEXO D - CERTIFICADO DE TRABALHO APRESENTADO NO XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. ALIMENTAÇÃO: A ÁRVORE QUE SUSTENTA A VIDA, 2016.....	85
ANEXO E – COMPROVANTE DE ACEITE DE PUBLICAÇÃO DE ARTIGO NA REVISTA LWT – FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.....	86
ANEXO F – COMPROVANTE SUBMISSÃO DE ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA FSTI – FOOD SCIENCE TECHNOLOGY INTERNATIONAL. ID FSTI-18-0235.R1.	87

INTRODUÇÃO

A crioc Concentração é um fenômeno que ocorre durante o degelo de uma solução resultando em uma fase líquida concentrada e outra na forma de gelo (SÁNCHEZ et al., 2009; BELÉN et al., 2012). Geralmente o estudo da tecnologia de crioc Concentração em alimentos líquidos possibilita a obtenção de produtos com maior qualidade nutricional, evitando mudanças químicas e bioquímicas indesejáveis (AIDER; HALLEUX, 2009; SÁNCHEZ et al., 2010; AULEDA et al., 2011). Além disso, a remoção da água de um alimento líquido pela tecnologia de crioc Concentração é mais seletiva e econômica do que metodologias tradicionais como, por exemplo, a evaporação (YEE; WILEY; BAO, 2007), empregada também na obtenção de leite concentrado. Entretanto, a principal limitação da concentração de líquidos pela tecnologia de crioc Concentração é creditada à quantidade elevada de solutos que permanecem na fase gelo. Visando melhorar a eficiência do processo, Aider e Halleux (2009) e Chabarov e Aider (2014) indicaram que é necessário conhecer o comportamento da matéria prima a ser submetida a esta tecnologia, bem como avaliar o seu comportamento em diferentes técnicas, prevendo assim, as melhores condições para o seu futuro emprego.

Dentre as técnicas de crioc Concentração destacam-se a crioc Concentração em blocos e a progressiva. Na crioc Concentração em blocos a solução pode ser completamente congelada e parcialmente descongelada, cuja fração líquida seria o concentrado. A vantagem desta técnica é que o leite permanece estático e, conseqüentemente, não haveria necessidade de equipamento complexo. Contudo, impõe desafios de pesquisa associados à sua habilidade para diminuir a oclusão do soluto, visando obter uma operação industrial viável. Cabe ressaltar que em pesquisas executadas no Brasil, como a do nosso grupo, somente é empregada a metodologia em blocos. Já o grupo de pesquisa da Universidad Politecnica de Catalunya, com participação da Profa. Dra. Mercé Raventós e coorientação do Prof. Dr. Eduard Hernández, durante o doutorado sanduíche desta tese, o estudo do comportamento do leite foi realizado diante da crioc Concentração progressiva. Diferentemente da crioc Concentração em blocos, esta técnica consiste na formação de uma película de gelo que é produzida em uma superfície de resfriamento enquanto o fluido está se movendo sobre a camada crescente de gelo em um equipamento tubular. No entanto, independente do processo de crioc Concentração empregado, submeter o leite a uma tecnologia de crioc Concentração, e utilizar o concentrado obtido na produção de um

queijo fresco, poderia colaborar para o aumento do seu rendimento, já que o leite é constituído por aproximadamente 87 g 100 g⁻¹ de água. Apesar de Karimi, Mortazavian e Karami (2012) terem produzido um queijo fresco de leite ultrafiltrado, com alegações de propriedades funcionais, estudos sobre queijos frescos funcionais obtidos a partir de leite concentrado pelo processo de crioconcentração, com exceção dos desenvolvidos nesta tese, são inexistentes.

Alimentos classificados como funcionais são qualquer tipo de alimento ou ingrediente que além de exercer suas funções nutricionais básicas, quando consumido regularmente, produz efeitos benéficos à saúde do consumidor. Este conceito de funcionalidade também refere-se aos alimentos contendo probióticos e/ou prebióticos (KIP; MEYER; JELLEMA, 2006).

Os probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas e regularmente conferem benefício à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2006), melhorando o equilíbrio da microbiota intestinal e as defesas contra microrganismos patogênicos (SAAD et al., 2013). Já os prebióticos podem ser definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, pois, estimulam seletivamente a multiplicação e/ou atividade de uma ou mais espécies de bactérias benéficas, como as probióticas (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Segundo Buriti, Rocha e Saad (2005) os queijos frescos por não apresentarem conservantes não serem maturados e serem armazenados em temperatura de refrigeração, oferecem excelentes condições para a sobrevivência de microrganismos probióticos. Tradicionalmente estes queijos são produzidos de leite pasteurizado e sem adição de culturas iniciadoras (EVERT-ARRIAGADA et al., 2014). Kask et al. (2003) relataram que a sobrevivência de bactérias probióticas em produtos como queijos frescos é maior quando comparada aos queijos maturados, uma vez que estes são armazenados por maior tempo, possuem altos teores de cloreto de sódio, menores teores de umidade e conseqüentemente, menor atividade de água, sendo estas condições limitantes para os microrganismos probióticos. Além disso, a viabilidade e a manutenção de concentrações adequadas de microrganismos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* em queijo fresco já foram comprovadas em estudos realizados por Buriti, Rocha e Saad (2005), Souza e Saad (2009) e Fritzen-Freire et al. (2010).

Dentre os prebióticos se destaca a inulina (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002), apresentando resistência às enzimas digestivas, fazendo com que chegue intacta ao intestino para serem fermentadas

(ROBERFROID, 2007). O potencial sinérgico entre os probióticos e prebióticos é definido como uma simbiose, sendo o mesmo capaz de beneficiar ainda mais o consumidor regular deste tipo de produto (CASIRAGHI et al., 2007).

Karami et al. (2009) relataram que quando o processamento de um queijo é modificado e são adicionados microrganismos, ingredientes e/ou originários de diferentes matérias primas, como do leite concentrado, dentre algumas modificações tem-se as alterações nas suas propriedades físicas. Como a maioria dos alimentos sólidos, os queijos são de natureza viscoelástica, exibindo comportamento tanto de sólido elástico como de fluido viscoso (MESSENS et al., 2000). No caso específico dos queijos, a propriedade viscoelástica é função da sua composição, microestrutura, da disposição dos seus componentes na matriz proteica (EVERETT; AUTY, 2008) e do estado físico-químico dos seus componentes, bem como do pH (LUCEY; JOHNSON; HORNET, 2003). Já o potencial econômico deste produto é representado pelo fato de que aproximadamente um quarto do total de proteínas consumidas nas nações industrializadas é proveniente do leite, incluindo na forma de queijos. De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2017), entre os anos de 2017 a 2025, no Brasil a produção de queijo deverá aumentar 19,0% (2,2% ao ano), alcançando 946,96 mil toneladas no final deste período.

Levando em consideração que os queijos funcionais apresentam conhecidas propriedades benéficas ao consumidor, deve-se também avaliar a sobrevivência e o efeito protetor da matriz alimentar sobre bactérias probióticas. Desta forma, pode-se destacar a importância do uso de uma metodologia rápida e direta como a simulação gastrointestinal *in vitro*. Esta metodologia empregada nos queijos funcionais produzidos nesta tese já é consolidada através da sua utilização em trabalhos desenvolvidos com diferentes matrizes lácteas como queijo tipo Minas frescal obtido do leite de búfala realizado por Verruck et al. (2015); na produção de microcápsulas com soro de leite e prebióticos como agentes encapsulantes por Pinto et al. (2015); em queijo probiótico tipo Mascarpone por Almeida et al. (2017); em iogurte grego funcional por Pinto et al. (2017); e na produção de microcápsulas com leite de cabra integral e prebióticos por Verruck et al. (2017).

Diante destas motivações e relevância, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do processo de criocentralização do leite e o emprego do melhor concentrado na obtenção de um queijo fresco simbiótico, com propriedades químicas, físicas e microbiológicas e microestruturais definidas. Além disso, este estudo também buscou avaliar

independentemente dois diferentes processos de crioconcentração do leite, com o intuito de observar as principais modificações desta matéria prima. Assim, esta tese é apresentada em capítulos, sendo o primeiro referente à revisão bibliográfica e os demais referentes aos resultados experimentais obtidos, os quais estão expostos na forma de artigos científicos.

No Capítulo 1, de revisão bibliográfica, são abordados os principais aspectos sobre o leite, crioconcentração (conceitos do processo, suspensão, película, bloco, eficiência e aplicações na área de alimentos); queijos frescos; probióticos; prebióticos; análise instrumental do perfil de textura (TPA); análise reológica; e análise de cor.

O Capítulo 2 apresenta o estudo da crioconcentração em blocos de leite assim como a escolha do melhor concentrado do leite em relação ao aumento no teor de sólidos totais. O objetivo seguinte foi à elaboração de queijos frescos funcionais a partir deste concentrado adicionado de probiótico e/ou prebiótico. Estes queijos frescos foram avaliados quanto as suas propriedades físicas, químicas, microbiológicas e microestruturais.

O Capítulo 3 apresenta a análise da sobrevivência de *Bifidobacterium* BB-12 avaliada através da simulação gastrointestinal *in vitro* de formulações dos queijos frescos funcionais desenvolvidos no Capítulo 2. Através dos resultados obtidos com a simulação *in vitro* foi possível avaliar a influencia da matriz do queijo produzido na sobrevivência das bifidobactérias.

No Capítulo 4 está representado o estudo da concentração do leite empregando a crioconcentração progressiva em equipamento piloto avaliando o seu desempenho em diferentes temperaturas de resfriamento e taxas de agitação.

REFERÊNCIAS

- AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; MELNIKOVA, I. Skim acidic milk whey cryoconcentration and assessment of its functional properties: Impact of processing conditions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 3, p. 334–341, 2009.
- ALMEIDA, J. DOS S. O. DE et al. Probiotic Mascarpone-type cheese: Characterisation and cell viability during storage and simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Dairy Technology**, p. 1–9, 2017.
- AULEDA, J. M. et al. Estimation of the freezing point of concentrated fruit juices for application in freeze concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 105, n. 2, p. 289–294, jul. 2011.
- BELÉN, F. et al. One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 3, p. 364–373, 2012.
- BURITI, F. C. A.; DA ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 12, p. 1279–1288, 2005.
- CASIRAGHI, M. C. et al. Effects of a synbiotic milk product on human intestinal ecosystem. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 2, p. 499–506, ago. 2007.
- CHABAROV, A.; AIDER, M. Mathematical modeling and experimental validation of the mass transfer during unidirectional progressive cryoconcentration of skim milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 21, p. 151–159, jan. 2014.
- EVERETT, D. W.; AUTY, M. A. E. Cheese structure and current methods of analysis. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 759–773, jul. 2008.
- EVERT-ARRIAGADA, K. et al. Commercial application of high-pressure processing for increasing starter-free fresh cheese shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 498–505, mar. 2014.

FAO/WHO. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guideline for evaluation. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. **Food and Nutrition Paper**, v.85, p.413-426, 2006.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. The effect of direct acidification on the microbiological, physicochemical and sensory properties of probiotic Minas Frescal cheese. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 4, p. 561–568, 2010.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal Nutrition**, v. 125, p. 1401–1412, 1995.

GOMES DA CRUZ, A. et al. Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 8, p. 344–354, 2009.

KARAMI, M. et al. Microstructural properties of fat during the accelerated ripening of ultrafiltered-Feta cheese. **Food Chemistry**, v. 113, n. 2, p. 424–434, 2009.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A. M.; KARAMI, M. Incorporation of *Lactobacillus casei* in Iranian ultrafiltered Feta cheese made by partial replacement of NaCl with KCl. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 8, p. 4209–22, 2012.

KASK, S. et al. Physiological properties of *Lactobacillus paracasei*, *L. danicus* and *L. curvatus* strains isolated from Estonian semi-hard cheese. **Food Research International**, v. 36, n. 9–10, p. 1037–1046, jan. 2003.

KIP, P.; MEYER, D.; JELLEMA, R. H. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 1098–1103, 2006.

KOLIDA, S. ; TUOHY, K. ; GIBSON, G. R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 193–197, 2002.

LUCEY, J. A.; JOHNSON, M. E.; HORNE, D. S. Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 9, p. 2725–2743, 2003.

MESSENS, W. et al. Rheological properties of high-pressure-treated Gouda cheese. **International Dairy Journal**, v. 10, n. 5, p. 359–367, 2000.

PINTO, S. S. et al. Influence of microencapsulation with sweet whey and prebiotics on the survival of *Bifidobacterium* BB-12 under simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 1004–1009, 2015.

PINTO, S. S. et al. Effect of the incorporation of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated with sweet whey and inulin on the properties of Greek-style yogurt. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 9, p. 2804–2813, 2017.

ROBERFROID, M. B. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2493–2502, 2007.

SAAD, N. et al. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 1–16, 2013.

SÁNCHEZ, J. et al. Review. Freeze Concentration in the Fruit Juices Industry. **Food Science and Technology International**, v. 15, n. 4, p. 303–315, 2009.

SÁNCHEZ, J. et al. Progressive freeze concentration of orange juice in a pilot plant falling film. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 644–651, 2010.

VERRUCK, S. et al. The buffalo Minas Frescal cheese as a protective matrix of *Bifidobacterium* BB-12 under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 1179–1183, 2015.

VERRUCK, S. et al. Survival of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated with full-fat goat's milk and prebiotics when exposed to simulated gastrointestinal conditions and thermal treatments. **Small Ruminant Research**, v. 153, n. May, p. 48–56, 2017.

YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, v. 290, n. 1–2, p. 125–137, 1 mar. 2007.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 O LEITE

O leite é definido como um líquido opaco de coloração branca amarelada, de sabor levemente adocicado e odor característico (BELITZ; GROSCHE, 1997). Do ponto de vista biológico, pode ser definido como um produto da secreção das glândulas mamárias. É um alimento constituído principalmente por proteínas, lipídeos, lactose, sais minerais, enzimas lipossolúveis e hidrossolúveis (BORSZCZ, 2002).

O leite está entre os seis produtos mais importantes para a agropecuária brasileira, desempenhando um importante papel como alimento e fonte de renda (VILELA; BACILA; TASTALDI, 2002). O Brasil atualmente é o quinto maior produtor mundial de leite, correspondendo a uma produção de cerca de 34,6 milhões de toneladas em 2016 (BRASIL 2017a). De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no primeiro trimestre de 2017 foram adquiridos 5,87 bilhões de litros de leite cru pelas unidades de beneficiamento inspecionadas. Houve um aumento na aquisição de leite de 7,87 milhões de litros em nível nacional, quando comparando ao mesmo período de 2016. Este aumento foi impulsionado pelos estados de São Paulo, Pará, Rio de Janeiro, Goiás e Paraná. No entanto, o estado de Minas Gerais lidera o ranking de produção com 25,8% da aquisição nacional, seguido por Rio Grande do Sul (13,5%) e Paraná (11,7%) (BRASIL, 2017b).

Do ponto de vista físico-químico, o leite é considerado uma mistura homogênea de substâncias como proteínas, lactose, glicérides, vitaminas entre outras. Em emulsão se encontra a gordura e substâncias associadas, ao passo que as caseínas se encontram em suspensão na matriz (ORDÓÑEZ, 2005). A composição química média do leite bovino pode apresentar variações bem como a quantidade produzida por animal, sendo estes aspectos dependentes da espécie, raça, individualidade, alimentação, fase de lactação, idade do animal, variações climáticas, entre outros fatores (FENNEMA, 2000) (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 - Composição química média do leite bovino.

Componentes	Teor (g 100 g⁻¹)	Varição (g 100 g⁻¹)
Água	86,60	85,40 – 87,70
Gordura	4,10	3,40 – 5,10
Proteínas	3,60	3,30 – 3,90
Lactose	5,00	4,90 – 5,00
Sais minerais	0,70	0,68 – 0,74

Fonte: Fennema (2000).

O leite contém compostos nitrogenados, dos quais 95% são proteínas e 5% compostos nitrogenados não proteicos (SILVA, 1997). As proteínas do leite são divididas principalmente em caseínas e proteínas do soro, ambas apresentando alto valor biológico. As caseínas são proteínas globulares que constituem em torno de 80% do teor total de proteínas no leite (FENNEMA, 2000) sendo compostas por quatro subunidades que são α_1 , α_2 , β e κ , que se apresentam quase totalmente (95%) agregadas na forma de micelas. As micelas apresentam um teor proteico de 94%, sendo o restante constituído por cálcio e fosfato, com uma pequena fração de magnésio e citrato (WALSTRA, 1990). O restante do teor proteico do leite é composto pelas proteínas do soro sendo estas representadas pelas β -lactoglobulinas e α -lactoalbuminas (17%) e albumina bovina sérica (3%) (HAQUE; RICHARDSON; MORRIS, 2001).

Representando 96 a 98% do total de lipídeos do leite, os triglicerídeos encontram-se na forma de glóbulos esféricos com diâmetro variando entre 2 e 10 μm (FENNEMA, 2000). Nesta fração ainda são encontrados os fosfolipídeos, provenientes principalmente das membranas celulares, na proporção de 1% dos lipídeos totais, sendo responsáveis pela formação de emulsões com caráter hidrofóbico e hidrofílico (AMIOT, 1991).

Outros componentes também são encontrados no leite em baixos teores, mas que contribuem para o valor nutritivo, destacando-se as vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e compostos responsáveis pelo aroma e sabor, como aldeídos, cetonas, lactonas e pigmentos carotenoides (VARNAM; SUTHERLAND, 1995).

Dentre os carboidratos presentes no leite, a lactose é o principal açúcar sendo bastante importante sob ponto de vista tecnológico da matéria prima. É um dissacarídeo formado por resíduos de glicose e galactose unidos por ligação glicosídica β (1-4). Como características físicas possui leve sabor adocicado e poder edulcorante cerca de seis vezes menor do que a sacarose (ORDÓÑEZ, 2005).

As importantes propriedades nutricionais e tecnológicas do leite são fatores determinantes na utilização dessa matéria prima na produção de derivados lácteos de grande consumo e aceitabilidade. Tendo em vista isto, o estudo de novas tecnologias de processamento do leite é incentivado para a busca de novos produtos lácteos para o consumidor (MAIJALA, 2000).

1.2 CRIOCONCENTRAÇÃO

1.2.1 Conceitos do processo

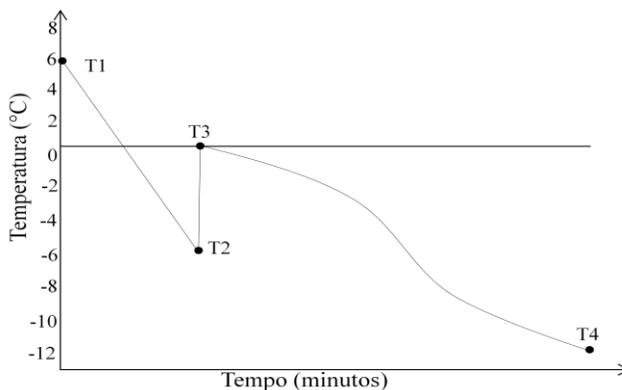
A crioconcentração é uma operação unitária de separação utilizada para concentrar líquidos por meio do congelamento e posterior separação de uma fração congelada rica em água porém, contendo sólidos. O processo consiste basicamente na redução controlada da temperatura da solução de interesse, abaixo do seu ponto de congelamento, com o intuito de evitar a temperatura eutética no sistema onde todos os componentes da solução se apresentam como sólido (RAVENTÓS et al., 2007). Ao reduzir a temperatura da solução inicia-se o processo de cristalização da água, o que permite a formação e separação de cristais, dando origem a um produto concentrado na fase fluída (BELÉN et al., 2012; SÁNCHEZ et al., 2009). Um sistema de crioconcentração básico compreende duas etapas fundamentais: congelamento da solução e separação da fração concentrada e dos cristais de gelo.

A etapa de cristalização entende-se também como um processo de transferência de calor e massa que ocorre devido a diferença de temperatura entre o fluído e o sistema de resfriamento. Ocorre transferência de calor entre o fluído a ser concentrado e a placa refrigerante, ao mesmo tempo que ocorre a transferência de solutos entre a fração de gelo e a solução concentrada. Em um sistema de crioconcentração observam-se três etapas básicas: formação de uma estrutura cristalina, crescimento dos cristais de gelo, e reorganização da estrutura cristalina. A forma com que a estrutura cristalina é formada irá determinar o tamanho e a distribuição dos cristais de gelo. A velocidade de congelamento é o parâmetro utilizado para controlar o crescimento destes cristais em um sistema de crioconcentração (PETZOLD; AGUILERA, 2013). Após a formação dos cristais de gelo, o seu crescimento é controlado pela taxa de calor liberada durante a mudança de fase da solução (líquido-sólido) e também pela taxa de transferência de massa. A solução é concentrada ao mesmo tempo que o volume dos

cristais aumenta e a temperatura do sistema diminui. Por fim, os cristais de gelo formados se reorganizam em número, tamanho, forma e orientação (CHEN; CHEN; FREE, 1998; SÁNCHEZ et al., 2009)

Em processos de concentração de alimentos líquidos pelo frio é preciso entender as etapas de resfriamento da solução que ocorrem durante o procedimento. A Fig. 1.1 apresenta um gráfico adaptado da curva de resfriamento de suco de laranja concentrado por criocentralização (SÁNCHEZ, 2011). Através desta curva é possível identificar os principais pontos de transição de fase da solução. O ponto T1 representa a temperatura inicial da solução. O intervalo entre os pontos T1 e T2 é chamado de subresfriamento, onde a temperatura cai abaixo do seu ponto de congelamento sem a formação de cristais de gelo. O ponto T3 corresponde ao início da cristalização e o ponto de congelamento da solução, onde se observa um aumento da temperatura associado ao calor gerado para formar os primeiros cristais de gelo (calor latente). Quanto mais solutos possui o alimento, menor é a temperatura de T3. Após atingir a temperatura T3 os cristais de gelo começam a crescer e a solução a criocentralizar. A medida que os cristais crescem e a solução é concentrada a temperatura do sistema começa a cair novamente até chegar ao ponto T4 que corresponde a temperatura eutética do sistema. Em T4 soluto e solvente cristalizam simultaneamente não havendo mais aumento da concentração ou seja, a separação de uma fase concentrada se torna impossível. Em suma todos os alimentos líquidos apresentam este perfil de resfriamento, contudo o ponto de congelamento é diferente para cada alimento e por consequência a sua temperatura eutética também.

Figura 1.1 – Curva adaptada de resfriamento de suco de laranja.



Fonte: Adaptado de Sánchez (2011).

Existem diferentes sistemas de criocentralização que basicamente se diferem pelo seus mecanismos de formação dos cristais de gelo. No âmbito da concentração de líquidos alimentares podemos citar três técnicas: criocentralização em suspensão, criocentralização em película (placas ou progressiva), e criocentralização em bloco (AIDER; OUNIS, 2012; SÁNCHEZ et al., 2009).

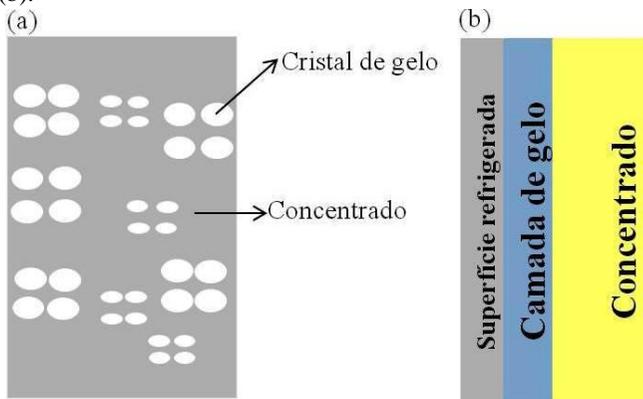
1.2.2 Criocentralização em suspensão

O sistema é composto de uma fase inicial de geração de vários cristais de gelo (nucleação) seguido de uma fase de crescimento dos núcleos de gelo na solução, o que leva a uma cristalização parcial da água (Fig. 1.2 a). A separação dos cristais de gelo a partir da solução concentrada é crucial para o processo, no entanto o tamanho dos cristais de gelo ainda é limitado (MIYAWAKI et al., 2005; SÁNCHEZ et al., 2009). Esta técnica é considerada eficiente em termos de pureza da fração de gelo e aumento da concentração (QIN et al., 2006). Contudo, é necessário um sistema complexo de separação dos cristais de gelo, o que promove um substancial aumento nos custos de operação (MIYAWAKI et al., 2005; SÁNCHEZ et al., 2009).

1.2.3 Criocentralização em película

Diferente do que acontece na criocentralização em suspensão, nesta técnica ocorre a formação de um único cristal de gelo em contato com uma superfície refrigerada (Fig. 1.2 b). Desta maneira a separação do cristal de gelo se torna muito mais fácil podendo ser realizada no mesmo equipamento (RAVENTÓS et al., 2007). Duas opções para este sistema já foram desenvolvidas: criocentralização em placas e criocentralização progressiva. A diferença entre estas duas técnicas está relacionada aos equipamentos utilizados para formação da camada de gelo.

Figura 1.2 - Processo de cristalização em suspensão (a) e cristalização em película (b).



Fonte: Autor.

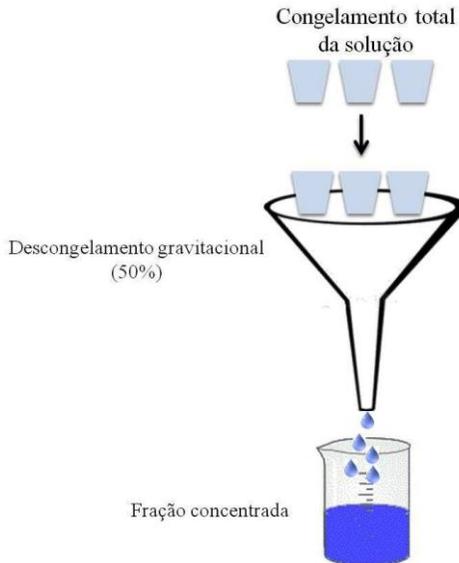
Na crioconcentração em placas o processo de cristalização ocorre sobre uma superfície vertical refrigerada. A solução a ser concentrada é continuamente circulada sobre a superfície das placas que em seu interior circulam um fluido refrigerante. O cristal de gelo é formado e permanece aderido à superfície fria facilitando a sua remoção ao término do processo (SÁNCHEZ et al., 2011). Por fim, a solução concentrada pode ser coletada em um tanque ao cair por gravidade.

Já na crioconcentração progressiva uma película de gelo é produzida em uma superfície refrigerada enquanto o fluido está em movimento sob a camada de gelo em crescimento (MIYAWAKI et al., 2005). Este sistema pode apresentar-se em um equipamento tubular ou vertical. O sistema tubular consiste basicamente de dois tubos concêntricos conectados onde a solução a ser concentrada e o fluido refrigerante circulam. Já o sistema vertical compreende um tanque encamisado cilíndrico contendo um fluido refrigerante. A solução a ser concentrada é colocada no interior do cilindro e o gelo cresce aderido à parede do cilindro. O emprego de agitação mecânica auxilia na diminuição da retenção de sólidos na fração de gelo. Parâmetros como fluxo da solução, concentração inicial e temperatura de resfriamento são primordiais para reduzir a retenção de sólidos na camada de gelo (MIYAWAKI et al., 2005; OJEDA et al., 2017).

1.2.4 Crioconcentração em bloco

Neste processo a solução é congelada totalmente e descongelada parcialmente (50%) para recuperar a fração líquida concentrada (Fig. 1.3). Esta técnica é composta por três etapas: congelamento, descongelamento e separação das frações (concentrado e gelo). A solução de alimentação é completamente congelada, e a fração concentrada é então separada da fração de gelo através do descongelamento gravitacional assistido ou não por outras técnicas para melhorar a eficiência da separação (AIDER; DE HALLEUX, 2008; PETZOLD et al., 2015). Uma de suas vantagens é a possibilidade de realizar vários ciclos permitindo o aumento da concentração (AIDER; OUNIS, 2012). É um método que vem sendo estudado como uma tecnologia de concentração promissora e eficaz para produzir alimentos líquidos concentrados com um elevado valor nutritivo e sensorial (AIDER; DE HALLEUX, 2009). Contudo, são necessárias pesquisas relacionadas à diminuição da retenção de sólidos na fração de gelo para alcançar as condições industriais adequadas.

Figura 1.3 - Esquema básico de crioconcentração em bloco.



Fonte: Autor.

1.2.5 Eficiência do processo e aplicações na área de alimentos

As tecnologias de crioconcentração em película e crioconcentração em bloco vêm sendo estudadas como alternativas promissoras para produzir alimentos líquidos concentrados com um elevado valor nutritivo e sensorial (AIDER; DE HALLEUX, 2009; AMRAN et al., 2016). A eficiência desta técnica é determinada em função da pureza do gelo obtido e também através do seu consumo energético (AIDER; OUNIS, 2012; PAZMIÑO et al., 2016; PETZOLD et al., 2015).

Sabe-se que o consumo energético de um sistema de crioconcentração é menor comparado a um sistema de evaporação, uma vez que o calor latente de solidificação da água é de 335 kJ/ kg e o de evaporação é de 2260 kJ/ kg (JUSOH; MOHD YOUNS; ABU HASSAN, 2008). Desta forma, para alcançar os maiores níveis de eficiência é necessário encontrar as condições termodinâmicas ótimas, através da compreensão dos fenômenos de transferência de calor e massa que ocorrem no processo. A maior dificuldade está em controlar a velocidade de crescimento dos cristais de gelo para evitar a retenção de sólidos no mesmo. Além disso, é importante estudar a natureza da solução a ser concentrada e entender os fenômenos que ocorrem durante o processo. Fatores como concentração inicial da solução, ponto de congelamento, viscosidade da solução de alimentação, temperatura de resfriamento assim como sistemas de agitação mecânica devem ser avaliados (OJEDA et al., 2017)

Aider e Ounir (2012) ao concentrar leite em pó desnatado, pelo processo de crioconcentração em bloco, observaram que após dois ciclos de crioconcentração a viscosidade da solução aumentou significativamente resultando na diminuição da eficiência do processo. Estes autores constataram que o aumento da viscosidade da solução influencia as propriedades de cristalização. Além disso, observou-se que as taxas de crescimento e maturação dos cristais de gelo são afetadas pela presença de componentes como lactose, que atua como um agente crio-protetor, prejudicando assim a separação (BLANQUET et al., 2005). Comportamento semelhante já havia sido observado por Aider, Halleux e Akbache (2007) ao concentrar soro de leite por crioconcentração.

Para a indústria de derivados lácteos, o emprego da crioconcentração se torna interessante em termos da manutenção de sabores específicos no leite concentrado. O leite pode ser facilmente concentrado através da técnica de evaporação, contudo, Aider e Ounis

(2012) confirmaram que a sua estabilidade é afetada em temperaturas acima de 70°C podendo causar a agregação irreversível de proteínas sensíveis ao calor. Ao utilizar o método de crioconcentração em substituição às técnicas que empregam calor para concentrar, seria possível diminuir os danos aos compostos termossensíveis presente no leite e ainda promover o aumento do teor de proteínas e lactose, agregando valor à matéria prima e diversificando a produção no setor lácteo (AIDER; OUNIS, 2012).

O emprego desta tecnologia assegura maior qualidade do produto concentrado (AIDER; DE HALLEUX, 2009), proporcionando a remoção mais seletiva da água do que a evaporação ou processo de separação por membranas, como a microfiltração e a ultrafiltração (YEE; WILEY; BAO, 2007). Por fim, pode-se citar a aplicação desta tecnologia em soro de leite (AIDER; DE HALLEUX; AKBACHE, 2007), suco de frutas (SÁNCHEZ et al., 2009) e leite em pó desnatado (AIDER; OUNIS, 2012). Do ponto de vista de valorização, novas opções de utilização do leite concentrado, como por exemplo, na produção de queijos frescos, devem ser levadas em consideração.

1.3 QUEIJOS FRESCOS

Queijos frescos são produzidos com leite pasteurizado por meio da coagulação enzimática do leite utilizando coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, podendo ser sem adição de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997), onde ocorre a coagulação das micelas de caseína desestabilizadas (SGARBIERI, 2005). Estes tipos de queijos apresentam coloração branca e sabor suave levemente ácido (BURITI; DA ROCHA; SAAD, 2005). São classificados como muito alta umidade, devendo ser consumidos frescos (BRASIL, 2004).

Durante o processo de coagulação do leite, a κ -caseína, localizada na superfície das micelas de caseína, sofre hidrólise enzimática nas ligações 105 e 106. A porção N-terminal da molécula de κ -caseína, denominada para- κ -caseína, permanece ligada à micela, enquanto que a porção C-terminal, é solúvel na porção aquosa. Com isso, na presença de cálcio, pH e temperaturas adequadas, ocorre aglomeração das micelas desestabilizadas, resultando na formação da coalhada (FOX et al., 2000).

As principais características dos queijos frescos são a alta atividade de água, pH acima de 5,0, baixo teor de cloreto de sódio e ausência de conservantes (BURITI; DA ROCHA; SAAD, 2005). Fritzen-Freire et al. (2010) relataram a sobrevivência da *Bifidobacterium* BB-12 em queijo fresco, resultando em um produto com grande

potencial e alegações funcionais. Além destes autores, outros trabalhos também observaram a sobrevivência das bifidobactérias em condições gastrointestinais simuladas adicionadas em queijo de leite de búfala Minas Frescal (VERRUCK et al., 2015a) e em queijo Mascarpone (ALMEIDA et al., 2017).

Os queijos frescos por não serem maturados e serem armazenados sob refrigeração, oferecem excelentes condições para a sobrevivência de microrganismos probióticos (BURITI; DA ROCHA; SAAD, 2005). Para o desenvolvimento de queijos contendo bifidobactérias é importante estudar as características de crescimento dos microrganismos, bem como os efeitos do processo de fabricação do queijo sobre a sobrevivência dos mesmos (BOYLSTON et al., 2004). O pH mais elevado, maior teor de gordura e consistência mais sólida do queijo oferecem maior proteção para os probióticos durante a passagem pelo trato gastrointestinal (STANTON et al., 1998). Para a utilização com êxito de bifidobactérias em queijos é importante também que o seu emprego não provoque grandes alterações na composição, sabor, textura, entre outras características, quando comparadas com o produto tradicional, sem adição de bifidobactéria (CORBO et al., 2001).

Técnicas de concentração também vêm sendo aplicadas na fabricação de queijos frescos. Uma destas tecnologias é a ultrafiltração, cujo queijo é obtido através da adição do coalho diretamente na embalagem comercial final, eliminando as etapas de corte da massa e dessoragem. Normalmente concentrando o leite, menos coalho é necessário para produzir o queijo, apresentando maior rendimento, pois, as proteínas do soro (lactoalbumina e lactoglobulina) não são eliminadas (CARVALHO; VIOTTO; KUAYE, 2007; HINRICHS, 2001). No entanto a elaboração de queijos frescos funcionais a partir de leite crioconcentrado ainda não foi estudada.

1.4 PROBIÓTICOS

Probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2006). Os microrganismos probióticos mais usados em alimentos são dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MOHAMMADI et al., 2011). Estes gêneros têm sido isolados de todas as porções saudáveis do trato gastrointestinal humano, sendo que as bifidobactérias têm preferência pela região do íleo terminal e os lactobacilos pelo cólon (BIELECKA; BIEDRZYCKA; MAJKOWSKA, 2002).

Os probióticos fornecem uma série de benefícios à saúde do hospedeiro, através da conservação da microbiota intestinal normal, proteção contra patógenos (D'AIMMO; MODESTO; BIAVATI, 2007), manutenção do sistema imunológico (GILLILAND, 1990), redução do nível de colesterol sérico e pressão arterial, atividade anticancerígena (RASIC, 2003) e melhor aproveitamento de nutrientes absorvidos do alimento (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

Para ser classificado como probiótico um microrganismo deverá atender a uma série de requisitos, como por exemplo, ser estável às condições do trato gastrointestinal (bile e ácido), ser capaz de aderir à mucosa intestinal e ser metabolicamente ativo no intestino (OLIVEIRA et al., 2002). Além destes critérios, é desejável também que o microrganismo sintetize substâncias antimicrobianas (bacteriocinas) e possua antagonismo perante bactérias patogênicas (DUNNE et al., 2001; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002). Na elaboração de um alimento probiótico é importante que o microrganismo probiótico possa ser produzido em escala industrial e, portanto resista ao processamento (FERREIRA; TESHIMA, 2000).

Os benefícios à saúde obtidos pelos probióticos podem ser alcançados apenas quando o alimento contiver um número de células viáveis, durante toda a sua estocagem, maior que 6 log UFC (Unidade Formadora de Colônia) por mL ou g do produto (VERRUCK et al., 2015b). É também necessário que se consuma os produtos probióticos regularmente, em aproximadamente 100 g por dia do produto a fim de disponibilizar cerca de 8 log UFC, garantindo assim a funcionalidade do produto (KARIMI; MORTAZAVIAN; DA CRUZ, 2011).

1.5 PREBIÓTICOS

Os prebióticos podem ser definidos como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, pois estimulam seletivamente a multiplicação e/ou atividade de uma ou mais espécies de bactérias no cólon (GIBSON, G. R.; ROBERFROID, 1995). Gibson et al. (2004) também definiram prebiótico como um ingrediente seletivamente fermentado por probióticos, capaz de promover mudanças específicas na composição e/ou atividade da microbiota intestinal do hospedeiro. Segundo Gibson e Roberfroid (1995), carboidratos não digeríveis (oligossacarídeos e inulina) são exemplos de prebióticos.

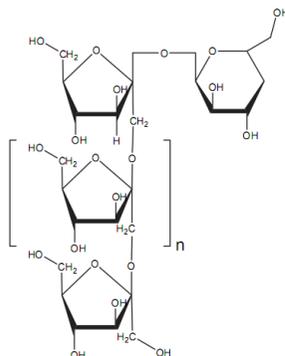
Diversos efeitos podem ser atribuídos ao consumo regular de prebióticos, como a estimulação seletiva das bactérias benéficas no cólon; redução do risco de câncer de cólon; capacidade em reprimir a

ação de patógenos e; modulação de funções fisiológicas, como absorção de cálcio (SAAD et al., 2013). Contudo, para que um ingrediente possa ser classificado como prebiótico se faz necessária a comprovação de que o mesmo é capaz de resistir a acidez gástrica, hidrólise por enzimas; ser fermentado pela microbiota gastrointestinal e estimular seletivamente o desenvolvimento de bactérias benéficas à saúde no trato gastrointestinal (GIBSON et al., 2004).

A inulina e a oligofrutose são os prebióticos mais estudados (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002) e utilizados como ingredientes funcionais em alimentos (KOLIDA; TUOHY; GIBSON, 2002). São classificadas como polissacarídeos não digeríveis encontrados em diversas plantas como alho, chicória, alcachofra e cebola, atuando como carboidratos de reserva (BOSSCHER, 2009). Por serem resistentes às enzimas digestivas, estes polissacarídeos são capazes de chegar ao intestino e serem fermentados por bifidobactérias (ROBERFROID, 2007).

A inulina é um carboidrato de reserva naturalmente presente nas plantas da família *Asteraceae* (RONKART et al., 2009), sendo que a espécie *Cichorium intybus* (chicória) é a mais usada para a extração industrial (ROBERFROID, 2007). A estrutura mais curta é a oligofrutose e ambas são classificadas como polissacarídeos não digeríveis conhecidos como frutanos (BOSSCHER, 2009). Os frutanos do tipo inulina são carboidratos compostos por cadeias lineares de unidades de frutose, ligadas entre si por ligações β (2-1), com ou sem uma unidade de glicose final e seu grau de polimerização varia entre 10 e 60 unidades de monossacarídeos (BIEDRZYCKA; BIELECKA, 2004; ROBERFROID, 2007) (Figura 1.4).

Figura 1.4 - Estrutura química da inulina.



Fonte: De Vos et al. (2010).

A inulina é comercializada como um pó inodoro, branco, que apresenta moderada solubilidade em água e sabor neutro ou levemente adocicado dependendo do comprimento da cadeia. Devido a sua solubilidade pode ser aplicada em alimentos líquidos (BOSSCHER, 2009). Além disso, tem a habilidade de formar microcristais quando misturada à água ou ao leite, promovendo uma textura finamente cremosa, semelhante a da gordura (FRANCK, 2002), sendo utilizada como substituto de gordura (KIP; MEYER; JELLEMA, 2006; PASEEPHOL; SMALL; SHERKAT, 2008). Devido esta propriedade, a inulina pode ser empregada em produtos lácteos, incluindo leites fermentados, iogurtes, sobremesas e queijos podendo gerar modificações reológicas nestes produtos (CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2012).

1.6 ANÁLISE INSTRUMENTAL DO PERFIL DE TEXTURA (TPA)

De acordo com Truong e Daubert (2000) a textura de um alimento pode ser avaliada através da análise instrumental do perfil de textura (TPA). Fox et al. (2000) indicam que a definição de cada parâmetro obtido na análise instrumental de textura de um queijo deve ser bem estabelecido. Nos queijos a textura é geralmente limitada às sensações experimentadas durante a mastigação, indicando a predominância das propriedades mecânicas (FOEGEDING; DRAKE, 2007).

A análise instrumental do perfil de textura resulta em uma curva específica para cada tipo de alimento (PONS; FISZMAN, 1996). A partir desta curva são gerados múltiplos parâmetros de textura simulando os movimentos mecânicos de mordida e mastigação através de curvas de força *versus* tempo (ANJOS et al., 2006). Para simular duas mordidas, a amostra é submetida a duas deformações consecutivas que simulam a mastigação (Figura 1.5) (SZCZESNIAK, 1963). Através da curva gerada para um queijo é possível determinar diversos parâmetros, sendo que estes podem ser divididos como propriedades primárias e secundárias (FOX et al., 2000; GUNASEKARAN; AK, 2003).

As propriedades primárias são classificadas em:

- (a) *Firmeza*: consiste na força necessária para atingir uma deformação;
- (b) *Coesividade*: é a resistência das ligações internas que compõem o queijo;
- (c) *Elasticidade*: corresponde ao grau de recuperação em que o queijo retorna à sua forma original após compressão e;

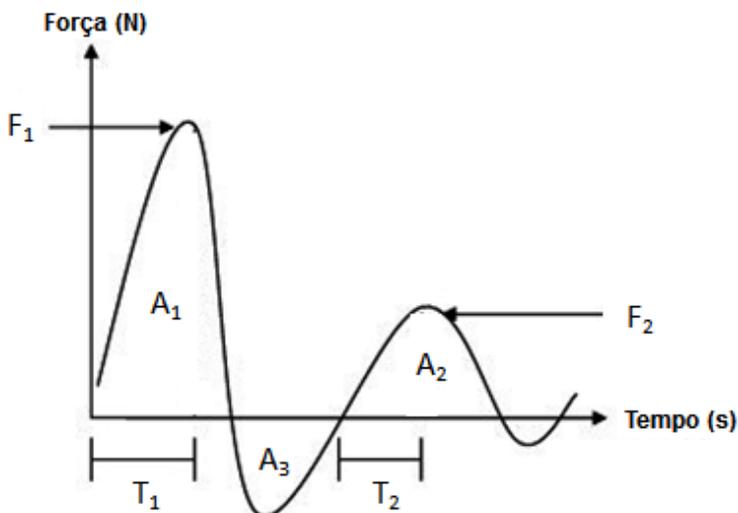
(d) *Adesividade*: é a quantidade de força requerida para remover o queijo que adere à boca durante o processo normal de mastigação.

As propriedades secundárias são classificadas em:

- (a) *Mastigabilidade*: é a energia requerida para desintegrar um pedaço de queijo até o ponto de ser engolido, sendo o produto da firmeza, elasticidade e coesividade;
- (b) *Gomosidade*: consiste na densidade que persiste ao longo da mastigação, sendo um produto de baixo grau de firmeza e de alto grau de coesividade.

Em um processo de fabricação de queijos vários fatores influenciam a textura final. Entre estes fatores podem ser citados o teor de umidade, a acidez e o pH. Contudo, a textura de um queijo durante o seu armazenamento pode modificar em decorrência da estrutura da rede de caseína, que é afetada pelo teor de proteína, gordura e água, bem como pelas atividades bioquímicas que ocorrem continuamente (GUNASEKARAN; AK, 2003).

Figura 1.5 - Curva padrão para determinação dos parâmetros da análise instrumental do perfil de textura de queijo, obtida pela relação entre a força e o tempo através de dois ciclos de penetração. F_1 = firmeza; A_3 = adesividade; A_2/A_1 = coesividade; T_1/T_2 = elasticidade; dureza x coesividade = gomosidade; gomosidade x coesividade = mastigabilidade.



Fonte: Szczesniak (1963).

1.7 ANÁLISE REOLÓGICA

A análise reológica avalia a deformação e o escoamento de materiais sólidos ou fluidos, em resposta a ação de uma força. Os parâmetros de deformação se referem aos materiais sólidos, como os queijos, ao passo que, os valores de escoamento dizem respeito aos materiais líquidos, como o requeijão cremoso (ANJO, 2000).

O estudo da deformação de um produto é feito utilizando instrumentos diversos e os resultados destes ensaios são avaliados com o intuito de compreender os efeitos de modificações no processo, composição, armazenamento, entre outros (JOSHI et al., 2004). Na reologia o parâmetro tensão é definido como a força por unidade de área, enquanto que a deformação corresponde à mudança relativa na forma ou dimensão a uma determinada tensão. A tensão aplicada no sentido normal ou cisalhante define o sentido da deformação (RAO, 1992; PRENTICE et al., 1993).

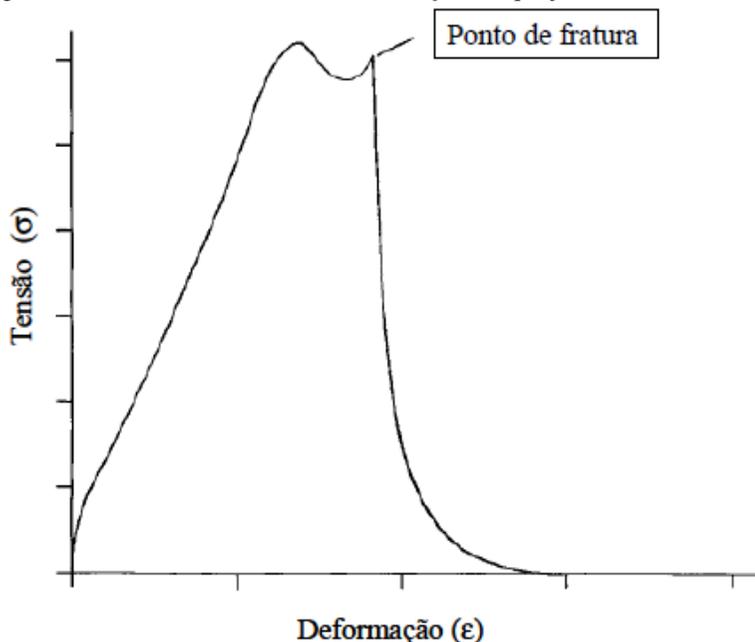
De acordo com a resposta ao estímulo mecânico, o material pode ser classificado como elástico ou viscoso (MACHADO, 2002). Segundo a lei de Hooke, para um sólido perfeitamente elástico a deformação é proporcional à tensão aplicada e vice-versa. No caso de um material viscoso ideal este obedece à lei de Newton, a qual define que a tensão e a taxa de cisalhamento estão relacionadas através de uma característica intrínseca que é a viscosidade (CASSU; FELISBERTI, 2005).

Um material viscoelástico, como é o caso dos queijos (LUCEY; JOHNSON; HORNE, 2003), apresenta ao mesmo tempo propriedades elásticas de um sólido ideal e também de fluidez de um líquido ideal. As características reológicas de um material viscoelástico são dependentes do tempo de aplicação da tensão ou da deformação. Esta viscoelasticidade pode ser linear ou não linear. No caso de materiais com viscoelasticidade linear os parâmetros reológicos são dependentes apenas do tempo, e não da tensão aplicada ao material e sempre haverá uma relação linear entre a tensão e deformação (RAO, 1992; BOURNE, 2002). As características de viscoelasticidade dos queijos resultam da contribuição individual e da interação entre os principais constituintes que são proteínas, gordura, minerais e água (FOX et al., 2000).

O teste de compressão uniaxial é utilizado para avaliar as propriedades reológicas de queijos. Neste teste, a deformação aplicada ao material é suficientemente grande para causar a fratura do material (Figura 1.6), obtendo informações sobre tensão de ruptura (σ_R) e deformação de ruptura (ϵ_R) (TUNICK, 2000). Estas propriedades podem

ser correlacionadas com parâmetros sensoriais como firmeza e elasticidade (FOX et al., 2000).

Figura 1.6 - Curva de tensão *versus* deformação em queijos.



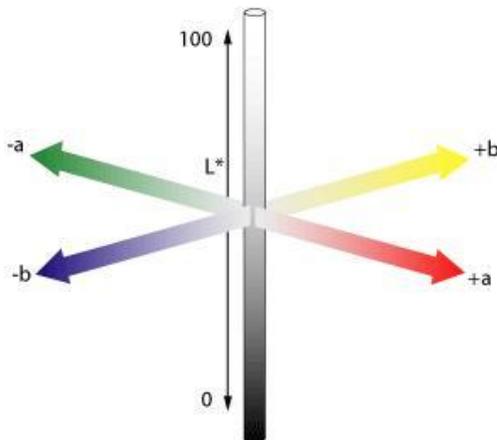
Fonte: Tunick (2000).

Na determinação da compressão uniaxial, uma amostra de forma e tamanho conhecido é colocada entre duas placas paralelas, sendo a superior movida para baixo a uma velocidade constante, enquanto é construída uma curva de força em função do tempo (ROHM; JAROS, 2011). Os dados resultantes de força *versus* tempo são convertidos em valores de tensão e deformação (GUNASEKARAN; AK, 2003). A deformação de ruptura é uma medida instrumental de elasticidade em queijos, ao passo que a tensão de ruptura é considerada uma medida instrumental da firmeza do queijo. Vários outros parâmetros podem ser determinados a partir das curvas de tensão-deformação como, por exemplo, o limite de elasticidade ou resistência ao escoamento, à resistência final, à flexibilidade, entre outros (GUNASEKARAN; AK, 2003).

1.8 ANÁLISE DE COR

A cor é um dos atributos utilizados para averiguar a qualidade dos alimentos, *in natura* ou processados, dessa forma estando relacionada à aceitabilidade de um produto perante o consumidor (DELAHUNTY; DRAKE, 2004). Além disso, através da análise de cor é possível estabelecer um perfil de vida útil de um alimento (GONZALES; BURIN; BUERA, 1999). Para a avaliação instrumental da cor utiliza-se um colorímetro triestímulo, o qual proporciona medições correlatas à percepção do olho humano. Em 1976, a *Commission Internationale d'Eclairage* (CIE) recomendou o uso da escala de cor CIE $L^*a^*b^*$, ou CIELAB, com a intenção de estabelecer um padrão que melhor representa a sensibilidade humana para a cor. O parâmetro L^* varia de 0 a 100, indicando a variação da coloração preta a branca. Os eixos a^* e b^* não apresentam limites numéricos específicos, mas a coordenada a^* indica a variação do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$), enquanto a coordenada b^* a variação do amarelo ($+b^*$) ao azul ($-b^*$) (Figura 1.7). A determinação instrumental da cor mais utilizada em queijos é através do uso de um colorímetro, que emprega a escala CIEL $^*a^*b^*$ (CUNHA; DIAS; VIOTTO, 2010; FRANCIS, 1995). Estudos prévios utilizaram a análise colorimétrica para estabelecer diferenças entre formulações de queijos adicionados de probióticos e prebióticos (ALMEIDA et al., 2017; VERRUCK et al., 2015b).

Figura 1.7 - Coordenadas tridimensionais para medida instrumental da cor.



Fonte: Hunterlab (1996).

REFERÊNCIAS

AIDER, M.; DE HALLEUX, D. Production of concentrated cherry and apricot juices by cryoconcentration technology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 1768–1775, 2008.

AIDER, M.; DE HALLEUX, D. Cryoconcentration technology in the bio-food industry: Principles and applications. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 679–685, 2009.

AIDER, M.; DE HALLEUX, D.; AKBACHE, A. Whey cryoconcentration and impact on its composition. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 92–102, 2007.

AIDER, M.; OUNIS, W. BEN. Skim milk cryoconcentration as affected by the thawing mode: Gravitational vs. microwave-assisted. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, p. 195–202, 2012.

ALMEIDA, J. O. et al. Probiotic Mascarpone-type cheese: Characterisation and cell viability during storage and simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Dairy Technology**, v. 70, p. 1–9, 2017.

AMIOT, J. **Ciencia y tecnología de la leche: principios y aplicaciones**. Zaragoza: Acribia, p.547, 1991.

AMRAN, N. A. et al. Review: Parametric Study on the Performance of Progressive Cryoconcentration System. **Chemical Engineering Communications**, v. 203, p. 957–975, 2016.

ANJO, V. D. A. Reologia de requeijão cremoso e outros queijos fundidos. In: VAN DENDER, A. G. F. et al. (Ed). **Requeijão Cremoso e Outros Queijos Fundidos: Aspectos de Qualidade, Processamento, Rotulagem, Legislação e Mercado**. Seminário ITAL/TECNOLAT, Campinas, cap.12, 2000.

ANJOS, D. A. A. et al. Avaliação Instrumental de Textura em Requeijão no Processo de Produção e Estocagem. In: VAN DENDER, A. G. F. (Ed.). **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: Tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL. Campinas, p. 392, 2006.

- BELÉN, F. et al. One option for the management of wastewater from tofu production: Freeze concentration in a falling-film system. **Journal of Food Engineering**, v. 110, p. 364–373, 2012.
- BELITZ, H. D.; GROSCHE, W. **Química de los alimentos**. 2 ed ed. Zaragoza: Acribia, 1997.
- BIEDRZYCKA, E.; BIELECKA, M. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 170–175, 2004.
- BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. **Food Research International**, v. 35, p. 125–131, 2002.
- BLANQUET, S. et al. Effects of cryoprotectants on the viability and activity of freeze dried recombinant yeasts as novel oral drug delivery systems assessed by an artificial digestive system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 61, p. 32–39, 2005.
- BORSZCZ, D. **Implantação do sistema APPCC para sorvetes: aplicação na empresa Kimyto**. 2002. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.
- BOSSCHER, D. **Fructan prebiotics derived from inulin**. In: CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, A. Probiotics and prebiotics science and technology, New York: Springer, 2009.
- BOURNE, M. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2ª Ed. Academic Press – an Elsevier Science Imprint, p.427, 2002.
- BOYLSTON, T. D. et al. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375–387, 2004.
- BRASIL. Portaria n.352 de 04 de setembro de 1997. O Ministério de Estado da Agricultura e Abastecimento e da Reforma Agrária institui o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 08 set. Seção 1, p. 13 – 68, 1997.
- BRASIL. Instrução Normativa n.4 de 1º de março de 2004. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento altera o regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p. 5, 2004.

BRASIL. Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. **Leite e Derivados: mercado internacional abril de 2017a**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_05_15_14_13_38_leite_abril_2017.pdf. Acesso em 27 de fevereiro de 2017.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Estatística e produção pecuária: junho de 2017b**. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201701caderno.pdf. Acesso em 27 de fevereiro de 2017.

BURITI, F. C. A.; DA ROCHA, J. S.; SAAD, S. M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. **International Dairy Journal**, v. 15, p. 1279-1288, 2005.

CARVALHO, J. D. G.; VIOTTO, W. H.; KUAYE, A. Y. The quality of Minas Frescal cheese produced by different technological processes. **Food Control**, v. 18, p. 262–267, 2007.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento Dinâmico-Mecânico e Relaxações em Polímeros e Blendas Poliméricas. **Química Nova**, v. 28, p. 255-263, 2005.

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R. A. Prebiotics in foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 187–191, 2012.

CHEN, P.; CHEN, X. D.; FREE, K. W. Solute Inclusion in Ice Formed From Sucrose Solutions on a Sub-cooled Surface-an Experimental Study. **Process Engineering**, v. 38, p. 1–13, 1998.

CORBO, M. R. et al. Microbiological and Biochemical Properties of Canestrato Pugliese Hard Cheese Supplemented with Bifidobacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 551–561, 2001.

CUNHA, C. R.; DIAS, A. I.; VIOTTO, W. H. Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. **Food Research International**, v. 43, p. 723–729, 2010.

D’AIMMO, M. R.; MODESTO, M.; BIAVATI, B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 115, p. 35–42, 2007.

DELAHUNTY, C. M.; DRAKE, M. A. Sensory character of cheese and its evaluation. In: FOX, P. F.; MCSEENEY, P. L. H.; COGAN, T. M.; GUINEE, T. P. (Ed). **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. London, Elsevier, 2004. Cap. 19. p. 455-487.

DE VOS, P. et al. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 292–302, 2010.

DUNNE, C. et al. *In vitro* selection criteria for probiotic bacteria for human origin: correlation with *in vivo* findings. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 386–392, 2001.

FAO/WHO. Probiotics in food: Health and nutritional properties and guideline for evaluation. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. **Food and Nutrition Paper**, v.85, p.413-426, 2006.

FENNEMA, O. R. **Química de alimentos**. 2 Ed. Zaragoza: Acribia, 2000.

FERREIRA, C. L. L. F.; TESHIMA, E. Prebióticos. **Bioteclonologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 16, p. 22–25, 2000.

FOEGEDING, E. A.; DRAKE, M. A. Invited Review: Sensory and Mechanical Properties of Cheese Texture. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 1611–1624, 2007.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg: Aspen Publishers, p. 587, 2000.

FRANCIS, F. J. Quality as influenced by color. **Food Quality and Preference**, v. 6, p. 149–155, 1 jan. 1995.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 287–291, 2002.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. **Journal of Food Engineering**, v. 96, p. 621–627, 2010.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal Nutrition**, v. 125, p. 1401–1412, 1995.

- GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, v. 17, p. 259, 2004.
- GILLILAND, S. E. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. **Microbiology Letters**, v. 87, p. 175–188, 1990.
- GONZALES, A. P.; BURIN, L.; BUERA, M. DEL P. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. **Food Research International**, v. 32, p. 185–191, 1999.
- GUNASEKARAN, S.; AK, M. M. **Measuring cheese stretchability. Cheese Rheology and Texture**. Boca Raton: CRC Press, p. 637, 2003.
- HAQUE, A.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. **Food Hydrocolloids**, v. 15, p. 593–602, 2001.
- HINRICHS, J. Incorporation of whey proteins in cheese. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 495–503, 2001.
- HUNTERLAB. Hunter Associates Laboratory. **Applications note: CIE L* a* b* color scale**. Virginia, v. 8, n.7, 1996.
- JOSHI, N. S. et al. Textural and Rheological Properties of Processed Cheese. **International Journal of Food Properties**, v. 7, p. 519–530, 2004.
- JUSOH, M.; MOHD YOUNS, R.; ABU HASSAN, M. A. Effect of Flowrate and Coolant Temperature on the Efficiency of Progressive Freeze Concentration on Simulated Wastewater. **International Journal of Chemical and Molecular Engineering**, v. 2, p. 308-312, 2008.
- KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A. M.; DA CRUZ, A. G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, p. 283–308, 2011.
- KIP, P.; MEYER, D.; JELLEMA, R. H. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1098–1103, 2006.
- KOLIDA, S. .; TUOHY, K. .; GIBSON, G. R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. **British Journal of Nutrition**, v. 87, p. 193–197, 2002.
- LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 1–17, 2001.

- LUCEY, J. A.; JOHNSON, M. E.; HORNE, D. S. Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2725–2743, 2003.
- MACHADO, J. C. V. **Reologia e Escoamento de Fluidos: Ênfase na Indústria do Petróleo**. Editora Interciência, Rio de Janeiro, p.1-37, 2002.
- MAIJALA, K. Cow milk and human development and well-being. **Livestock Production Science**, v. 65, p. 1–18, 2000.
- MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 173–182, 2002.
- MIYAWAKI, O. et al. Tubular ice system for scale-up of progressive freeze-concentration. **Journal of Food Engineering**, v. 69, p. 107–113, 2005.
- MOHAMMADI, R. et al. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. **Annals of Microbiology**, v. 61, p. 411–424, 2011.
- OJEDA, A. et al. Effect of Process Parameters on the Progressive Freeze Concentration of Sucrose Solutions. **Chemical Engineering Communications**, v. 204, p. 951–956, 2017.
- OLIVEIRA, M. N. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian**, v. 38, p. 1-21, 2002.
- ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos - Alimentos de origem animal**. 2 Ed. Porto Alegre: Artmed, v. 2, p. 79, 2005.
- PASEEPHOL, T.; SMALL, D. M.; SHERKAT, F. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. **Journal of Texture Studies**, v. 39, p. 617–634, 2008.
- PAZMIÑO, N. et al. Continuous system of freeze concentration of sucrose solutions: Process parameters and energy consumption. **J Food Technol Pres**, v. 1, p. 1-5, 2016.
- PETZOLD, G. et al. Block freeze concentration assisted by centrifugation applied to blueberry and pineapple juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 30, p. 192–197, 2015.

PETZOLD, G.; AGUILERA, J. M. Centrifugal freeze concentration. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 20, p. 253–258, 2013.

PONS, M.; FISZMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. **Journal of Texture Studies**, v. 27, p. 597–624, 1996.

PRENTICE, J. H. et al. Cheese Rheology, In Cheese: FOX, P. F. **Chemistry Physics and Microbiology** (Ed). New York, Chapman & Hall, 1993.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 3–11, 2002.

QIN, F. et al. Heat transfer and power consumption in a scraped-surface heat exchanger while freezing aqueous solutions. **Separation and Purification Technology**, v. 48, p. 150–158, 2006.

RAO, V. N. M. Classification, description and measurement of viscoelastic properties of solid foods. In: RAO, M. A.; STEFFE, J. F. (Ed.) **Viscoelastic Properties of Solid foods**. New York: Elsevier Applied Science, p. 3-47, 1992.

RASIC, J. L. Microflora of the intestine probiotics. In: CABALLERO, B.; TUNGO, L.; FINGLAS, P. (Ed). **Encyclopedia of food sciences and nutrition**. Oxford: Academic Press, 2003. p. 2911–3916.

RAVENTÓS, M. et al. Concentration of aqueous sugar solutions in a multi-plate cryoconcentrator. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 577–585, 2007.

ROBERFROID, M. B. Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. **The Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2493–2502, 2007.

ROHM, H.; JAROS, D. Rheological Methods: Instrumentation. In: FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. (Ed.). **Encyclopedia of Dairy Sciences**, San Diego: Academic Press, 2011. p. 272-278.

RONKART, S. N. et al. Effect of water uptake on amorphous inulin properties. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 922–927, 2009.

- SAAD, N. et al. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 1–16, 2013.
- SÁNCHEZ, J. et al. Review. Freeze Concentration in the Fruit Juices Industry. **Food Science and Technology International**, v. 15, p. 303–315, 2009.
- SÁNCHEZ, J. et al. Freeze concentration of whey in a falling-film based pilot plant: Process and characterization. **Journal of Food Engineering**, v. 103, p. 147–155, 2011.
- SÁNCHEZ, J. A. M. **Concentración de líquidos alimentarios por congelación: Sistemas y perspectivas**. 2011. Tese (Doutorado). Universitat Politècnica de Catalunya UPC, Barcelona, 2011.
- SGARBIERI, V. C. Revisão : Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, p. 43–56, 2005.
- SILVA, P. H. F. et al. **Físico-química de leite e derivados**. Juiz de Fora: Oficina da Impressão, 1997
- STANTON, C. et al. Probiotic cheese. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 491-496, 1998.
- SZCZESNIAK, A. S. Classification of texture characteristics. **Journal of Food Science**, v. 28, p. 385–409, 1963.
- TRUONG, V. D.; DAUBERT, C. R. Comparative study of large strain methods for assessing failure characteristics of selected food gels. **Journal of texture studies**, v. 31, p. 335–353, 2000.
- TUNICK, M. H. Rheology of dairy foods that gel, stretch, and fracture. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1892–1898, 2000.
- VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche y productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, p. 476, 1995.
- VERRUCK, S. et al. The buffalo Minas Frescal cheese as a protective matrix of *Bifidobacterium* BB-12 under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. **LWT- Food Science and Technology**, v. 63, p. 1179–1183, 2015a.

VERRUCK, S. et al. Influence of *Bifidobacterium* Bb-12 on the physicochemical and rheological properties of buffalo Minas Frescal cheese during cold storage. **Journal of Food Engineering**, v. 151, p. 34–42, 2015b.

VILELA, G. G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002.

WALSTRA, P. On the stability of casein micelles. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 1965–1979, 1990.

YEE, K. W. K.; WILEY, D. E.; BAO, J. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, v. 290, p. 125–137, 2007.

CAPÍTULO 2

POTENCIAL DA CRIOCONCENTRAÇÃO DO LEITE NA PRODUÇÃO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS

Isabella de Bona Muñoz, Maria Helena Machado Canella, Silvani Verruck, Carmen Maria Olivera Müller, Gabriela Rodrigues de Liz, Renata Dias de Mello Castanho Amboni e Elane Schwinden Prudêncio*

*Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil.

OS RESULTADOS OBTIDOS NESSE TRABALHO ESTÃO PUBLICADOS NO PERIÓDICO - ADVANCE JOURNAL OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.

Artigo publicado: MUÑOZ, I.B.; CANELLA, M.H.M.; VERRUCK, S.; MÜLLER, C.M.O.; LIZ, G.R.; AMBONI, R.D.M.C.; PRUDÊNCIO, E.S. Potential of Milk Freeze Concentration for the Production of Functional Fresh Cheeses. *Advance Journal of Food Science and Technology*, v.13(5), p.196-209, 2017. DOI: 10.19026/ajfst.13.5069

ANEXO A

CAPÍTULO 3

**UTILIZAÇÃO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS
RESULTANTES DE UM CONCENTRADO DO PROCESSO DE
CRIOCONCENTRAÇÃO COMO UMA NOVA MATRIZ
PROTETORA NA SOBREVIVÊNCIA DE *BIFIDOBACTERIUM*
BB-12 EM CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS
*IN VITRO****

Isabella de Bona Muñoz, Silvani Verruck, Maria Helena Machado
Canella, Carolinne Odebrecht Dias, Renata Dias de Mello Castanho
Amboni, Elane Schwinden Prudêncio*

*Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Departamento de
Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro
Itacorubi, Florianópolis, 9 SC, 88.034-001, Brasil.

OS RESULTADOS OBTIDOS NESSE TRABALHO FORAM ACEITOS PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO – LWT – FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.

Artigo aceito para publicação: MUÑOZ, I.B.; VERRUCK, S.; CANELLA, M.H.M.; DIAS, C.O.; AMBONI, R.D.M.C.; PRUDÊNCIO, E.S. The use of soft fresh cheese manufactured from freeze concentrated milk as a novelty protective matrix on *Bifidobacterium* BB-12 survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions. *LWT – Food Science and Technology*. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.08.009.

ANEXO E

CAPÍTULO 4

CRIOCONCENTRAÇÃO PROGRESSIVA DE LEITE DESNATADO EM RECIPIENTE COM AGITAÇÃO: EFEITO DA TEMPERATURA DE CONGELAMENTO E DA TAXA DE AGITAÇÃO NO DESEMPENHO DO PROCESSO

Isabella de Bona Muñoz^a, Ariadna Rubio^b, Mónica Blanco^c,
Mercè Raventós^b, Eduard Hernández^b, Elane Schwinden
Prudêncio^a

^aUniversidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, Florianópolis, SC, 88.034-001, Brasil.

^bUniversitat Politècnica de Catalunya (UPC BarcelonaTech), Departamento de Biotecnologia e Engenharia Agroalimentar, Esteve Terradas, 8. 08860 Castelldefels, Barcelona, Espanha.

^cUniversitat Politècnica de Catalunya (UPC BarcelonaTech), Departamento de Matemática, Esteve Terradas, 8. 08860 Castelldefels, Barcelona, Espanha.

OS RESULTADOS OBTIDOS NESSE TRABALHO FORAM SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO – FSTI - FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY INTERNATIONAL

Artigo submetido para publicação: MUÑOZ, I.B.; RUBIO, A.; BLANCO, M.; RAVENTÓS, M.; HERNÁNDEZ, E.; PRUDÊNCIO, E.S. Progressive Freeze Concentration of Skimmed Milk in an Agitated Vessel: Effect of the Coolant Temperature and Stirring Rate on Process Performance. *FSTI – Food Science and Technology International*. MANUSCRIPT ID: FSTI-18-0235.R1. EM REVISÃO

ANEXO F

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Através deste projeto de doutorado foi possível concentrar leite desnatado através da técnica de crioconcentração em bloco, obtendo ao final um concentrado com o dobro de sólidos totais.

- O leite concentrado obtido no segundo estágio de crioconcentração em bloco, o que apresentou maior transferência de massa, foi utilizado para o desenvolvimento de formulações de queijos frescos funcionais, adicionados de bactérias probióticas (*Bifidobacterium* BB-12) e ingredientes prebióticos (inulina), permitindo assim o desenvolvimento de produtos lácteos com características físicas e microbiológicas específicas.

- Os queijos frescos funcionais desenvolvidos foram submetidos à simulação gastrointestinal *in vitro* onde foi possível observar o efeito protetor da matriz de queijo e também garantir os efeitos benéficos ao hospedeiro uma vez que os queijos (Probiótico e Simbiótico) resistiram às condições gastrointestinais simuladas *in vitro*.

- Independentemente, a técnica de crioconcentração progressiva foi aplicada para concentrar leite UHT desnatado, avaliando as melhores condições de operação para esta matéria prima (temperatura e agitação).

- Através deste estudo foi possível demonstrar o potencial inovador desta tecnologia emergente (crioconcentração) e a sua aplicabilidade no setor alimentício, ressaltando o seu potencial inovador para o setor lácteo.

- Por fim, novos estudos relacionados aos parâmetros de operação devem ser conduzidos com o objetivo de diminuir a retenção de sólidos na fração de gelo, como por exemplo ensaios de recuperação de solutos na fração de gelo (reciclagem). Além disso, o estudo de novas aplicações destes concentrados no desenvolvimento de novos produtos.

ANEXOS

ANEXO A – COMPROVANTE DE ARTIGO ORIGINAL
PUBLICADO NO PERIÓDICO *ADVANCE JOURNAL OF FOOD
SCIENCE AND TECHNOLOGY* ISSN: 2042-4868, V.13(5), 196-209,
2017.

Advance Journal of Food Science and Technology 13(5): 196-209, 2017

DOI:10.19026/ajfst.13.5069

ISSN: 2042-4868; e-ISSN: 2042-4876

© 2017 Maxwell Scientific Publication Corp.

Submitted: April 7, 2017

Accepted: June 12, 2017

Published: July 25, 2017

Research Article

Potential of Milk Freeze Concentration for the Production of Functional Fresh Cheeses

Isabella de Bona Muñoz, Maria Helena Machado Canella, Silvani Verruck, Carmen Maria Oliveira
Müller, Gabriela Rodrigues de Liz, Renata Dias de Mello Castanho Amboni and
Elane Schwinden Prudencio

Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences Center, Federal University of Santa
Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil

Abstract: The aim of this study was to evaluate the milk freeze concentration process, choosing the best concentrated milk for the manufacture of functional fresh cheeses. These cheeses were evaluated in relation to their chemical, physical, microstructural and/or microbiological properties. Since that the second stage concentrated from the milk freeze concentration process showed the highest total solids content mass transference, it was used for the manufacture of the functional fresh cheeses. Therefore, *Bifidobacterium* BB-12 addition was notable to modify the cheeses properties. However, as expected the fresh cheese with inulin addition showed the highest total solids content, reflecting on the increase of total carbohydrates content and on the tendency toward a green color. Inulin addition and whey presence contributed to the firmness increase, resulting in a less breakable fresh cheese and thus, with a less fragile and more compact structure. For the fresh cheese with bifidobacteria, the viable cells count was above than those number recommended for a product to be classified as probiotic. *Bifidobacterium* BB-12 and inulin addition resulted in a symbiotic fresh cheese.

Keywords: Freeze concentration, fresh cheese, prebiotic, probiotic, symbiotic

ANEXO B – CERTIFICADO DE TRABALHO APRESENTADO NO XII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. ALIMENTOS INOVADORES: DESAFIOS E OPORTUNIDADES, 2015.



**XIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Alimentos Inovadores: desafios e oportunidades

XIII ERSCTA

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho

(PD50) EMPREGO DO CROCONCENTRADO DO LEITE NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJOS FRESCOS/FUNCIONAIS
 GABRIELA RODRIGUES DE LIZ (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA),
 ISABELLA DE BONA MUNOZ (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), STEPHANIE
 MACHADO STEIN (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), SILVANI
 YERRUCK (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), ELANE SCHWINDEN
 PRUDENCIO (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), RENATA DIAS DE MELLO
 CASTANHO AMBONI (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

foi apresentado no XIII Encontro Regional Sul de Ciência e
Tecnologia de Alimentos, de 14 a 16 de outubro de 2015, na UFPR
campus Centro Politécnico, em Curitiba (PR).

Curitiba, 16 de outubro de 2015





Prof. Dra. Rosana Erwinol Freitas de Macedo
Coordenadora da Comissão Científica do XIII ERSCTA



Prof. Dr. Rogério Alves Casgado
Presidente do XIII ERSCTA




ANEXO C – CERTIFICADO DE PREMIAÇÃO DO TRABALHO INTITULADO: EMPREGO DO CRIOCONCENTRADO DO LEITE NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS. TRABALHO APRESENTADO NO XII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. ALIMENTOS INOVADORES: DESAFIOS E OPORTUNIDADES, 2015.

XIII ENCONTRO REGIONAL SUL DE CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Alimentos Inovadores: desafios e oportunidades



XIII ERSCTA

CERTIFICADO

Prêmio sbCTA-PR de Incentivo à Pesquisa
Renato João Sossela de Freitas

Certificamos que o trabalho

(PDE0) EMPREGO DO CRIOCONCENTRADO DO LEITE NO DESENVOLVIMENTO DE QUEIJOS FRESCOS FUNCIONAIS de autoria de GABRIELA RODRIGUES DE LIZ (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA), ISABELLA DE BONA MIUÑOZ (UFSC), STEPHANIE MACHADO STEIN (UFSC), SILVANI VERRUCK (UFSC), ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO (UFSC), RENATA DIAS DE MELLO CASTANHO AMBONI (UFSC), recebeu o prêmio sbCTA-PR de Incentivo à Pesquisa Renato João Sossela de Freitas – 3º LUGAR GERAL, no XIII Encontro Regional Sul de Ciência e Tecnologia de Alimentos, realizado no período de 14 a 16 de outubro de 2015, na UFPR – campus Centro Politécnico, em Curitiba – PR.

Curitiba, 16 de outubro de 2015

Realização



Organização



Apelo



Institucional



Tecnológica



Apelo



Institucional



Tecnológica



Apelo



Institucional



Tecnológica



Renato Freitas

Stertz

Renato

Prof. Dr. Renata Elund de Freitas Macedo
Coordenadora da Comissão Científica do XIII ERSCTA

Prof. Dr. Sônia Chichelella Stertz
Coordenadora Geral do XIII ERSCTA

Prof. Dr. Ruperisio Alves Cingolati
Presidente do XIII ERSCTA



ANEXO D - CERTIFICADO DE TRABALHO APRESENTADO NO XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. ALIMENTAÇÃO: A ÁRVORE QUE SUSTENTA A VIDA, 2016.



Certificado

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS - GRAMADO/RS

XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CBCTA
Alimentação: a árvore que sustenta a vida
X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life.

Certificamos que o trabalho intitulado

EFEITO DO PROCESSO DE CRIOCONCENTRAÇÃO EM BLOCOS NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS DO LEITE

de autoria de

ISABELLA DE BONAMUÑOZ, MARIA HELENA MACHADO CANELLA, CARLISE BEDDINI FRITZEN FREIRE, CARMEN MARIA OLIVEIRA MÜLLER, RENATA DIAS DE MELLO CASTANHO AMBONI, ELANE SCHWINDEN PRUDÊNCIO

foi apresentado no formato

PÔSTER

no XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos - CBCTA - Alimentação: a árvore que sustenta a vida e no X CIGR Section VI International Technical Symposium - Food: the tree that sustains life, no período de 24 a 27 de outubro de 2016, no Centro de Eventos da FAURGS, em Gramado/RS.

Roberta Thyges
Roberta Thyges

Amazul Rosenthal
Amazul Rosenthal

Presidente do XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos

Presidente do X CIGR Section VI International Technical Symposium

Patrocinador



ANEXO E – COMPROVANTE DE ACEITE DE PUBLICAÇÃO DE ARTIGO NA REVISTA LWT – FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY.

Accepted Manuscript

The use of soft fresh cheese manufactured from freeze concentrated milk as a novelty protective matrix on *Bifidobacterium* BB-12 survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions

Isabella de Bona Muñoz, Silvani Verruck, Maria Helena Machado Canella, Carolinne Odebrecht Dias, Renata Dias de Mello Castanho Amboni, Elane Schwinden Prudencio

PII: S0023-6438(18)30661-3

DOI: [10.1016/j.lwt.2018.08.009](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.009)

Reference: YFSTL 7321

To appear in: *LWT - Food Science and Technology*

Received Date: 9 February 2018

Revised Date: 29 May 2018

Accepted Date: 3 August 2018



Please cite this article as: Muñoz, I.d.B., Verruck, S., Canella, M.H.M., Dias, C.O., Amboni, R.D.d.M.C., Prudencio, E.S., The use of soft fresh cheese manufactured from freeze concentrated milk as a novelty protective matrix on *Bifidobacterium* BB-12 survival under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions, *LWT - Food Science and Technology* (2018), doi: [10.1016/j.lwt.2018.08.009](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.009).

ANEXO F – COMPROVANTE SUBMISSÃO DE ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA FSTI – FOOD SCIENCE TECHNOLOGY INTERNATIONAL. ID FSTI-18-0235.R1

Food Science and Technology International



Progressive Freeze Concentration of Skimmed Milk in an Agitated Vessel: Effect of the Coolant Temperature and Stirring Rate on Process Performance

Journal:	<i>Food Science and Technology International</i>
Manuscript ID:	FSTI-18-0235.R1
Manuscript Type:	Research Article
Subject category:	Food Processing and Engineering
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Miñoz, Isabella; Universidade Federal de Santa Catarina, Food Science and Technology Rubio, Ariadna; Universitat Politècnica de Catalunya (UPC BarcelonaTech), Agri-Food Engineering and Biotechnology Department Blanco, Mónica; Universitat Politècnica de Catalunya (UPC BarcelonaTech), Department of Mathematics Raventós, Merce; Universidad Politécnica de Cataluña, Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología Hernandez, Eduard; UPC, AgriFood and Biotechnology Prudencio, Elaine; Universidade Federal de Santa Catarina, Food Science and Technology
Keywords:	Emerging technologies, Freeze concentration, Milk and dairy products