



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS
DOUTORADO

QUÊNIA GRAMILE SILVA MEIRA

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RICOTA CAPRINA ADICIONADA DE
BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

JOÃO PESSOA – 2015

QUÊNIA GRAMILE SILVA MEIRA

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RICOTA CAPRINA ADICIONADA DE
BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

JOÃO PESSOA – 2015

QUÊNIA GRAMILE SILVA MEIRA

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RICOTA CAPRINA ADICIONADA DE
BACTÉRIAS PROBIÓTICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor (a) em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador (a): Dr. Evandro Leite de Souza

JOÃO PESSOA – 2015

M514p Meira, Quênia Gramile Silva.
Produção e caracterização de ricota caprina adicionada de
bactérias probióticas / Quênia Gramile Silva Meira.- João
Pessoa, 2015.
140f. : il.
Orientador: Evandro Leite de Souza
Tese (Doutorado) - UFPB/CT
1. Tecnologia de alimentos. 2. *Lactobacillus* spp.
3. *Bifidobacterium* spp. 4. Produtos lácteos. 5. Caprinos -
queijo fresco. 6. Alimentos funcionais.

UFPB/BC

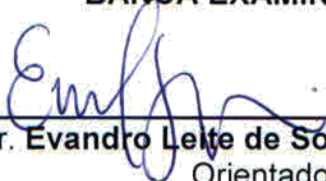
CDU: 664(043)

QUÊNIA GRAMILE SILVA MEIRA

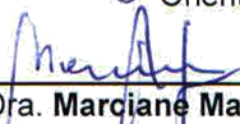
**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE RICOTA CAPRINA ADICIONADA
DE BACTÉRIAS PROBIÓTICAS**

Tese APROVADA em 08 de Julho de 2015

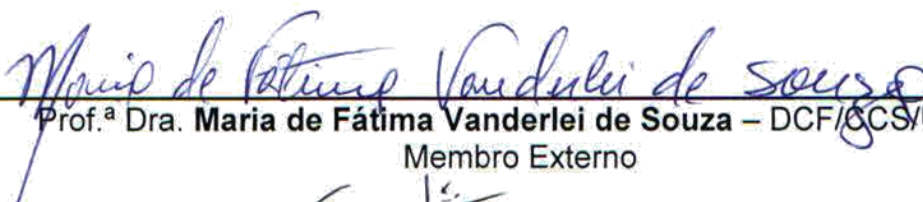
BANCA EXAMINADORA



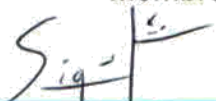
Prof. Dr. **Evandro Leite de Souza** – DN/CCS/UFPB
Orientador



Prof.ª Dra. **Marciane Magnani** – DEA/CT/UFPB
Membro Interno



Prof.ª Dra. **Maria de Fátima Vanderlei de Souza** – DCF/CCS/UFPB
Membro Externo



Prof. Dr. **José Pinto de Siqueira Júnior** – DBM/CCEN/UFPB
Membro Externo

Prof.ª Dra. **Celidarque da Silva Dias** – DCF/CCS/UFPB
Membro Externo

***À Deus, acima de tudo e de todos,
À minha filha amada, que com seu
nascimento me trouxe forças pra
continuar,
À meu esposo amado,***

Dedico

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Deus, que me permitiu chegar até aqui, me guiando sempre e me segurando em seus braços, por iluminar minha vida a todo momento me fazendo alcançar os objetivos, enfrentar as dificuldades e ultrapassar todas as barreiras,

A Ele meu maior agradecimento.

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo, André Luiz, que sempre me incentivou e me encoraja a enfrentar meus medos e minhas angústias me estimulando a ir sempre em frente, agradeço por esse imenso amor que me oferta, por ter me feito à mulher mais feliz do mundo quando do nascimento de nossa filhinha querida, pela renúncia muitas vezes, por cuidar tão bem de nossa filha nos momentos em que não pude estar por perto, ser um pai tão presente e por ser essa pessoa maravilhosa que Deus colocou em minha vida, te agradeço por tudo meu amor;

À minha filhinha, Alice, que por mais que ainda não alcance, devido à idade, estas palavras, fica aqui registrada a minha satisfação e felicidade em poder dividir essa vitória com ela, que tanto me faz bem, esse título é inteiramente dela, a você meu amorzinho, te agradeço e agradeço a Deus por você existir;

À minha mãe Mivailda Camelo, pelo amor, dedicação, apoio e incentivo, por tudo o que representa para mim, amo-te imensamente mãe;

Aos meus avós, Milton Camelo e Maria Oliveira (*in memoriam*) por terem me criado como se eu fosse sua filha e por tanto amor reunido que me fez ser a pessoa que sou hoje;

À minha família, meus irmãos Israel e Indiane, meu padrasto, tios e primos, por sempre acreditarem em mim e nunca duvidarem da minha capacidade;

À minha irmã, Indiane, por ter me dado de presente uma sobrinha tão linda e amável, minha Gabi e por ser tão carinhosa com minha filha Alice, te amo muito;

À minha sogra, Veralúcia Gomes, por me tratar como se eu fosse sua própria filha, por confiar em mim, pelo apoio dado, por nos ajudar a cuidar de nossa pequena Alice com tanto amor, pelo carinho, enfim, por tudo;

Ao meu orientador, professor Dr. Evandro Leite de Souza, pela confiança, paciência e orientação a mim investidas, por me nortear e acreditar que eu corresponderia às suas expectativas, muito obrigada por tudo, espero ter correspondido à altura;

À professora Dra. Rita de Cássia R. E. Queiroga, pelo apoio dado, por me receber no Laboratório de Bromatologia de braços abertos, pela confiança e acima de tudo por ser essa “mãezona” que sempre cativa a todos

À minha eterna turma de mestrado, especialmente representada por uma pessoa de Taiz Siqueira, pela amizade, companheirismo e pelos melhores momentos que tivemos, a vocês agradeço por tudo, principalmente pela amizade que ficará sempre;

À minha amiga, em especial, Mussara Monteiro por me apoiar em um momento tão difícil da minha vida com minha mãe, no decorrer desse doutorado, momento este que, se não houvesse ajuda de amigos como ela, talvez isso me fizesse desistir do título, muito obrigada de todo coração amiga;

À minha amiga e agora comadre, Mayara Queiroga, por ser essa pessoa tão maravilhosa, compreensiva, atenciosa, presente, alguém com quem sei que posso contar em qualquer momento, por ser essa pessoa de Deus, muito obrigada por você existir, estendo também os agradecimentos ao meu amigo Gustavo Ravy, pelo incentivo, torcida e acima de tudo pela amizade e que junto com Mayarinha possamos ser amigos até os 100 anos;

Às minhas sempre amigas Alessandra, Ianne e Maísa por serem tão especiais em minha vida, amo vocês;

Às minhas super-amigas Michelly Amorim, Sonaya Kelly, Cristiana Santos, Malena Polyana, Maria Aparecida, Ely Jardielly, Aluska Marinna e Joana Resende por depositarem em mim todo o carinho que eu poderia receber, por serem tão presentes mesmo na ausência, por estarem sempre de braços abertos para me receber, meninas, que essa amizade perdure até nossa velhice;

À minha grande amiga e comadre, Ana Clara Nunes, e ao meu amigo e compadre, Bruno Nunes, pelo incentivo, por estar sempre presente mesmo tão longe, pelo carinho e acima de tudo por nossa verdadeira amizade;

Às minhas amigas Ilsa Cunha (Ilsitcha), Bárbara (Babi) e Janaína (Jana), minha grande turma do Doutorado, pelos maravilhosos momentos de alegrias e “desesperos” que tivemos juntas. Vocês fazem parte do meu seletor quadro de amizades!!! À “Babi”, obrigada por me “aguentar” durante 1 mês inteiro em Aracaju e por todos os momentos em precisei e você sempre disposta me ajudou! À “Ilsitcha”, obrigada por ser sempre tão eficiente e solícita, mas acima de tudo, obrigada por amar tanto minha filhinha. À “Jana”, obrigada por sempre me ajudar quando precisei e pelos momentos divertidos que sempre tivemos, obrigada meninas, vocês são nota 1000, amo todas;

Ao meu amigo Francisco Cesino M. Júnior, por ter me ajudado quando mais precisei nessa jornada, são nessas horas que a gente reconhece os verdadeiros amigos, obrigada pelos momentos de alegrias e acima de tudo pela sua amizade, meus sinceros agradecimentos;

Em especial, à minha fiel amiga Elieidy Gomes, por toda paciência em ajudar, pela solicitude em todos os momentos, mesmo aqueles que ela própria não poderia ajudar e gastou um pouquinho de seu tempo sagrado para me ensinar, sim, sempre me ensinando foi a maneira que ela, com seu jeito tão meigo, conseguiu me fazer entender muitas coisas!, pelo apoio incondicional, por toda a ajuda no meu trabalho, pelo incentivo, pela torcida incessante para que eu crescesse e vencesse, por ser tão carinhosa, tão sincera, tão amiga e ser assim, essa pessoa maravilhosa e agradável que ilumina o coração de todos aqueles que a conhecem. Como dizia *Antoine de Saint-Exupéry* “*Tu te*

tornas eternamente responsável por aquilo que cativas.” Cultivar e cativar sua amizade vão ser sempre uma de minhas metas, pois você sabe como cativar as pessoas com esse seu modo especial de ver a vida e de tratar a todos que a cercam; de coração, muito obrigada por tudo;

Aos meus amigos do Laboratório de Bromatologia e de Microbiologia de Alimentos, Eduardo Vasconcelos, Francisco Cesino, Amanda Sant’Ana, José Evangelista, Yasmim Régis, Jéssica Ouriques, Suellen Matias, Karla Kaligia, Jacieny Janne, Andreza Moraes, Fabrícia França, Priscila Dinah, Isabella Medeiros, Jossana Sousa, Estefânia Fernandes, Nelson Justino, Neusa Lygia, Jéssica Bezerra e Adassa Gama, muito obrigada por tudo, principalmente pelos momentos de confraternização;

Ao pessoal do PDLAT/UFPB – Campus III/Bananeiras, nas pessoas do Prof. Dr. Antônio Eustáquio (coordenador do laboratório), Prof.^a Me. Fabiana Beltrão e do Técnico de laboratório Me. Carlos Roberto que me receberam com muita solicitude e me ajudaram com a elaboração do produto Ricota caprina;

À professora Dra. M^a Lúcia da Conceição, pelo apoio, por estar sempre disposta a me ajudar nos momentos em que precisei, pelo exemplo de dignidade, pelas alegrias, pelo companheirismo, pelo grande incentivo, muito obrigada;

À professora Marta Suely Madruga pelo suporte dado quando da realização de algumas análises em seu laboratório, obrigada pelo apoio;

À professora Marciane Magnani por ter sido tão compreensiva nos momentos mais difíceis que passei, por me ajudar na realização de análises em meu trabalho e por ter sido tão paciente e carinhosa em todos os momentos, obrigada pela grande ajuda em tudo, incentivo, amizade, afeto e compreensão a mim desprendidos, enfim, obrigada por tudo;

À banca examinadora composta pelos professores Dr. José Siqueira, Dra. M^a Fátima Vanderlei, Dra. Celidarque Dias e Dra. Marciane Magnani que se dispuseram a me avaliar na qualificação e defesa, adicionando conhecimento e minimizando as falhas do presente estudo, muito obrigada;

À Secretária da Coordenação do PPGCTA, Lindalva Nóbrega, por ser sempre tão solícita e agradável sempre que precisei;

À Fundação CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior, pela concessão da bolsa de estudos ao longo do curso de Doutorado;

A todos aqueles que fizeram ou fazem parte da minha vida pessoal e acadêmica e que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho que hoje se concretiza, ficam aqui os meus sinceros agradecimentos.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”

Simone de Beauvoir

RESUMO

MEIRA, Q.G.S. **Produção e caracterização de Ricota Caprina adicionada de bactérias Probióticas**. 2015. 140f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

Produtos como queijos, iogurtes e bebidas lácteas podem ser obtidos a partir do leite de cabra sendo uma alternativa para o aumento no consumo e agregação de valor de produtos de origem caprina. O presente estudo teve como objetivo produzir queijos ricota a partir de soro de leite caprino e avaliar os efeitos da incorporação de cepas probióticas *Bifidobacterium lactis* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 sobre os parâmetros tecnológicos, físico-químicos e sensoriais do queijo durante armazenamento refrigerado de sete dias, bem como o efeito protetor da ricota caprina sobre a sobrevivência dos probióticos testados durante exposição a condições gastrointestinais simuladas. A ricota caprina foi elaborada tendo como base soro de queijo caprino (ingrediente principal) com adição de leite integral de cabra (20%). A incorporação dos probióticos não influenciou no rendimento e sinérese da ricota caprina. Durante o período de armazenamento refrigerado avaliado, as cepas de *L. acidophilus* LA-5 e *B. lactis* BB-12 apresentaram contagens em torno de 6 log UFC/g. As amostras de ricota contendo as cepas probióticas apresentaram os menores valores para lactose e os maiores valores para ácido láctico, além de apresentarem maior dureza e menor brilho durante a armazenagem, quando comparados com amostras sem probióticos. Não foram observadas diferenças no perfil de ácidos graxos da ricota caprina com ou sem probióticos. Todas as amostras de ricota foram sensorialmente descritas como sendo “queijo macio” com “textura homogênea”, porém, as amostras adicionadas de *L. acidophilus* LA-5 ou *B. lactis* BB-12 foram descritas como sendo “mais ácidas”. Ao final da exposição às condições gastrointestinais simuladas, as cepas probióticas testadas apresentaram contagens de aproximadamente 6 log UFC/g, quando incorporadas na ricota caprina. Estes resultados mostram a possibilidade do uso de *L. acidophilus* LA-5 e *B. lactis* BB-12 na elaboração de ricota caprina, tendo em vista que tais cepas não apresentaram impacto negativo sobre as características gerais de qualidade do produto. Ainda, evidenciam a ricota caprina como uma matriz satisfatória para a manutenção da viabilidade dos probióticos ensaiados durante o armazenamento, bem como quando expostos às condições adversas encontradas ao longo do trato gastrointestinal humano.

Palavras-chave: *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., produtos lácteos caprinos, queijo fresco, alimentos funcionais.

ABSTRACT

MEIRA, Q.G.S. **Production and characterization of goat Ricotta added Probiotic bacteria**. 2015. 140f. Thesis (Ph.D. in Food Science and Technology), Federal University of Paraíba, João Pessoa.

Products such as cheeses, yoghurts and milk drinks can be obtained from goat's milk are an alternative to the increase in consumption and value of goat-derived products. This study aimed to produce ricotta cheese from goat whey and evaluate the effects of incorporating probiotic strains *Bifidobacterium lactis* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 on technological parameters, physicochemical and sensory cheese during storage refrigerated for seven days, and the protective effect of goat ricotta on the survival of probiotics tested for exposure to simulated gastrointestinal conditions. A Ricotta goat was prepared based on goat cheese whey (main ingredient) with addition of whole goat milk (20%). The incorporation of probiotics did not influence the income and syneresis of goat ricotta. During the rated cold storage period, the strains *L. acidophilus* LA-5, and *B. lactis* BB-12 had scores of about 6 log CFU / g. Samples ricotta containing the probiotic strains showed the lowest values for lactose and the highest values for lactic acid, besides having greater hardness and lower brightness during storage when compared to samples without probiotics. There were no differences in the fatty acid profile of goat ricotta with or without probiotics. All samples of ricotta were sensorially described as "soft cheese" with "homogeneous texture", however, the samples added *L. acidophilus* LA-5 or *B. lactis* BB-12 were described as "more acidic". At the end of exposure to simulated gastrointestinal conditions, the tested probiotic strains showed scores of approximately 6 log CFU / g, when incorporated in goat ricotta. These results show the possibility of using *L. acidophilus* LA-5, and *B. lactis* BB-12 in the preparation of goat ricotta, considering that such strains showed no negative impact on the general quality characteristics of the product. Further, goats show the ricotta as a satisfactory matrix for the continued viability of probiotics tested during storage as well as when exposed to the harsh conditions found throughout the human gastrointestinal tract.

Keywords: *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., dairy goats, fresh cheese, functional foods.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Percentual da produção mundial de queijo caprino por regiões.....	31
---	----

ARTIGO

Figure 1. Flowchart of the processes for manufacturing goat ricotta containing or not containing the probiotic bacterium <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-05 or <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12.....	120
--	-----

Figure 2. (A) Principal Component Analysis (PCA) graph of the physicochemical and sensory aspects of the goat ricotta samples; (B) distribution of the ricotta samples according to the PCA. R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria; R2: goat ricotta containing <i>L. acidophilus</i> La-05; R3: goat ricotta containing <i>B. lactis</i> Bb-12.....	121
---	-----

LISTA DE QUADROS E ESQUEMA

Quadro 1 – Composição média de lipídeos, proteínas e carboidratos em leite de diferentes espécies de mamíferos.....	24
Quadro 2 Classificação dos queijos em percentuais de gordura e umidade segundo a legislação vigente no país.....	27
Quadro 3 – Condições de processamento utilizadas nas etapas de digestão simulada.....	56
Esquema 1 Fabricação de ricota caprina adicionada de bactérias probióticas.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Variedade de produtos em que se utiliza soro de queijo ou lactosoro como matéria-prima.....	33
---	----

Tabela 2 Consumo de probióticos e seus benefícios à saúde do consumidor.....	38
---	----

Tabela 3 Produtos adicionados de probióticos.....	42
--	----

ARTIGO

Table 1. The conditions used during each step of the simulated digestion and the obtained viable cell counts (n:3, mean values $\pm$ standard deviation, in log of cfu/g) for <i>L. acidophilus</i> La-05 (<i>L. acidophilus</i>) and <i>B. lactis</i> BB-12 (<i>B. lactis</i>) assayed in de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth or into goat ricotta, after exposure to each digestion step.....	122
--	-----

Table 2. Yield, syneresis and physicochemical parameters (n:3, mean values $\pm$ standard deviation) of goat ricotta cheese not containing or containing <i>L. acidophilus</i> La-05 or <i>B. lactis</i> Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.....	123
--	-----

Table 3. Mean values (n:3, $\pm$ standard deviation) for textural and color parameters of goat ricotta cheese not containing or containing <i>L. acidophilus</i> La-05 or <i>B. lactis</i> Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.....	124
--	-----

Table 4. Fatty acids (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing <i>L. acidophilus</i> La-05 or <i>B. lactis</i> Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage	125
--	-----

Table 5. Sugars and organic acids (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing <i>L. acidophilus</i> La-05 or <i>B. lactis</i> Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.....	126
--	-----

Table 6. Parameters of sensory descriptive quantitative analysis (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing <i>L. acidophilus</i> La-05 or <i>B. lactis</i> Bb-12, after 1 and 7 days of storage.....	127
--	-----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	20
2.1 <i>Objetivo geral</i>	20
2.2 <i>Objetivos específicos</i>	20
3 REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 <i>Caprinocultura Leiteira</i>	21
3.2 <i>Queijos: características gerais e aspectos tecnológicos</i>	26
3.3 <i>Soro de queijo e Queijo ricota</i>	31
3.4 <i>Alimentos funcionais: utilização de probióticos</i>	35
3.5 <i>Queijos como veículos de probióticos</i>	40
4 MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 <i>Local de execução e coleta de materiais</i>	46
4.2 <i>Cepas bacterianas e condições de crescimento</i>	46
4.3 <i>Elaboração de queijos ricota caprinos: matérias-primas</i>	47
4.4 <i>Análise microbiológica e de viabilidade das cepas probióticas durante o armazenamento</i>	49
4.5 <i>Rendimento, sinérese, pH e atividade de água (Aa)</i>	50
4.6 <i>Composição centesimal</i>	51
4.7 <i>Análise de textura Instrumental</i>	51
4.8 <i>Análise de cor Instrumental</i>	52
4.9 <i>Análise do perfil de ácidos graxos</i>	52
4.10 <i>Análise do perfil de açúcares</i>	53
4.11 <i>Análise do perfil de ácidos orgânicos</i>	53
4.12 <i>Análise sensorial</i>	54
4.13 <i>Efeitos da exposição às condições gastrointestinais simuladas sobre a sobrevivência das cepas probióticas</i>	55
4.14 <i>Análises estatísticas</i>	57
5 REFERÊNCIAS	59
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
ARTIGO	77
7 CONCLUSÃO	128
APÊNDICES	130

APÊNDICE A – Terminologia de atributos sensoriais determinados pelo painel de avaliadores.....	131
APÊNDICE B – Escala para determinação de atributos sensoriais determinados pelo painel de avaliadores.....	132
ANEXOS.....	133
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB.....	134
ANEXO B – Confirmação de submissão de artigo científico no periódico Food Research International.....	136
ANEXO C – Carta de aceite de artigo científico no periódico Food Research International.....	138
ANEXO D – Declaração de submissão de pedido de patente de invenção ao INOVA/INPI.....	139
ANEXO E – Relação de Processo Cadastrado no INPI do pedido de patente de invenção.....	140

1 INTRODUÇÃO

O leite é a base da produção dos mais variados produtos lácteos. Este produto possui dois fins distintos, primeiro para alimentação na sua forma natural, e, segundo, como matéria-prima industrial, envolvendo operações de transformação, que resultam na obtenção de bebidas lácteas, leites fermentados, iogurte, queijos, entre outros derivados (OLIVEIRA, 2009).

O leite de cabra difere do leite de vaca em vários aspectos, principalmente no que se refere aos teores de proteínas, extrato seco total, perfil lipídico e cinzas. Sabe-se, que as proteínas do soro (α -lactoalbumina; β -lactoglobulina) do leite de cabra e de vaca apresentam-se estruturalmente diferenciadas, e, além disso, variam em percentual, o que está relacionado à tolerância ao leite de cabra por indivíduos portadores de APLV (Alergia à proteína do leite de vaca) (HAENLEIN, 2004; OLIVEIRA, 2009).

O queijo surgiu há mais de oito mil anos e atualmente existem uma diversidade de variedades em todo o mundo, sendo produzidos por meio de diferentes processos tecnológicos. Entre o grupo dos produtos lácteos, o queijo é indiscutivelmente o produto mais diversificado e instável em suas características, o que tem despertado destacado interesse para o desenvolvimento de estudos científicos com variadas abordagens (BERESFORD et al., 2001; FOX; McSWEENEY, 2004)

Produtos como queijos, iogurtes e bebidas lácteas podem ser obtidos a partir do leite de cabra, utilizando-se de processos simples e acessíveis aos pequenos produtores. A elaboração destes produtos derivados representa uma alternativa para o aumento no consumo de produtos de origem caprina e para a agregação de valor a tais produtos (SANTOS, 2011).

A exigência por alimentos com composição nutricional equilibrada e que possam oferecer benefícios adicionais à saúde é manifestada pelos consumidores atuais. Os queijos são fontes ricas em nutrientes como proteínas, gorduras, carboidratos (lactose), assim como cálcio, fósforo, magnésio e vitaminas (PERRY, 2004). O líquido residual da sua produção é chamado de soro ou lactosoro e é empregado na produção de iogurtes,

bebidas lácteas, ricotas e demais produtos lácteos. O crescimento do mercado para os produtos derivados de soro no Brasil tem se mostrado promissor. O soro é gerado em grande quantidade no Brasil devido a expressiva produção de queijo entretanto a utilização deste produto ainda é subaproveitada, visto que pequena parte do soro é empregada na produção de derivados (ALMEIDA, BONASSI; ROÇA, 2001; CASTRO, 2007).

A ricota é um queijo de origem italiana fabricado em todo o mundo sendo produzida a partir de soro de queijo. Pelo seu baixo teor de gordura, alta digestibilidade e teor reduzido de sal, a ricota é considerada um produto dietético com ampla aceitação em todo o mundo (RIBEIRO *et al.*, 2005). Devido às suas características reológicas a ricota apresenta-se como uma matriz promissora para a incorporação de bactérias probióticas.

O termo probiótico refere-se a microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas podem conferir benefícios à saúde do hospedeiro. Para que os produtos probióticos sejam assim denominados, deverão existir populações de 10^6 e 10^7 UFC/g no produto final, afim de que essas populações de cepas probióticas incorporadas ou não aos alimentos possam exercer seus efeitos benéficos (GOMES *et al.*, 1995; GOMES, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2002; SANDERS, 2003; TALWALKAR, 2004; GARCIA, 2011; OLIVEIRA, 2013; VANDENPLAS, HUYS, DAUBE, 2015).

Os alimentos com potencial probiótico tem recebido cada vez mais a atenção do consumidor, com efeitos na sua popularidade e aceitação, vindo a representar um forte nicho entre os alimentos funcionais (STANTON *et al.*, 2001).

Diversos estudos têm relatado a adição de bactérias probióticas em matrizes alimentares. Entretanto, para atestar a aplicação efetiva de bactérias probióticas em matrizes alimentares como a ricota faz-se necessário a avaliação de sua viabilidade ao longo do armazenamento e sob condições gastrointestinais simuladas. Considerando estes aspectos, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de produzir queijo ricota adicionado de cepas probióticas e avaliar seus aspectos físico-químicos, tecnológicos, sensoriais e a viabilidade das cepas probióticas ao longo do armazenamento refrigerado,

além de avaliar o potencial protetor da ricota caprina obtida como veículo carreador de cepas probióticas sob condições gastrointestinais simuladas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Elaborar e caracterizar queijos ricota de leite de cabra adicionado das bactérias láticas probióticas *Lactobacillus acidophilus* La-5 ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* – Bb12.

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar queijos ricota de soro de leite caprino adicionados de culturas de *Lactobacillus acidophilus* LA-05 ou *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12;
- Determinar o rendimento e sinerése dos queijos ricota elaborados;
- Caracterizar as variáveis físico-químicas, sensoriais, microbiológicas e tecnológicas dos queijos elaborados durante o período de armazenamento;
- Avaliar o perfil de ácidos graxos, açúcares e de produção de ácidos orgânicos dos queijos elaborados durante o período de armazenamento;
- Verificar o efeito protetor do queijo ricota produzido sobre a sobrevivência das cepas probióticas ensaiadas quando submetidas à condições gastrointestinais simuladas.

3 REFERENCIALTEÓRICO

3.1 *Caprinocultura Leiteira*

As cabras (*Capra hircus*) foram as primeiras espécies animais a serem domesticadas pelo homem, participando diretamente da evolução de muitos povos como um dos animais domésticos mais úteis à espécie humana. Sua participação em todos os aspectos das sociedades antigas está presente na religião, economia, nutrição, costumes e hábitos cotidianos (BOYAZOGLU; HATZIMINAOGLU; MORAND-FEHR, 2005; HAENLEIN, 2007; SANTOS, 2011).

Essa espécie encontra-se difundida em todo o mundo, exceto nas regiões polares, com rebanhos distribuídos nas regiões tropicais e áridas. Apesar da representatividade na pecuária nacional por parte do rebanho bovino, seja para corte ou produção leiteira, a pecuária caprina constitui-se como uma atividade de expressiva importância econômica graças à rusticidade dos animais, o que permite uma melhor adaptação às adversidades do meio, contribuindo, muitas vezes, para o desenvolvimento das zonas rurais proporcionando fonte de renda e subsistência de algumas famílias nessas regiões e se tornando uma alternativa viável em áreas onde as condições não são favoráveis para a produção de leite de vaca (VILELA et al., 2008; OLIVEIRA, 2013; SKEIE, 2014).

O fortalecimento da caprinocultura leiteira no Nordeste brasileiro depara-se com alguns entraves como a melhoria da qualidade dos produtos, de modo que isso se torne um mecanismo impulsionador da sua aceitabilidade entre os consumidores. Porém, tem aumentado de forma bastante significativa sua participação no cenário da agropecuária brasileira, superando o constante desafio de conquistar e manter novos mercados para o leite de cabra e seus derivados (PEREIRA et al., 2005; SILVA; GUIMARÃES; OLIVEIRA, 2012).

A criação de cabras para produção de leite se caracteriza como de fundamental importância não só para a alimentação e sustento de pequenos produtores, como também de indústrias voltadas para esse ramo. Em nível

mundial, a população de caprinos vem aumentando efetivamente ao longo dos anos, alcançando a marca de 980 milhões de cabeças, com um decréscimo discreto entre os anos 2012 – 2013 (FAOSTAT, 2014).

A população de cabras estimada para o Brasil em 2013, segundo a FAOSTAT (2014), foi de quase 9 milhões de cabeças. Considerando uma população mundial de mais de 980 milhões, este número representa cerca de 1% do total. Os maiores rebanhos caprinos estão localizados na China, com mais de 182 milhões de cabeças, que correspondem a 18,6%; seguido da Índia com 134 milhões (13,7%), Paquistão com 64 milhões e Nigéria com 58 milhões, ambos correspondendo a 7% e 6% do total de cabeças, respectivamente.

A caprinocultura tem se destacado no agronegócio brasileiro, pois a criação de caprinos, com rebanho estimado em mais de 12 milhões de animais, distribuídos em 436 mil estabelecimentos agropecuários, colocou o Brasil, em 1992, em 18º lugar no ranking mundial de exportações de produtos caprinos. A exploração da caprinocultura desempenha papel relevante no fornecimento de fontes de proteína para população, e como importante promotor de desenvolvimento socioeconômico para os pequenos produtores por meio da utilização de seus subprodutos (PEREIRA et al., 2005; BRASIL, 2014).

O efetivo de caprinos registrou um crescimento de 1,5% em relação ao número de cabeças de 2012. A Bahia foi o estado brasileiro com o maior efetivo desta espécie (28,0%), seguido pelos Estados de Pernambuco (22,5%), Piauí (14,1%) e Ceará (11,7%). O Estado da Paraíba registrou em 2013 um montante de 478.083 mil cabeças, representando 6% da população total de caprinos no Nordeste (IBGE, 2013). Em termos regionais, 91,4% do efetivo caprino estava localizado na Região Nordeste. Apenas 3,6% eram representados pela Região Sul; 2,4%, pela Sudeste; 1,6%, pela Norte; e 1,0%, pela Centro-Oeste (IBGE, 2013).

Nos últimos anos, a criação de caprinos vem sendo estimulada na Região Nordeste por diversos segmentos da cadeia produtiva, como as pesquisas desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Universidades, o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (SEBRAE) e governos locais. Na prática, boa parte

desses animais são especializados para dupla ou tripla aptidão (carne, leite e pele), notadamente no Semi-árido Nordestino (GARCIA et al., 2011; IBGE, 2013).

O Nordeste Brasileiro, apesar de possuir um rebanho caprino considerável em relação às outras regiões do país, ainda apresenta um pequeno aproveitamento do potencial do leite de cabra e seus derivados. Esta situação persiste devido à falta de disponibilidade de tecnologias, aliada aos produtos de baixa qualidade e a desarticulação da cadeia produtiva, constituindo-se como entraves correntes na caprinocultura desta região (PEREIRA et al., 2005; GARCIA, 2011; OLIVEIRA, 2013).

A produção de leite de cabra no Brasil em 2010 foi de mais de 148 mil toneladas, e, em três anos, ou seja, em 2013, essa marca já ultrapassava 153 mil toneladas por ano, colocando o país no 21º lugar no *ranking* mundial de produção de leite de cabra fresco (FAOSTAT, 2014).

No Nordeste, o consumo de leite de cabra é muito comum, mas o comércio não é organizado. Os criadores estão, aos poucos, conseguindo colocar o produto no mercado por meio de iniciativas governamentais, como o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA) e a inclusão na merenda escolar (POLL et al., 2013).

Esse panorama aponta para a necessidade de que os profissionais envolvidos com a caprinocultura leiteira nacional incorporem novas tecnologias que sejam eficazes e eficientes, assegurando, assim, que os incrementos de produtividade sejam superiores ao aumento relativo dos custos de produção (WANDER; MARTINS, 2008).

O leite é definido pela legislação brasileira como “o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda” (BRASIL, 2002; ARAÚJO et al., 2011). Sendo assim, segundo a Instrução Normativa nº 37 de 2000, “Leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados” (BRASIL, 2000).

A água é o componente presente em maior proporção no leite e o valor do pH do leite normal está entre 6,5 e 6,7, de modo que valores acima indicam infecções no úbere e valores abaixo de 6,5 sugerem presença de colostro ou atividade microbiana (ARAÚJO et al., 2011). No **Quadro 1** são apresentados a composição química média do leite de algumas espécies de mamíferos:

Quadro 1 – Composição média de lipídeos, proteínas e carboidratos em leite de diferentes espécies de mamíferos.

Espécie	Gordura (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lactose (g/100g)	Referências
Humano	4,5	1,1	6,8	ORDÓÑEZ et al., 2005; ARAÚJO et al. 2011.
Vaca	4,0	3,6	5,0	ORDÓÑEZ et al., 2005; ARAÚJO et al. 2011.
Cabra	4,1	4,2	4,6	ORDÓÑEZ et al., 2005; ARAÚJO et al. 2011.
Ovelha	6,3	5,5	4,6	ORDÓÑEZ et al., 2005; ARAÚJO et al. 2011.
Búfala	6,3	3,9	4,8	SOARES et al., 2013.

Há uma grande variedade de tipos de leite utilizados na dieta humana (vaca, cabra, ovelha, búfala entre outros), e dentre estes, o caprino merece atenção por apresentar uma gama de compostos importantes para a nutrição humana como matérias orgânicas e nitrogenadas, caseína e albumina; gordura insaturada; sais minerais; e ainda, vitaminas e fermentos lácticos. Estes últimos elementos são muito favoráveis à digestão, e exercem ação de defesa do intestino frente à nocividade de bactérias patogênicas (HAENLEIN, 2004; PARK et al., 2007).

Há diferenças entre as características físico-químicas de leites de diferentes espécies de modo que as informações sobre essas características de composição são muito importantes para o desenvolvimento efetivo das

indústrias de laticínios de cabra, bem como para a comercialização de seus produtos (PARK et al., 2007).

A distribuição das substâncias que compõem o leite e suas interações físico-químicas são determinantes para a estrutura, propriedades funcionais e para a aptidão do leite durante o processamento. As micelas de caseína e os glóbulos de gordura são responsáveis por grande parte das características físicas (estrutura e cor) encontradas nos produtos lácteos. A cor esbranquiçada do leite é dada pela refração à luz que produz uma emulsão formada de gotas muito pequenas de gordura, envolvidas em uma fina película de lecitina, dispersas em água (ARAÚJO et al., 2011; SALINAS, 2002).

Alguns fatores podem afetar as características químicas, físicas e as propriedades do leite caprino, os quais podem ser de natureza genética, fisiológica, climática e, principalmente, de origem alimentar (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2008; COSTA; QUEIROGA; PEREIRA, 2009).

O leite de cabra deve ter um sabor suave, neutro e atraente além de odor aceitável. Durante anos, o leite de cabra foi descrito por muitos como “de odor forte”, “com mau cheiro”, “sabor salgado ou doce”. Sendo assim, as duas maiores barreiras na comercialização de leite de cabra seriam a percepção pública negativa do “sabor de leite de cabra” e a sua produção sazonal. Esta percepção pode ser atribuída ao fato de, às vezes, o leite de cabra ser obtido em condições sanitárias precárias ou seus produtos serem obtidos por meio de procedimentos inadequados (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010). Outro ponto negativo neste sentido seria o fato de alguns produtores utilizarem animais “velhos” e/ou manejo incorreto desses animais destinados à produção de leite e de derivados lácteos ou para a produção de carne.

A qualidade do leite de cabra pode ser definida como o potencial do leite em tolerar o tratamento tecnológico e tornar-se um produto que satisfaça as expectativas dos consumidores em termos de valor nutritivo, de segurança (higiene) e propriedades sensoriais (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010).

Segundo resultados obtidos em laboratório, o leite de cabra demonstrou-se menos alergênico que o leite de vaca em cobaias atópicas a leite, levantando a hipótese de que isso pode ter ocorrido devido à menor quantidade de α -caseína em leite de cabra. Embora não sejam claros quais são

os principais alérgenos no leite de vaca, vários estudos demonstram que a maioria das crianças com Alergia à Proteína do Leite de Vaca (APLV) sintetizam anticorpos principalmente contra as α -caseínas e as β -LG (beta-lactoglobulinas), sendo assim, as proteínas do leite de vaca seriam reconhecidas pelo sistema imunológico de alguns recém-nascidos como proteínas estranhas, causando assim reações alérgicas (LARA-VILLOSLADA; OLIVARES; XAUS, 2005).

Por possuir características químicas próprias, o leite de cabra pode ser utilizado para a fabricação de uma ampla variedade de produtos, incluindo bebidas com baixo teor de gordura, fortificadas ou aromatizadas e leite UHT (*ultra-high temperature*), produtos fermentados (ex., queijo, manteiga ou iogurte) e produtos congelados (ex., sorvetes e sobremesas) (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010). Ainda, novos mercados para o uso de leite de cabra estão sendo sugeridos para uso como base em alimentos infantis e fórmulas com alegação de saúde (SILANIKOVE et al., 2010).

O leite de cabra ainda é tradicionalmente consumido nos centros urbanos por crianças ou idosos com intolerância ao leite bovino e pela população rural de baixa renda. Porém, o aproveitamento mais racional deste produto poderia ocorrer na forma de leite pasteurizado, leite UHT, leite em pó, queijos finos, iogurtes, bebidas lácteas e doces que poderiam proporcionar resultados mais satisfatórios do ponto de vista econômico (SOUZA et al., 2011). A partir de uma perspectiva econômica, devido ao crescente interesse dos consumidores em alimentos funcionais, o leite de cabra tem um grande potencial, pois o produto possui propriedades biológicas únicas, como alta digestibilidade, alcalinidade distinta, elevada capacidade de tamponamento e propriedades terapêuticas que trazem benefícios à saúde dos consumidores (ALMEIDA-JÚNIOR et al., 2015).

3.2 Queijos: características gerais e aspectos tecnológicos

Segundo BRASIL (1996), entende-se por queijo “o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite

reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes”. A denominação “queijo” está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea.

Ainda, de acordo com a legislação vigente na Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996 (BRASIL, 1996), que fixa a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverão possuir os queijos, entende-se por queijo fresco aquele que “está pronto para o consumo logo após sua fabricação” e por queijo maturado aquele que “sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo”. Não obstante, a classificação dos queijos se apresenta como mostra o quadro 2:

Quadro 2 Classificação dos queijos em percentuais de gordura e umidade segundo a legislação vigente no país (BRASIL, 1996).

Classificação	Percentuais de gordura e umidade
Conteúdo de gordura no extrato seco	% gordura
Extra gordo ou duplo creme	Mínimo: 60
Gordo	45 – 59,9
Semigordo	25 – 44,9
Magro	10 – 24,9
Desnatado	Até 10
Conteúdo de umidade	% umidade
Baixa umidade (queijo de massa dura)	Até 35,9
Média umidade (queijo de massa semidura)	36 – 45,9
Alta umidade (queijo de massa branda ou “macio”)	46 – 54,9
Muito alta umidade (queijo de massa branda ou “mole”)	Mínimo: 55

A fração proteica do queijo é cerca de seis a dez vezes maior que a do leite, enquanto o teor de cálcio é quatro a oito vezes maior. Os queijos são

preparados por meio da precipitação da caseína do leite utilizando três métodos possíveis: a proteólise limitada (com coalho – renina – ou outros coagulantes); acidificação (cultura-mãe – cultura *starter* ou de arranque – ou adição de ácidos) e calor; ou a combinação destes três métodos. A coalhada resultante (caseína precipitada) é separada e salgada, podendo ainda ser inoculados microrganismos selecionados que irão produzir substâncias capazes de conferir odor e sabor característicos aos produtos (LUCEY; JOHNSON; HORNE, 2003; ARAÚJO et al., 2011).

Sabe-se, que há uma maior desmineralização das micelas quando há uma pré-acidificação do leite (diminuindo o valor do pH), e que quando o queijo é fabricado usando acidificação direta ou adição de culturas *starter*, este processo ocorre mais rapidamente devido à aceleração da atividade do coalho (o pH reduzido diminui as forças de repulsão entre as micelas de caseína) (LUCEY; JOHNSON; HORNE, 2003).

A matriz proteica do queijo se origina de pequenas partículas de caseína unidas por várias forças, ao longo da qual estão dispersas a umidade e os glóbulos de gordura. Essas forças e interações que contribuem para a formação e estabilidade das micelas de caseínas são importantes na definição das propriedades funcionais dos queijos (LUCEY; JOHNSON; HORNE, 2003)

O queijo é um derivado lácteo constituído de proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas A e B. Sua elaboração exige o uso de leite de qualidade satisfatória, onde a população microbiana existente não seja capaz de produzir desvios nos processos fermentativos ou que gerem sabores estranhos (SALINAS, 2002; PERRY, 2004). O líquido residual obtido durante a produção de queijos, cujo teor varia com o tipo de queijo, é chamado lactosoro. Quantidade considerável deste resíduo é eliminada durante o processo de fabricação e/ou aproveitada como matéria-prima na produção de bebidas lácteas (iogurte), queijo ricota, entre outros derivados (PERRY, 2004).

As diversas variedades de queijos são agrupadas ou classificadas de acordo com sua textura, teor de umidade e maturação ou não, ou seja, baseia-se em características decorrentes do tipo de leite utilizado, tipo de coagulação, consistência da pasta, teor de gordura, tipo de casca e do tempo de cura. Entre

os queijos não maturados pode-se citar o *cottage*, o *cream-cheese*, a ricota e Neufchatel (PERRY, 2004; JAY, 2005).

Muitos alimentos devem sua produção e suas características à atividade fermentativa de microrganismos. Além de se apresentarem mais estáveis, todos os alimentos fermentados possuem aroma e sabor característicos que resultam direta ou indiretamente dos organismos fermentadores. O processo de fermentação reduz a toxicidade de alguns alimentos e os torna acidificados (JAY, 2005; KEMPKA et al., 2008). A acidez de um produto permite um bom crescimento bacteriano e se, ao mesmo tempo, este produto possuir altas concentrações de açúcares simples é de se esperar que o crescimento de bactérias ácido lácticas ocorra mais facilmente. O grupo das bactérias ácido lácticas é composto por gêneros de bactérias Gram-positivas, que apresentam a mesma característica comum – produção de ácido láctico a partir de hexoses (fermentação láctica) – a saber: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* e *Weissella* (JAY, 2005).

A maioria dos queijos resulta de uma fermentação láctica e, em geral, o processo de manufatura consiste em dois passos importantes: 1 – O leite é preparado e inoculado com uma cultura *starter* (ou iniciadora) apropriada, a qual produz ácido láctico, que juntamente com a renina (ou um coalho químico – enzima) formará a coalhada; 2 – A coalhada é comprimida, prensada e depois salgada. Embora alguns queijos maturados sejam produtos de fermentação por bactérias ácido lácticas, diversos queijos devem suas características a outros microrganismos, a exemplo do Camembert, o qual é inoculado com esporos de *Penicillium camemberti* (JAY, 2005; PAULA; CARVALHO; FURTADO, 2009; DANTAS et al., 2013).

A fabricação de queijo é um dos exemplos clássicos de conservação de alimentos. A preservação dos componentes mais importantes do leite (ex., a gordura e a proteína) na forma de queijo explora dois dos princípios clássicos de conservação de alimentos, ou seja: a fermentação do ácido láctico e a redução da atividade de água por meio da remoção de água e adição de NaCl. Com isso, o estabelecimento de um baixo potencial redox e a secreção de

substâncias antimicrobianas por culturas de arranque (culturas *starter*) contribuem para a estabilidade do queijo durante seu armazenamento (FOX et.al., 2004).

Embora o processo básico de fabricação de queijos seja comum a quase todas as variedades, algumas particularidades relacionadas à origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação criam a imensa variedade conhecida que envolve a combinação de, basicamente, quatro ingredientes: leite, coalho, sal e microrganismos. Estes ingredientes são processados por meio de uma série de passos comuns, tais como: produção de ácidos, formação de gel, expulsão do soro e adição de sal, seguido por um período de maturação. As variações nos parâmetros de processamento, tais como: temperatura de cozimento e técnicas de manipulação desempenham um papel importante na determinação das características de cada tipo de queijo. Ainda, a microflora presente desempenha um papel crítico e central no desenvolvimento das características únicas de cada variedade de queijo (PERRY, 2004; BERESFORD et al., 2001).

Segundo dados da FAOSTAT (2014), a produção mundial total de queijo no ano 2000 ultrapassava mais de 16,5 milhões de toneladas. Esses números vêm aumentando com o passar dos anos, de modo que em 2013 essa marca já ultrapassava 21 milhões de toneladas ao ano.

Em diversos países do mundo, principalmente na Europa e no Mediterrâneo, a produção de queijo de leite de cabra representa a principal fonte de renda dos caprinocultores leiteiros, com o fornecimento ao mercado de produtos de alta qualidade e com origem protegida específica a cada região (GARCIA, 2011). Segundo Medina; Nuñez (2004), a produção de leite de cabra na União Europeia foi de 1.443.782 toneladas em 2001, e excetuando-se a porção destinada à menor produção local de iogurte de cabra, leite cru ou pasteurizado, todo o leite é transformado em queijo, isoladamente ou em misturas com o leite de vaca e/ou de ovelha.

A Europa lidera a produção de queijo de leite caprino com cerca de 45% de toda a produção mundial, seguido da Ásia, África e Américas (Figura 1).

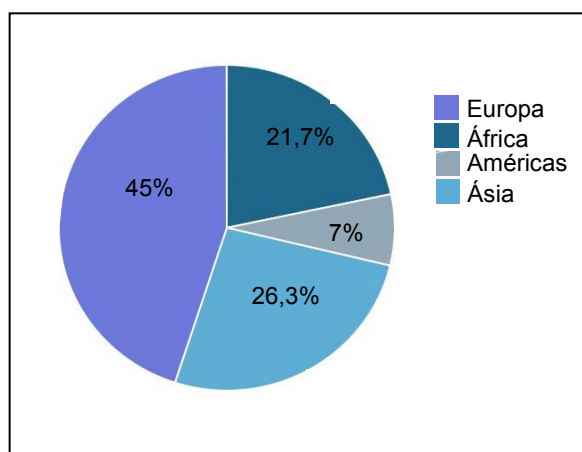


Figura 1 Percentual por regiões da produção mundial de queijo caprino. Adaptado de FAOSTAT (2014)

As propriedades sensoriais dos queijos de leite de cabra são um fator importante para a aceitação do consumidor e comercialização dos produtos. O aroma e sabor característicos nos produtos caprinos podem estar relacionados com a concentração de ácidos graxos de cadeia curta e média e/ou compostos liberados na fermentação, como o ácido láctico, ácido acético e outras substâncias voláteis (PARK; DRAKE, 2005; GARCIA; TRAVASSOS, 2012). Ainda, o leite de cabra tem uma concentração mais baixa de α 1-caseína e uma maior concentração de β -caseína do que o leite de vaca, a maioria dos queijos produzidos a partir de leite de cabra são queijos mais macios e com maior teor de umidade (MILANI; WENDORFF, 2011).

3.3 Soro de queijo e Queijo ricota

O aumento da produção de queijo no mundo gera aumento do volume dos subprodutos de sua produção tais como o soro, tendo em vista que este representa a partir do volume de leite gasto, aproximadamente 90% de resíduos (soro fresco). Este resíduo, que por sua vez é perecível, torna-se um problema econômico e ambiental no que concerne a poluição de rios, afluentes e oceanos, quando não são adequadamente descartados (MIZUBUTI, 1994).

Uma tendência corrente na indústria de laticínios é a busca de novas tecnologias empregadas no aproveitamento de resíduos, como o soro de queijo (CASTRO, 2007). Em 10 anos (2000-2010), a produção mundial de soro de

leite alcançou a marca de aproximadamente 2,5 mil toneladas em 2010, tendo a Europa figurado em primeiro lugar neste ranking, com 64% de toda a produção do mundo, e a França liderado como o país que mais produz este tipo de resíduo (FAOSTAT, 2013).

O soro ou lactosoro é um líquido resultante da separação das caseínas (após coagulação das proteínas da matéria-prima) e da gordura do leite no processo de elaboração do queijo, sendo obtido por meio do emprego de ácidos orgânicos ou enzimas proteolíticas. Este subproduto apresenta destacável valor nutricional e elevada digestibilidade, devido às proteínas de alto valor biológico e por conter mais da metade dos sólidos presentes no leite integral original, incluindo a maioria da lactose, minerais e vitaminas hidrossolúveis, sobretudo do grupo B, além de 20% das proteínas do leite. A utilização do soro como matéria-prima é também importante sob o ponto de vista econômico, pois pode se constituir como uma alternativa para elaboração de produtos lácteos com custo menor já que esse resíduo é geralmente descartado (ORDÓÑEZ, 2005; PELLEGRINI et al., 2012; HAUSCHILD et al., 2014).

As principais proteínas do soro são as imunoglobulinas, a albumina sérica, a lactoalbumina e a β -lactoglobulina. Estas proteínas são afetadas pelo processamento térmico normalmente utilizado na indústria, alterando assim as propriedades funcionais relacionadas ao seu estado inicial, sem que, necessariamente, altere suas características nutricionais. A recuperação das proteínas do soro é uma prática largamente utilizada nos países desenvolvidos, com aplicação na produção de concentrados e isolados protéicos, além de emprego na manufatura de queijos de soro, que se constituem como veículos de boa aceitabilidade para o consumo integral dessas proteínas (PINTADO; MALCATA, 1999).

Considerando o custo de descarte do soro e o seu valor nutricional, torna-se interessante a sua utilização ou de seus componentes, sob diferentes formas, em gêneros alimentícios (MIZUBUTI, 1994). Estudos relatam o uso de soro de queijos e/ou lactosoro como matéria-prima na formulação de produtos alimentícios (Tabela 1). Estes estudos demonstram a utilidade tecnológica que

os soros de queijo e/ou leite possuem para a elaboração e/ou enriquecimento de produtos alimentícios.

Tabela 1 Variedade de produtos em que se utiliza soro de queijo ou lactosoro como matéria-prima

Produtos		Fonte
Queijo ricota		PEREIRA, PÓVOA, CRUZ, 1988; PINTADO, MALCATA, 1999; EGITO et al., 2007; BRUGNERA, 2011; BORBA et al., 2014; HAUSCHILD et al., 2014
Bebidas lácteas fermentadas		DJURIĆ et al., 2004; PELEGRINI, CARRASQUEIRA, 2008; OLIVEIRA, 2009; MOREIRA et al., 2010; GOMES et al., 2013; SILVEIRA et al., 2014
Biscoitos		GUIMARAES, 2011; SECCHI et al., 2011; PÉREZ et al., 2013
Bolos		ZAVAREZE, MORAES, SALAS-MELLADO, 2010
Pães		VALDUGA et al., 2006; GURGEL, MACIEL, FARIAS, 2010; SILVA et al., 2011

A Ricota fresca é o produto obtido da albumina do soro de queijos, adicionado de leite até 20% do seu volume, tratado convenientemente e tendo o máximo de 3 (três) dias de fabricação. Além disso, deve apresentar-se com formato cilíndrico e peso entre 300 g a 1 kg; com crosta rugosa, não formada ou pouco nítida; consistência mole, não pastosa e friável; textura fechada ou com alguns buracos mecânicos; de cor branca ou branco-creme e com odor e sabor próprios (BRASIL, 1996). Em contrapartida, Egito et al. (2007), em comunicado técnico da EMBRAPA CAPRINOS/CEARÁ, recomendam que o queijo ricota deva ser consumido em até sete dias após seu processo de produção.

A ricota é um queijo de origem italiana, mais popular na região sul do país, onde é produzido de diferentes formas e utilizando leite de várias origens. Caracteriza-se como um produto suave, com textura delicada e sabor agradável. Conhecido também por “queijo de albumina”, por se constituir basicamente desta proteína e de lactoglobulina, que são os principais componentes proteicos do soro, não coaguláveis pelo coalho. Sua fabricação

se baseia na precipitação das proteínas do soro por meio de calor associado à acidificação (RIBEIRO et al., 2005; PELLEGRINI et al., 2012).

O interesse dos consumidores por alimentos em sua forma *in natura*, com quantidades pequenas de aditivos e conservantes, bem como a preferência por alimentos frescos e semiprocessados, tem aumentado. Em virtude do seu baixo teor de gordura, alta digestibilidade e teor reduzido de sal, a ricota é considerada um produto dietético e mundialmente consumido (RIBEIRO et al., 2005).

Na Itália e Grécia a ricota é produzida a partir do aquecimento e acidificação do soro de queijos provenientes do leite de ovelhas. Nos Estados Unidos e Argentina, o queijo ricota é fabricado com leite de vaca, integral ou parcialmente desnatado, ou integral misturado com soro (USDA, 1981; USDA, 1995; EGITO et al., 2007).

A ricota fresca é considerada um dos produtos que apresentam as condições mais favoráveis para o desenvolvimento e crescimento de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos devendo-se, principalmente, à elevada disponibilidade de nutrientes, como sais minerais e lactose. Além disso, a ricota possui um alto teor de umidade e pH em torno de 6,0, o que o torna susceptível à deterioração microbiana, mesmo sob refrigeração, limitando assim sua vida de prateleira. O tratamento térmico aplicado durante a fabricação da ricota é geralmente suficiente para inativar um pequeno número de bactérias que podem estar presentes; no entanto, a contaminação pós-processamento também pode ocorrer (MAIA; FERREIRA; ABREU, 2004; MARTINS et al., 2010).

Embora a ricota seja amplamente consumida, permanece a necessidade de se estabelecer um padrão de identidade para este queijo que permita um melhor controle da qualidade do produto e segurança ao consumidor. A legislação aplicada no Brasil encontrada para a ricota apenas contempla o produto em termos de sua definição no Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal no art. 610 (PINTADO; MACEDO; MALCATA, 2001; PELLEGRINI et al., 2012; MADALOZZO; SAUER; NAGATA, 2013).

3.4 Alimentos funcionais: utilização de probióticos

O uso de matrizes alimentares como veículos de promoção de saúde e, ao mesmo tempo, como redutor dos riscos de algumas doenças, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios e a criação de novos nichos de mercado, além de novas oportunidades de negócios para os produtores. Como consequência, novos produtos alimentares funcionais são continuamente introduzidos no mercado com o passar dos anos (THAMER; PENNA, 2006; BALDISSERA et al., 2011; ANNUNZIATA; VECCHIO, 2013).

O interesse em alimentos funcionais têm sido crescente, sendo influenciado por estudos que identificam as propriedades e as potenciais aplicações de algumas substâncias, paralelamente ao interesse público e demanda dos consumidores. Outra razão para a tendência do crescimento do interesse por alimentos funcionais está na educação popular, pois, atualmente a população possui uma ampla variedade de fontes de informação sobre saúde e nutrição. Muitas vezes, são repassadas informações gerais relacionadas aos conceitos sobre alimentos funcionais, despertando, assim, um interesse maior no cuidado em saúde por meio da alimentação (WILDMAN; KELLEY, 2007).

O termo “alimentos funcionais” foi inicialmente definido no Japão, em meados da década de 80, como alimentos similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal, e que demonstram benefícios fisiológicos e/ou reduzem o risco de doenças crônicas, além do valor nutritivo inerente à sua composição química. Desta forma, o Japão se tornou pioneiro na formulação do processo de regulamentação específica para os alimentos funcionais (DOLINSKY, 2009).

Segundo a Resolução nº 18 de 30 de abril de 1999, o caráter funcional é dado ao alimento ou ingrediente que possuir propriedades funcionais e que pode, além das funções nutricionais básicas, produzir efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde, com segurança de consumo sem que seja necessária supervisão médica (BRASIL, 1999).

Os alimentos e ingredientes funcionais podem ser classificados de dois modos: quanto à fonte (origem vegetal ou animal) ou quanto aos benefícios que oferecem, envolvendo cinco áreas do organismo – sistema gastrointestinal; sistema cardiovascular; metabolismo de substratos; crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular e, comportamento das funções fisiológicas (DOLINSKY, 2009).

Para que um alimento seja considerado como funcional, este deverá proporcionar um benefício fisiológico adicional, ou seja, além das qualidades nutricionais básicas encontradas devem exercer um efeito metabólico ou fisiológico que contribua para a saúde física e para a redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas. Além disso, deve fazer parte da alimentação usual e proporcionar efeitos positivos, obtidos com quantidades não tóxicas e que exerçam tais efeitos mesmo após a suspensão da ingestão, e que não se destinem a tratar ou curar doenças, estando seu principal papel ligado à redução do risco de contrair doenças (ANJO, 2004; OLIVEIRA, 2013).

O caráter funcional refere-se a uma qualidade intrínseca à matéria-prima ou a uma característica introduzida por meio de tecnologias de processamento inovadoras ou da adição de substâncias promotoras da saúde, como os probióticos, à matriz alimentar. Os compostos funcionais, que podem suplementar os alimentos, são divididos em classes, a saber: probióticos, prebióticos, simbióticos, alimentos sulfurados e nitrogenados, antioxidantes, fitosteróis, ácidos graxos poli-insaturados e algas (BISTROM; NORDSTROM, 2002; DOLINSKY, 2009; OLIVEIRA, 2013).

Uma das tendências da indústria de laticínios tem sido o lançamento de produtos nutracêuticos ou funcionais, especialmente contendo microrganismos probióticos (ANTUNES et al., 2012). O termo probióticos refere-se a microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (OLIVEIRA et al., 2002; SANDERS, 2003; VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). São culturas isoladas ou co-cultura de microrganismos vivos (bactérias lácticas e outras bactérias ou leveduras), que quando utilizadas em animais ou seres humanos, trazem benefícios ao hospedeiro no que concerne principalmente ao equilíbrio de sua microbiota intestinal, além de aumentarem significativamente o valor

nutritivo e terapêutico dos alimentos além de promover o fortalecimento do sistema imunológico de quem os consome (HAVENAAR et al., 1992; GOMES; MALCATA, 1999; VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015).

Os probióticos são conhecidos como bioterapêuticos, bioprotetores e bioprolifáticos utilizados para prevenir as infecções entéricas e gastrintestinais. Em um intestino adulto saudável (preferencialmente íleo terminal e cólon), a microflora predominante é composta de microrganismos promotores da saúde, em sua maioria pertencente aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, em menor escala, *Enterococcus faecium* (DOLINSKY, 2009). Ainda, deve ser salientado que o efeito de uma bactéria é específico para cada cepa, não podendo ser extrapolado, inclusive para outras cepas da mesma espécie (GUARNER; MALAGELADA, 2003; SAAD, 2006).

Dentre as bactérias probióticas pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum* (SAAD, 2006). Entre as bactérias lácticas pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, destacam-se *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* - subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius* (COLLINS; THORNTON; SULLIVAN, 1998; SANDERS; KLAENHAMMER, 2001; SAAD, 2006; LEE; SALMINEN, 2009).

Os microrganismos considerados probióticos, segundo a legislação brasileira, e que podem ser adicionados aos alimentos com a alegação de contribuir para o equilíbrio da flora intestinal são: *L. acidophilus*, *L. casei shirota*, *L. casei* variedade *rhamnosus*, *Lactobacillus casei* variedade *defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *B. bifidum*, *B. animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*), *B. longum* e *E. faecium* (BRASIL, 2008).

Os benefícios dos probióticos sobre a microbiota intestinal humana inclui fatores como: efeitos antagônicos, competição com outros microrganismos indesejáveis e efeitos imunológicos, aumentando a resistência contra possíveis patógenos. Ainda, a utilização de culturas bacterianas probióticas pode estimular a multiplicação de bactérias benéficas em detrimento à proliferação de bactérias patogênicas, melhorando assim a sistema de defesa do hospedeiro (PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002; SAAD,

2006). Na **Tabela 2** estão elencados os principais benefícios da utilização de probióticos para a saúde do consumidor.

Tabela 2 Consumo de probióticos e seus benefícios à saúde do consumidor

PROBIÓTICOS	
Efeitos diretos	Efeitos indiretos
Efeito nos processos metabólicos	Melhoria na intolerância à lactose Redução do câncer de cólon
Melhoria da imunidade inata	-
Diminuição do colesterol sérico	-
Alívio de sintomas de alergias alimentares infantis	-
Composição e balanço da microbiota intestinal	Controle das doenças inflamatórias do intestino Controle da síndrome do intestino irritável Resistência à colonização → supressão de patógenos endógenos e exógenos

Adaptado de Tripathi; Giri (2014).

A manutenção de um equilíbrio adequado para a microbiota intestinal pode ser assegurada pela suplementação sistemática da dieta com probióticos (BIELECKA; BIEDRZYCKA; MAJKOWSKA, 2001). A ingestão destes microrganismos, em quantidades adequadas, garante vantagens ao consumidor, incluindo o alívio de sintomas de intolerância à lactose, o aumento da resistência natural às doenças infecciosas do trato intestinal, a supressão do câncer (propriedades antitumorais), redução nas concentrações de colesterol sérico, melhor digestão e estimulação da imunidade gastrointestinal (COLLINS, GIBSON, 1999; BIELECKA; BIEDRZYCKA; MAJKOWSKA, 2001).

Estudos apontam que, para que os produtos ditos probióticos sejam assim denominados, deverão existir em populações de 10^6 e 10^7 UFC/g no produto final, afim de que essas doses sejam consideradas como terapêuticas em produtos processados (TALWALKAR, 2004). Segundo a Legislação brasileira, a quantidade mínima de células viáveis de cultura probiótica deve estar entre 10^8 e 10^9 UFC na recomendação diária de produto pronto para o consumo. Ainda, a população de probióticos deve ser indicada no rótulo do

alimento e se possuírem valores menores, estes só serão aceitos quando a eficácia do produto for comprovada pelo fabricante (BRASIL, 2008).

Em geral, a presunção é que a viabilidade do probiótico seja uma medida razoável de sua atividade probiótica. Porém, na maioria dos casos, mesmo que a viabilidade não seja necessária, é provável que esteja ainda associadas com a maioria dos efeitos na saúde, uma vez que, a viabilidade é um indicador útil do número de células presentes, independentemente do componente celular poder estar ou não ativo. Situações em que a viabilidade não é necessária para a atividade probiótica incluem a digestão da lactose, algumas atividades de modulação do sistema imune e efeitos anti-hipertensivos (BOYLSTON *et al.*, 2004). De forma geral, os produtos probióticos são padronizados com base na contagem de células viáveis, com a suposição de que este é o fator importante a ser considerado na funcionalidade do produto. Ainda, os probióticos devem possuir as características de não serem vetores de qualquer resistência a antibióticos, seja adquirida ou transmissível (BOYLSTON *et al.*, 2004; MADUREIRA, 2010).

A interação entre a microbiota intestinal e os substratos alimentares, em especial as possibilidades para melhorar a viabilidade e a promoção do crescimento de bactérias probióticas, tem sido alvo de interesse científico (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002; GARCIA *et al.*, 2012; VANDENPLAS; HUYS; DAUBE, 2015). Assim, para expandir a gama de produtos probióticos no mercado, pesquisas enfatizam a proteção da viabilidade das culturas probióticas não só durante a fabricação e o armazenamento de um produto, como também no decorrer do processo digestório. Estas abordagens investigativas são conduzidas para buscar melhorar a sobrevivência de bactérias probióticas sob condições adversas (meio ácido e entérico), inclusive com avaliação de um possível efeito protetor das matrizes alimentares sobre esses microrganismos (BURITI; CASTRO; SAAD, 2010).

O trânsito de probióticos incluídos em alimentos através de diferentes seções do TGI (trato gastrointestinal) promove a exposição destes microrganismos a diferentes condições de estresse. Após a mastigação, a primeira barreira que as bactérias devem superar são os baixos valores de pH do estômago (1 a 3) e tempos de exposição de 90 min. No duodeno, o pH sobe

para 6 – 6,5, com os sais biliares que são despejados da vesícula biliar. A concentração de sais biliares pode atingir entre 1,5 e 2% durante a primeira hora de digestão, seguindo-se por diminuição para valores próximos a 0,3%. O período de residência no intestino delgado oscila entre 2,5 e 3 horas até que se complete 50% do seu esvaziamento, enquanto o trânsito através do cólon pode levar até 40 horas. Neste ambiente, os valores de pH estão entre 5,5 – 7 e a concentração fisiológica dos sais biliares é mais baixa. A viabilidade de cepas de bifidobactérias é geralmente mais afetada por condições ácidas do que a dos lactobacilos. Bifidobactérias parecem ser mais tolerante às concentrações biliares, pois seu pH ótimo de crescimento varia em torno de 6 – 7, enquanto que os lactobacilos têm seu crescimento ótimo em pH entre 5.5 – 6 (GOMES; MALCATA, 1999; LEE; SALMINEN, 2009).

Além de proporcionar efeito benéfico a saúde, um probiótico deve atender a alguns critérios, como apresentar boas propriedades tecnológicas, de modo que possa ser incorporado em produtos alimentares sem perder sua viabilidade e funcionalidade, bem como não criar sabores ou texturas desagradáveis. Ainda, um probiótico deverá sobreviver à passagem através do trato gastrointestinal superior e alcançar seu local de ação em populações elevadas, além de ser capaz de atuar e se multiplicar no ambiente intestinal (PUUPPONEN-PIMIÄ *et al.*, 2002).

3.5 Queijos como veículos de probióticos

A viabilidade dos probióticos em um produto está relacionada com interações entre as espécies presentes com a matriz alimentar (ANTUNES *et al.*, 2012). Os benefícios dos probióticos têm sido principalmente estudados em produtos à base de leite fermentado, incluindo principalmente lactobacilos e bifidobactérias. Estes produtos contêm um grande número de compostos químicos, dependendo do tipo de leite utilizado (normalmente vaca, ovelha ou cabra), que podem influenciar a viabilidade dos microrganismos adicionados (e as suas atividades bioquímicas específicas), além dos próprios efeitos particulares inerentes aos processo tecnológicos a que são submetidos para

obtenção do produto final. Os produtos fermentados lácteos são caracterizados por um nível mais baixo de lactose residual e níveis mais elevados de aminoácidos livres e de certas vitaminas, quando comparado aos leites não fermentados (GOMES; MALCATA, 1999).

Os produtos lácteos são considerados como os mais importantes dentro do segmento de alimentos funcionais. Os leites fermentados e outros produtos lácteos são bons “veículos” para culturas probióticas, pois constituem um ambiente que favorece a sobrevivência destas culturas no produto. Ainda, as suas propriedades tamponantes protegem as culturas das condições adversas do processo digestivo, auxiliando também na manutenção da viabilidade das culturas ao longo do trato gastrintestinal (GOMES; MALCATA, 1999; ANTUNES et al., 2012; ANNUNZIATA; VECCHIO, 2013; BECHTOLD, ABDULAI, 2014).

As espécies mais frequentemente utilizadas na produção de produtos lácteos probióticos são de origem intestinal humana, sendo geralmente aceito que estas cepas são mais adequadas às necessidades fisiológicas do hospedeiro, e podem mais facilmente colonizar seu intestino do que as cepas selvagens ou cepas que existem no cólon de outros animais (GOMES; MALCATA, 1999). As espécies mais utilizadas em produtos lácteos com potencial probiótico são *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum* (a mais comum e com maior êxito), *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* subsp. *ramnosus* e *Enterococcus faecium* (GOMES; MALCATA, 1999; SAAD, 2006; OLIVEIRA, 2013).

Diversos estudos tem abordado a utilização de cepas de probióticos em diferentes produtos comerciais como pode ser visualizado na **Tabela 3**:

Tabela 3 Produtos adicionados de probióticos

Produtos	Cepas utilizadas	Fonte
Bebidas lácteas fermentadas	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	ANTUNES et al., 2012; SILVEIRA et al., 2014
logurtes	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium pseudolongum</i> e <i>Bifidobacterium bifidum</i>	MAZOCHI et al., 2010
Queijo Cheddar	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> e <i>Bifidobacterium</i> spp.	GARDINER et al., 1998; ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2006; ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2007a; ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2007b
Queijo Coalho	<i>Lactobacillus acidophilus</i> DVS (Christian Hansen); <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5, <i>Lactobacillus paracasei</i> (L. <i>casei</i> -01) e <i>Bifidobacterium lactis</i> BB-12; <i>Lactobacillus casei</i> (coleção de culturas UFPE);	SANTOS et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2012; GARCIA et al., 2012; LIMA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014
Queijo prato	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (Rhodia)	CICHOSKI et al., 2008
Queijo Minas Frescal	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12; <i>Lactobacillus paracasei</i> (LBC 82, Rhodia); <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	FREIRE, 2009; BURITI et al., 2005a; BURITI et al., 2005b
Queijo tipo Petit-suisse	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BL-04 e <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5	PEREIRA, 2007
Ricota cremosa	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	FRITZEN-FREIRE et al., 2013

Do mesmo modo como ocorrem com todos os outros produtos alimentícios, os principais pontos relacionados às modificações nos processos de elaboração de queijos podem apresentar desvantagens quanto à sua

eficiência, qualidade, sabor, segurança e aspectos nutricionais (OLIVEIRA, 2013).

Queijos são particularmente substratos favoráveis como veículos para probióticos devido à sua consistência sólida e maior capacidade tamponante. Estas características ajudam a manter a viabilidade das cepas não só ao longo do período de vida útil do produto, mas também durante a sua passagem pelo trato gastrointestinal após o consumo (COMAN et al., 2012). Os queijos são produtos com características peculiares que conferem proteção às bactérias probióticas contra a ação do oxigênio, baixo pH e sais biliares, durante a sua passagem pelo trato gastrintestinal (OLIVEIRA, 2013).

Gomes e Malcata (1998) relataram que a adição de culturas de arranque compostas por cepas probióticas de *B. lactis* e *L. acidophilus* podem ser empregadas na produção de queijo de leite de cabra, com a obtenção de um produto com características desejáveis de textura e sabor.

Albenzio et al. (2013a) avaliando o efeito da adição de diferentes cepas de bactérias probióticas sobre a composição química e as propriedades sensoriais do queijo Scamorza fabricados a partir de leite de ovelha, observaram principalmente que os queijos contendo probióticos (adicionados de *B. longum* (BL-46) e *B. lactis* (BB-12) ou *L. acidophilus* (LA-5)) apresentaram maior uniformidade estrutural e menor friabilidade (menos frágeis), sendo mais cremosos e granulados quando comparados ao produto convencional sem probióticos. Os mesmos autores também observaram que as cepas probióticas ensaiadas mantiveram a sua viabilidade ao longo dos processos tecnológicos empregados na produção do queijo, inclusive da suas vias metabólicas específicas (ALBENZIO et al., 2013b).

A sobrevivência e a estabilidade de *B. animalis* (BLC-1, Bb-12 e Bo), *L. acidophilus* (LAC-1 e Ki), *L. paracasei* ssp. *paracasei* (LCS-1) e *L. brevis* (LMG 6906) foram testadas quando inoculadas em queijo ricota bovino (Requeijão em Portugal) durante sua exposição às condições gastrintestinais (MADUREIRA et al., 2005). O estudo detectou que *B. animalis* (Bb-12 e Bo) e *L. brevis* (LMG 6906) exibiram números mais elevados de células viáveis quando expostos aos sais biliares, enquanto que a viabilidade observada para as outras cepas foi variável.

Na tentativa de desenvolver um queijo Cheddar probiótico que abrigasse um número elevado de células viáveis de *Bifidobacterium* sp, Brearty et al. (2001) utilizaram as cepas *B. lactis* (Bb-12) e *B. longum* (BB536) em duas amostras de queijo tipo Cheddar em escala piloto. No estudo, os autores encontraram que apenas *B. lactis* BB-12 manteve-se viável em níveis de 10^8 UFC/g no queijo ao longo de seis meses de maturação, enquanto que *B. longum* (BB536) sobreviveu apenas em níveis de 10^5 UFC/g após um mês de maturação. Os autores sugeriram a cepa de *B. lactis* (BB-12) como tecnologicamente apropriada para a adição em queijo Cheddar sobrevivendo ao fabrico de queijo e ao amadurecimento com contagens elevadas.

Madureira et al. (2011) em estudo com Requeijão (queijo de soro bovino) adicionado de *L. casei* (LAFTI®L26), *L. acidophilus* (LAFTI®L10) ou *B. animalis* (LAFTI®L10 Bo), observaram tolerância das cepas teste às condições gastrointestinais simuladas, embora a cepa de *B. animalis* tenha apresentado a maior taxa de sobrevivência. Os autores relacionaram o efeito protetor observado frente as todas as cepas incorporadas às características de estrutura sólida da matriz de incorporação.

Em um estudo para avaliar a viabilidade de microrganismos probióticos (*L. casei* (ATCC 373), *L. rhamnosus* (GG ATCC 53103) e a mistura probiótica YO-MIX™ 205, contendo *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. e *Streptococcus thermophilus*) adicionados ao queijo Cottage e expostas a condições gastrointestinais simuladas, Abadía-García et al. (2013) observaram que os microrganismos probióticos adicionados ao queijo permaneceram viáveis após quatro semanas de armazenamento refrigerado. Além disso, os probióticos sobreviveram às condições simuladas do trato gastrointestinal, mantendo contagens em torno de 10^4 UFC/g. Sendo assim, os autores propuseram que o queijo Cottage é um bom veículo para os microrganismos probióticos tendo em vista sua sobrevivência em um período de 28 dias de armazenamento refrigerado.

A sobrevivência das bactérias probióticas em queijos frescos é maior quando comparada aos queijos maturados. Essa maior sobrevivência estaria relacionada ao menor tempo de armazenamento dos queijos frescos, ao menor teor de sal e ao maior teor de umidade e atividade de água, fatores que não

limitariam a multiplicação do probiótico (BURITI et al., 2005b). Neste sentido, a ricota fresca produzida a partir de leite de cabra pode ser considerada como um potencial carreador para esses microrganismos, conferindo ao produto final a característica de alimento funcional, e com aspectos diferenciados que possibilitam o seu consumo por indivíduos com restrições alimentares, tais como aquelas relacionadas ao aporte calórico e alergias a proteínas do leite de vaca. Além disso, os produtos à base de soro de leite têm se mostrado como um substrato adequado para abrigar, proteger e carrear bactérias probióticas (Castro et al., 2013).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de execução e Coleta de materiais

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Bromatologia (análises físico-químicas), Laboratório de Bioquímica e Microbiologia dos Alimentos (análises microbiológicas e de viabilidade das cepas probióticas) e no Laboratório de Técnica Dietética (análise sensorial) do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CCS/UFPB; além do Laboratório de Química de Alimentos (análises instrumentais – Cor, Textura e Ácidos Graxos) do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia – CT/UFPB (Campus I/João Pessoa), no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios (PDLAT) (manufatura do queijo) do Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA/UFPB (Campus III/Bananeiras) e na Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa (análises instrumentais – Açúcares e Ácidos orgânicos) (Porto – Portugal).

O leite de cabras (*Capra hircus*) da raça Alpina foi adquirido no plantel do Setor do Caprinocultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA da UFPB – Campus III, situado na cidade de Bananeiras – PB, sendo armazenado sob refrigeração até o momento do processamento de queijo coalho para obtenção do soro utilizado na fabricação da ricota caprina.

4.2 Cepas bacterianas e condições de crescimento

Na produção dos queijos ricota foram utilizadas culturas comerciais liofilizadas das cepas probióticas *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*L. acidophilus*) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (*B. lactis*) sendo adquiridas junto à empresa Christian Hansen (Valinhos, Minas Gerais, Brasil). Cepas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 vem sendo empregadas

industrialmente como probiótico em vários produtos alimentícios há muitos anos e as cepas LA-5 de *L. acidophilus* têm sido largamente empregadas em estudos com alimentos probióticos, uma vez que são comprovadamente probióticas (ANTUNES et al., 2007; RIBEIRO et al., 2012).

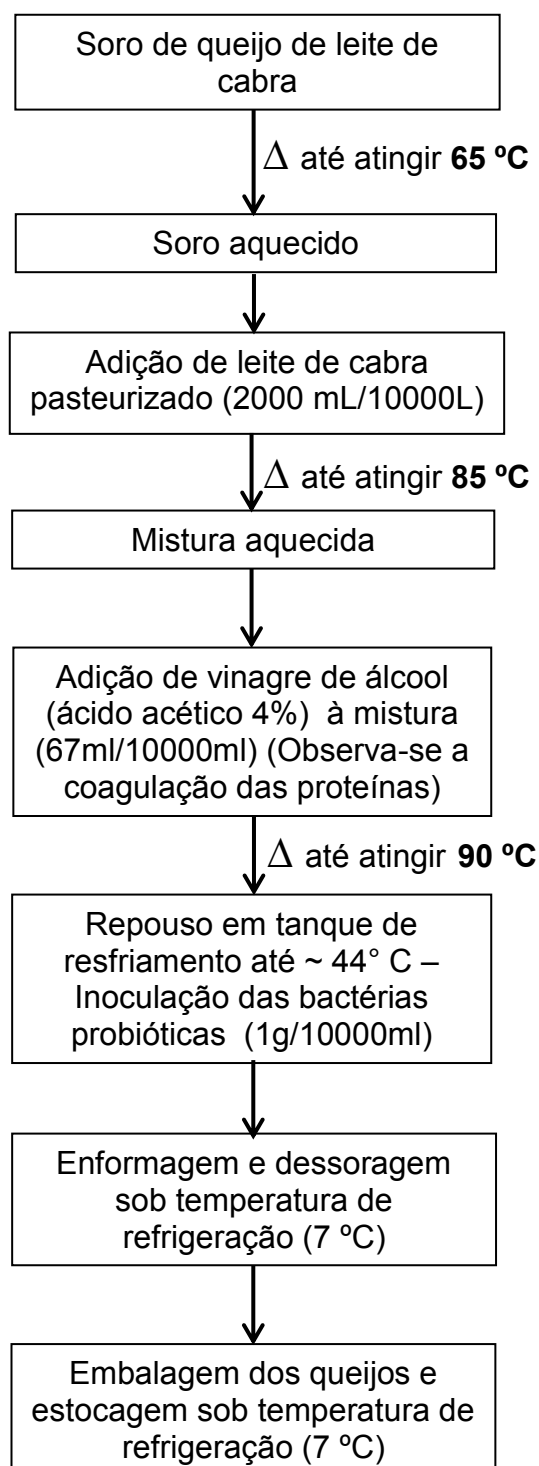
As culturas liofilizadas de cepas probióticas de *L. acidophilus* foram cultivadas por 48h a 37°C em caldo MRS (de Man-Rogosa-Sharpe) (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) e em caldo MRS + cisteína (0,05 g / 100 mL, Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) (CMR) para *B. lactis*. Depois de atingir a fase estacionária de crescimento, as cepas probióticas foram aquecidas em banho-maria a 65°C durante 30 min para induzir a adaptação ao calor (MINERVINI et al., 2012). As culturas de células (30 mL) foram centrifugadas (1200 x g durante 10 min), o sobrenadante foi descartado e 30 mL de água destilada estéril foi adicionada ao sedimento obtido. As células colhidas foram plaqueadas em meio seletivo para testar a recuperação de células após o tratamento térmico. As contagens de células de *L. acidophilus* e *B. lactis* variou entre 8,5 e 8,0 log de unidades formadoras de colônias por mililitro (log UFC/mL) (OLIVEIRA et al., 2014).

4.3 Elaboração de queijos ricota caprinos: matérias-primas

Três diferentes tipos de queijos ricota caprino foram produzidos em triplicata, sendo: R1 – controle; queijo não adicionado da cultura de bactéria ácido láctica; R2 – queijo adicionado da cultura de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) e R3 – queijo adicionado da cultura de *Bifidobacterium lactis* (Bb12).

O leite de cabra utilizado no fabrico de queijo de coalho para obtenção do soro foi obtido a partir da raça Alpina e pasteurizado a 65°C durante 30 min. O soro de leite de cabra, neste caso, caracterizado como soro doce, foi gerado durante a fabricação do coalho, um produto típico da região Nordeste do Brasil, caracterizado como um queijo semi-duro e de média umidade. A produção de queijo de coalho foi realizada através do uso de coagulação enzimática de acordo com procedimento descrito por Garcia et al. (2012). Após o processo de

obtenção do soro de leite, os queijos ricota foram elaborados da forma descrita no **Esquema 1**:



Esquema 1 Fabricação de ricota caprina adicionada de bactérias probióticas

Fonte: Fluxograma de fabricação da ricota cremosa (adaptado de Ribeiro et al., 2005)

Os diferentes queijos obtidos foram avaliados quanto às suas características tecnológicas, físico-químicas, microbiológicas, sensoriais, perfil de ácidos graxos, ácidos orgânicos e açúcares em diferentes intervalos de armazenamento, ou seja, imediatamente (1º dia) e após 7 dias de armazenamento a 7°C, visto que a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa - Brasil) determina que este produto deva ser comercializado em até 7 dias de armazenamento sob temperatura refrigerada (EGITO et al., 2007). Nos intervalos analisados, três queijos ricota do mesmo lote foram desempacotados. Em seguida, as amostras (25 g) foram assepticamente recolhidas a partir de diferentes partes dos queijos para análise microbiológica. Na análise do perfil de textura instrumental, pelo menos, 0,5 cm da casca foi descartada e as amostras de queijo foram cuidadosamente recolhidas do centro para a parte exterior. O resto do queijo foi ralado e/ou imediatamente utilizado para as análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais (OLIVEIRA et al., 2014). O ensaio de sobrevivência durante a exposição às condições gastrointestinais simuladas foi realizado com amostras de Ricota caprina no 1º dia de fabricação.

4.4 Análise microbiológica e de viabilidade das cepas probióticas durante o armazenamento

As amostras de ricota caprina foram submetidas às análises microbiológicas de contagem de coliformes totais e termotolerantes, bactérias mesófilas e *Staphylococcus* coagulase-positiva, e presença/ausência de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, as quais foram realizadas conforme procedimentos preconizados pela APHA (2001).

As contagens de *L. acidophilus* LA-5 e *B. lactis* Bb-12 nas amostras de ricota foram realizadas por meio do uso do procedimento de contagem de células viáveis (OLIVEIRA et al., 2014). Para isso, em cada tempo pré-estabelecido (imediatamente após o fabrico - tempo zero, 1 e 7 dias de armazenamento), 25g de queijo foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada (0.1 g/100g) em um saco Mixer 400 (Interscience Co., França) e

submetidas a diluições sucessivas (10^{-2} – 10^{-5}) com o mesmo diluente. Subsequentemente, uma alíquota de 1 mL de cada diluição foi colocada em ágar MRS (HIMEDIA Laboratories, Índia) ou em MRS + cisteína (0,05 g / 100 mL) (HIMEDIA Laboratories, Índia) ágar MRSC (para a contagem de *L. acidophilus* e *B. lactis*, respectivamente), seguindo-se por incubação durante 3 dias a 37 °C sob condições anaeróbicas utilizando sistema de geração de anaerobiose (Anaerogen, Oxoid) (FDA, 1992). As contagens foram expressas em log de unidades formadoras de colônias por grama de queijo (log UFC/g).

4.5 Rendimento, sinérese, pH e atividade de água (Aa)

O rendimento dos queijos foi calculado através da massa de queijo obtida no final do processamento, para cada 10 L do soro de leite empregados na produção de queijos em cada experimento (g de queijo/ 10 L de soro de leite) (ZENG et al., 2007). A sinérese (em g/100 g) foi calculada como o peso de soro liberado por cada grama de queijo em sua própria embalagem após o armazenamento em diferentes tempos dividido pelo peso do queijo em gramas da mesma embalagem e multiplicado por 100 (BURITI et al., 2005a; SOUZA; SAAD, 2009).

O cálculo dos parâmetros rendimento e sinérese foi realizado com base nas fórmulas a seguir:

- $$\text{Rendimento} = \frac{\text{Peso em gramas de queijo produzido}}{10 \text{ L de leite utilizado}}$$
- $$\text{Sinérese} = \frac{\text{Peso em gramas de soro} \times 100}{\text{Peso em gramas do queijo}}$$

Os valores de pH foram medidos com um potenciômetro digital previamente calibrado (potenciômetro Q400As - Quimis®) e a atividade de água (Aa) foi determinada de acordo com procedimento padrão utilizando-se o

equipamento Aqua Lab (Aqualab, Pullman, EUA), modelo CX-2 (978:18) (AOAC, 2005).

4.6 Composição centesimal

A Composição centesimal foi determinada de acordo com os procedimentos padrão (AOAC, 2005) para a umidade (secagem em estufa a 105 °C até obtenção de peso constante) (925:09), gordura (utilização de lactobutirômetro de Gerber, conforme metodologia adaptada para queijos) (2.000:18), proteína (método de Micro-Kjedahl, multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio pelo fator 6,38) (939:02), lactose (redução de Fehling, utilizando azul de metileno como indicador) (923:09), extração de sólidos totais (secagem em estufa a 105 °C até obtenção de peso constante) (990:19), cinzas (carbonização, seguida de incineração em mufla a 550°C) (930:30) e acidez (g/100 g de ácido láctico) (titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 N) (920:124).

4.7 Análise de textura Instrumental

Os métodos instrumentais de análise de textura avaliam propriedades mecânicas a partir de forças aplicadas ao alimento numa simulação da ação de compressão e corte dos dentes durante a mastigação (LI et al., 1998).

As propriedades de textura das amostras de ricota foram avaliadas com o equipamento TA-XT2 Texture Analyzer TM (Stable Micro Systems, Haslemere, England) usando uma dupla compressão com um probe acrílico cilíndrico (25 mm de diâmetro sonda cilíndrica acrílico (P25), taxa de deformação programada a uma velocidade de 1 mm/s e a penetração máxima de 10 mm). Os parâmetros dureza, elasticidade, aderência, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resistência foram medidos em três repetições de cada amostra (BORBA et al., 2014).

4.8 Análise de cor Instrumental

A cor, por ser um indicador de qualidade, tem destacada influência na aceitação do consumidor. Nas medidas instrumentais da cor de materiais opacos, a reflexão da luz sobre o objeto é detectada em escala de três elementos L^* (luminosidade), a^* (verde(-)/vermelho(+)), b^* (azul(-)/amarelo(+)) (sistema Hunter Lab e CIELAB) (OLIVO et al., 2001).

Um colorímetro CR-300 (Minolta Co., Osaka, Japão) foi utilizado para a avaliação da cor instrumental das amostras de ricota caprina. A escala de cor Lab CIE ($L^* a^* b^*$) foi usado com um iluminante D65 (luz do dia normal) e um ângulo de 10° . Os parâmetros L^* , a^* b^* foram determinados de acordo com a Comissão Internacional de Iluminação (CIE 1996). Usando placas de referência, o aparelho foi calibrado no modo de reflectância com reflexão especular excluídos. Uma cuvete de quartzo de 10 mm foi utilizado para as leituras. As medições foram realizadas em triplicata utilizando a secção interior dos queijos imediatamente após serem desembalados (SHEEHAN et al., 2009).

4.9 Análise do perfil de ácidos graxos

Os queijos ricota (tratamentos) foram submetidos às análises de perfil lipídico com a caracterização dos ácidos graxos presentes no extrato lipídico, obtido a partir do método de Folch; Less; Stanley (1957) seguindo a metodologia descrita por Hartman & Lago (1973). A identificação e quantificação dos ésteres de ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo gasoso (VARIAN 430-GC, California, USA), acoplado com detector de ionização de chama (FID), coluna capilar de sílica fundida (CP WAX 52 CB, VARIAN) com dimensões de 60mm x 0,25mm e 0,25 μ m de espessura do filme. Foi utilizado o hélio como gás de arraste (vazão de 1 mL/min). A temperatura inicial do forno foi de 100°C, com programação para atingir 240°C, aumentando 2,5°C por minuto, permanecendo por 20 minutos. As temperaturas do injetor e detector foram mantidas em 250°C e 260°C, respectivamente. Os

cromatogramas foram registrados em *software* tipo *Galaxie Chromatography Data System*. Os ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos das amostras com padrões Supelco ME19-Kit (*Fatty Acid Methyl Esters C6-C22*). Os resultados dos ácidos graxos foram quantificados por normalização das áreas dos ésteres metílicos e expressos em percentual de área.

4.10 *Análise do perfil de açúcares*

As amostras de ricota (5 g) foram precipitadas usando 20 g de 1,0M de ácido perclórico e colocadas em repouso durante a noite a 4 °C. O sobrenadante (1mL) foi centrifugado (4000rpm, 15 min, 4°C), passado através de um filtro de membrana de 0,45mm e submetido a análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (FREITAS, et al., 1999). A determinação dos açúcares foi realizada utilizando um Cromatógrafo série 1100 da Hewlett-Packard equipado com um detector de índice de refração operado a 50 °C e um CARBOsep CHO 682 coluna 300x7,8 milímetros (Transgenomic, Glasgow, Reino Unido) operando a 80 °C. Água destilada foi utilizada como fase móvel (taxa de fluxo de 0,4mL/min). Os picos cromatográficos da amostra foram identificados por comparação dos tempos de retenção obtidos a partir de padrões de lactose, galactose e glicose. As injeções foram realizadas em duplicata, e as áreas médias de pico foram usadas para a quantificação dos açúcares.

4.11 *Análise do perfil de ácidos orgânicos*

As amostras de ricota (5 g) foram precipitadas usando 20 g de 1,0M de ácido perclórico e colocadas em repouso durante a noite a 4 °C. O sobrenadante (1mL) foi centrifugado (4000rpm, 15 min, 4°C), passado através de um filtro de membrana de 0,45mm e submetido a análise de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (FREITAS, et al., 1999). A determinação dos ácidos orgânicos foi realizada utilizando um Cromatógrafo série 1100 da

Hewlett-Packard equipado com um detector de índice de refração operado a 50°C e um CARBOsep CHO 682 coluna 300x7,8 milímetros (Transgenomic, Glasgow, Reino Unido) operando a 80 °C. Água destilada foi utilizada como fase móvel (taxa de fluxo de 0,4mL/min). Os picos cromatográficos da amostra foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos ésteres metílicos obtidos das amostras a partir de padrões Supelco ME19-Kit (Fatty Acid methyl Esters C6-C24). As injeções foram realizadas em duplicata e as áreas médias de pico foram usadas para a quantificação dos ácidos orgânicos.

4.12 Análise sensorial

A pesquisa foi submetida à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba e conforme sua aprovação sob o protocolo de número 111.523/2012 (reconhecido pela Comissão Nacional de Ética Pesquisa – CONEP) (**ANEXO A**), a avaliação sensorial foi realizada após 1 e 7 dias de fabricação. Somente foram submetidos a este teste os queijos cujas análises microbiológicas indicaram o atendimento aos padrões recomendados pela legislação específica (BRASIL, 1996). Foram realizados testes de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) entre as amostras de acordo com metodologia descrita por Stone; Sidel (1993). O painel foi composto por 10 provadores treinados previamente que seguiram os passos de pré-seleção, definição de terminologia descritiva e análise descritiva (ALBENZIO et al., 2013a). Os membros do painel participaram de 10 sessões de treinamento (cada sessão com duração de uma hora) para desenvolver sua terminologia descritiva e familiarizar-se com os materiais de referência. Os atributos avaliados incluíram aparência (lisa, esbranquiçada, cremosa), aroma (leite de cabra e manteiga), sabor (leite de cabra, manteiga, ácido e salgado) e textura (aparência suave e homogênea) (**APÊNDICE A**). Uma escala não estruturada de 0 (fraco) a 9 (forte), ancorando o mínimo e o máximo, foi utilizado para avaliar a intensidade de cada descritor atribuído (**APÊNDICE B**). As análises foram realizadas em cabines individuais com temperatura controlada e iluminação, e as amostras foram servidas em

temperatura de refrigeração em pratos descartáveis codificados com três dígitos aleatórios, acompanhados com água mineral em temperatura ambiente e bolacha água e sal.

4.13 Efeitos da exposição às condições gastrointestinais simuladas sobre a sobrevivência das cepas probióticas

Após processamento das ricotas caprinas de acordo com metodologia descrita em 3.3, as quais foram inoculadas com as culturas probióticas isoladas: *L. acidophilus* (LA-5) e *B. lactis* (BB 12) e armazenados por 7 dias sob temperatura de refrigeração (10 ± 1 °C), procedeu-se da seguinte forma:

Cada cepa probiótica foi estudada separadamente, sendo que para cada uma delas um conjunto de três amostras de ricota foram produzidas. A primeira correspondeu à amostra inoculada com a cepa probiótica testada, mas que não foi exposta às condições gastrointestinais simuladas; a segunda correspondeu à amostra não inoculada com a cepa probiótica testada, mas exposta às condições gastrointestinais simuladas (e utilizada para seguir assepticamente os ajustamentos de pH nas fases sequenciais da digestão *in vitro*); e, por fim, a terceira correspondeu a amostra inoculada com a cepa probiótica testada e exposta às condições gastrointestinais simuladas. Todas as amostras foram preparadas em frascos esterilizados (500mL). Nestes recipientes, cada amostra contendo uma das cepas probióticas testadas foram distribuídas em quantidades de 25g cada. As condições gastrointestinais simuladas neste estudo estão descritas no **Quadro 3**, incluindo os compostos, as suas concentrações, o intervalo de tempo de exposição e as intensidades de agitação em todos os passos (a agitação foi usada para simular os movimentos peristálticos).

A simulação foi contínua, de modo que o volume global de trabalho foi aumentado (como acontece durante a digestão real) em relação ao inicial de 25 g de amostra de ricota (MADUREIRA et al., 2011).

Quadro 3 – Condições de processamento utilizadas nas etapas de digestão simulada.

Etapas	Compartimento	Condições	Agitação (rpm)	pH Final	Tempo de exposição (min.)
1	Antes da simulação	-	-	-	-
2	Boca	Saliva [1,2mL amilase + 2,0 mL NaHCO ₃]	200	6,9	2
3	Esôfago – Estômago	1,2 mL Pepsina + 1,3 mL HCl	130	5,5	10
4		1,1 mL HCl		4,6	10
5		1,3 mL HCl		3,8	10
6		3,2 mL HCl		2,8	20
7		2,5 mL HCl		2,3	20
8		3,2 mL HCl		2,0	20
9	Duodeno	6 mL Solução intestinal (Pancreatina + sais biliares) + 66 mL NaHCO ₃	45	5,0	30
10	Íleo	129 mL NaHCO ₃	45	6,5	60

(Adaptado de Oliveira et al., 2014)

A mastigação foi simulada de acordo com Oliveira et al. (2014), utilizando uma solução de saliva preparada com 100 U/mL de 1- α -amilase diluída em solução de CaCl₂ a 1 mM, onde o pH foi ajustado para 6,9 utilizando solução de NaHCO₃ a 1 mM. Esta solução foi adicionada em 25 g das amostras a uma taxa de 0,6 mL/min, durante 2 minutos. Na etapa que simulou as condições do esôfago-estômago adicionou-se solução de pepsina a uma taxa de 0,05 mL/mL durante 90 minutos. A solução de pepsina foi preparada em HCl a 0,1 N numa proporção de 25 mg/mL. Nesta etapa, o pH foi reduzido para 2, utilizando solução de HCl a 1 M (MAINVILLE et al., 2005). As condições do duodeno foram simuladas utilizando 2 g/L de pancreatina e 12 g/L de sais biliares, diluídos em solução de NaHCO₃ a 0,1 M. Esta solução foi adicionada no início da etapa a uma taxa de 0,25 mL/mL (LAURENT; BESANÇON; CAPORICCIO, 2007). Finalmente, a etapa do íleo foi provocada por um aumento do pH para 6,5 utilizando solução de NaHCO₃ a 0,1 M. A simulação foi contínua, de modo que o volume de trabalho total aumentou simulando o que ocorre no processo digestório. Todas as soluções de enzima foram preparadas e esterilizadas usando um filtro de membrana de 0,22 μ m (Millipore,

Billerica, MA, EUA) antes da utilização. Após a esterilização, todas as soluções foram mantidas em banho de gelo durante o período de simulação, antes da sua adição gradual (quando apropriado). Uma câmara de incubação a 37 °C e agitação mecânica foi usada para simular a temperatura do corpo humano e os movimentos peristálticos com intensidades semelhantes às atingidas em cada compartimento digestório. Após exposição a cada passo de digestão artificial, uma alíquota de 1 mL do sistema, formando cada compartimento gastrointestinal, foi colhida assepticamente, diluídas em série em água peptonada esterilizada [0,1 g/100 mL (Oxoid Ltda., Basingstoke, Hampshire, England)] de modo que uma alíquota de 1 mL de cada diluição foi inoculada em ágar MRS (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) suplementado com cisteína-HCl (0,05 g / 100 mL) ou em MRS (para contagem de *B. lactis* e *L. acidophilus*, respectivamente) e incubada durante 72 horas a 37 °C sob condições anaeróbicas (sistema anaeróbico Anaerogen, Oxoid) (FDA, 1992). As contagens foram expressas em log de unidades formadoras de colônias por grama de ricota (log UFC/g).

4.14 Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas em três ocasiões diferentes (réplicas) e os dados foram analisados em triplicata. Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva (média e desvio-padrão) e diferencial. Para observação de diferenças significativas entre as médias obtidas para os parâmetros tecnológicos e físico-químicos entre os diferentes tipos de queijos elaborados foi utilizado o teste de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey. Por sua vez, os dados obtidos para os parâmetros tecnológicos e físico-químicos em um mesmo tipo de queijo nos diferentes tempos de armazenamento (1 e 7 dias) foram analisados utilizando o teste T de Student. A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada considerando a sua eficiência para fornecer representações gráficas que integram os dados significativos (SILVANO et al., 2014) para diferenças entre as médias em todas as análises. Por fim, os dados obtidos no experimento de

exposição às condições gastrintestinais simuladas foram analisados utilizando o teste T de Student para verificação de diferenças significativas entre as contagens médias obtidas para cada cepa de probiótico quando incorporada em cada tipo de queijo e em caldo MRS, seguindo-se por exposição a uma dada condição (etapa) de simulação do trato gastrointestinal. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado como significativo. Para a realização das análises estatísticas, foram utilizados os softwares SigmaStat 3.1 e Statistica 7.0.

5 REFERÊNCIAS

ABADÍA-GARCÍA, L.; CARDADOR, A.; CAMPO, S. T. M.; ARVÍZU, S. M.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; REGALADO-GONZÁLEZ, C.; GARCÍA-ALMENDAREZ, B.; AMAYA-LLANO, S. L. Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions. **International Dairy Journal**, v. 33, n. 2, p. 191–197, 2013.

ALBENZIO, M.; SANTILLO, A.; CAROPRESE, M.; BRAGHIERI, A.; SEVI, A.; NAPOLITANO, F. Composition and sensory profiling of probiotic Scamorza ewe milk cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 5, p. 2792–800, 2013a.

ALBENZIO, M.; SANTILLO, A.; CAROPRESE, M.; RUGGIERI, D.; NAPOLITANO, F.; SEVI, A. Physicochemical properties of Scamorza ewe milk cheese manufactured with different probiotic cultures. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 5, p. 2781–91, 2013b.

ALMEIDA-JÚNIOR, W. L. G.; FERRARI, Í. S.; SOUZA, J. V.; SILVA, C. D. A.; COSTA, M. M.; DIAS, F. S. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. **Food Control**, v. 53, p. 96–103, 2015. doi:10.1016/j.foodcont.2015.01.013

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

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 348–355, 2013.

ANTUNES, A. E. C.; LISERRE, A. M.; FARIA, E. V.; YOTSUIANAGI, K.; LERAYER, A. L. S. Análise Descritiva Quantitativa de Buttermilk. **Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 619–629, 2012.

ANTUNES, A. E. C.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; et al. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 83–90, 2007.

AOAC International. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. AOAC International, Washington, DC. 2005.

APHA . **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4^a ed. Washington, DC: American public health association. 2001.

ARAÚJO, WILMA M.C. et al. **Alquimia dos alimentos**. Brasília, Editora Senac-DF, 496 p., 2009.

BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. DELLA; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Semina: Ciencias Agrarias**, v. 32, n. 4, p. 1497–1512, 2011.

BECHTOLD, K. B.; ABDULAI, A. Combining attitudinal statements with choice experiments to analyze preference heterogeneity for functional dairy products. **Food Policy**, v. 47, p. 97–106, 2014. doi:10.1016/j.foodpol.2014.05.007

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; COGAN, T. N. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001. doi:10.1016/S0958-6946(01)00056-5

BIELECKA, M.; BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A.; MAJKOWSKA, A. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo e effectiveness . **Food Research International**, v. 35, p. 125–131, 2002. doi:10.1016/S0963-9969(01)00173-9

BISTRÖM, M.; NORDSTRÖM, K. Identification of key success factors of functional dairy foods product development. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 372–379, 2002.

BORBA, K. K. S.; SILVA, F. A.; MADRUGA, M. S.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. The effect of storage on nutritional, textural and sensory characteristics of creamy ricotta made from whey as well as cow's milk and goat's milk. **International Journal of Food Science and Technology**, p. 1279–1286, 2014. doi:10.1111/ijfs.12432

BOYAZOGLU, J.; HATZIMINAOGLOU, I.; MORAND-FEHR, P. The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future. **Small Ruminant Research**, v. 60, n. 1-2, 13–23, 2005.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, n. 5, p. 375–387, 2004.

BRASIL, MAPA (Ministério da Agricultura e do Abastecimento). **Instrução Normativa Nº 51 DE 18/09/2002**. Anexo I - Regulamento Técnico De Produção, Identidade E Qualidade De Leite Tipo A. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=gravarAtoPDF&tipo=INM&numeroAto=00000051&seqAto=000&valorAno=2002&origao=MAA&codTipo=&desItem=&desItemFim=> Acesso em 20 de maio de 2015.

BRASIL, MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Dec. 30691-52, Art. 610. Brasília. 1996. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Aniamal/MercadoInterno/Requisitos/RegulamentoInspecaoIndustrial.pdf Acesso em 20 de maio de 2015.

BRASIL, MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Caprinos e Ovinos**. 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos> . Acesso em 20 de maio de 2015.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Regulamento Técnico de Produção, identidade e qualidade do leite de cabra. **Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000**. Diário Oficial da União, Brasília, 8 de novembro de 2000. Disponível em: <http://www.cda.sp.gov.br/www/legislacoes/popup.php?action=view&idleg=663> Acessado em 20 de maio de 2015.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de vigilância sanitária. **Alimentos com alegações de saúde, novos alimentos / ingredientes, os compostos bioativos e probióticos**, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm. Acesso em: 25 de maio de 2015.

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de vigilância sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999 - **Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. 1999. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/815ada0047458a7293e3d73fbc4c6>

[735/RESOLUCAO_18_1999.pdf?MOD=AJPERES](#) Acesso em: 22 de junho 2015.

BREARTY, S. M.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; et al. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 8, p. 599–610, 2001.

BRUGNERA, D. F. Ricota: **Qualidade microbiológica e uso de especiarias no controle de *Staphylococcus aureus***. 2011. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

BURITI, F. C. A; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, n. 2-3, p. 121–129, 2010.

BURITI, F. C. A; ROCHA, J. S. DA; ASSIS, E. G.; SAAD, S. M. I. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 173–180, 2005a.

BURITI, F. C. A; ROCHA, J. S. DA; 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, 2005b.

CASTRO, V.C. **Diagnóstico do consumo de água, da geração de efluentes e de resíduos sólidos em um laticínio de pequeno porte**. 2007. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais.

CASTRO, W. F.; CRUZ, A G.; RODRIGUES, D.; GHISELLI, G.; OLIVEIRA, C. A. F.; FARIA, J. A. F.; GODOY, H. T. Short communication: Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 1, p. 96–100, 2013.

CICHOSKI, A. J.; CUNICO, C.; LUCCIO, M. DI; ZITKOSKI, J. L.; CARVALHO, R. T. DE. Efeito da adição de probióticos sobre as características de queijo prato com reduzido teor de gordura fabricado com fibras e lactato de potássio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 214–219, 2008.

CIE - **Commission Internationale de l'Eclairage**. Colourimetry, 2nd ed. Vienna: CIE Publication. 1996.

COLLINS, J. K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G. O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Dairy Journal**, v. 8, n. 5-6, p. 487–490, 1998.

COLLINS, M. D.; GIBSON, G. R. Probiotics, prebiotics, and symbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 69 (suppl), p. 1052S–7S., 1999.

COMAN, M. M.; CECCHINI, C.; VERDENELLI, M. C.; et al. Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 3, p. 346–352, 2012.

COSTA, R. G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. SUPPL. 1, p. 307–321, 2009.

DANTAS, D. S.; ARAUJO, A. M.; SANTOS, J. O.; SANTOS, R. M. S.; RODRIGUES, O. G. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, Estado da Paraíba. **Agropecuária Científica no Semiárido**. v. 9, n. 3, p. 110–118, 2013.

DJURIĆ, M.; CARIĆ, M.; MILANOVIĆ, S.; TEKIC, M.; PANIĆ, M. Development of whey-based beverages. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 4, p. 321–328, 2004.

DOLINSKY, M. (Org.). **NUTRIÇÃO FUNCIONAL**. 1º ed. São Paulo: ROCA, 2009.

EGITO, A. S.; BENEVIDES, S. D.; LAGUNA, L. E.; SANTOS, K. O. **Processamento de Ricota a partir do Soro de Queijos de Cabra. Comunicado Técnico – EMBRAPA Caprinos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). 1ª Ed. Sobral/Ceará – 2007.

FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations.
Statistics Division. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>
 Acesso em 14 de dezembro de 2014.

FDA (Food and Drug Administration). **Bacteriological Analytical Manual.** 7ed.
 AOAC International, Arlington, VA, USA. 1992.

FOLCH, L.; LESS, M.; STANLEY, S.A. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological for Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; COGAN, T.M.; GUINEE, T.P. **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology.** 3th ed., v. 1, Academic Press, 2004, 640p.

FREIRE, C. B. F. **Efeito da adição de *Bifidobacterium* Bb-12 e/ou do emprego da acidificação direta sobre as propriedades de queijo Minas Frescal.** 2009. 112p. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

FREITAS, A. C.; PINTADO, A. E.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Organic acids produced by lactobacilli, enterococci and yeasts isolated from Picante cheese. **European Food Research and Technology**, v. 209, n. 6, p. 434–438, 1999.

FRITZEN-FREIRE, C. B.; PRUDÊNCIO, E. S.; PINTO, S. S.; et al. Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, n. 1, p. 50–55, 2013.

GARCIA, E. F. **Elaboração e caracterização de Queijo de coalho de leite de cabra adicionado de bactérias lácticas.** 2011. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, M. E. G. DE; QUEIROGA, R. C. R. E.; MACHADO, T. A.; SOUZA, E. L. Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 8, p. 947–956, 2012.

GARCIA, R. V.; TRAVASSOS, A. E. R. Leite fermentado caprino sabor umbu : elaboração e aceitabilidade. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 134–139, 2012.

GOMES, A M.; MALCATA, F. X. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. **Journal of dairy science**, v. 81, n. 6, p. 1492–1507, 1998.

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

GOMES, J. J. L.; DUARTE, A. M.; BATISTA, A. S. M.; et al. Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 18–24, 2013.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.-R. Gut flora in health and disease. **The Lancet**, v. 360, n. 9356, p. 512–519, 2003.

GUIMARÃES, D. Utilização de Soro de Queijo na Elaboração de Biscoitos Doces. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 13, n. 2, p. 271–285, 2011.

GURGEL, C.S.S.; MACIEL, J.F.; FARIAS, L.R.G. Aumento do teor de cálcio em pães adicionados de soro de leite e carbonato de cálcio. **Alimentos e Nutrição**, v.21, n.4, p.563-571, 2010.

HAENLEIN, G. F. W. About the evolution of goat and sheep milk production. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 3-6, 2007.

HAENLEIN, G.F.W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v.51, n.1, p.155-163, 2004.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. **Rapid preparation of fatty acids methyl esters**. London: Laboratory Practice. 22, 475-476, 1986.

HAUSCHILD, F. A. D.; CAPITANI, C.; FRIEDRICH, C. J.; LEHN, D. N.; SOUZA, C. F. V. Avaliação de diferentes ácidos na coagulação das proteínas do soro de queijo no processo de fabricação da ricota. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 8, n. 1, p. 1165–1176, 2014.

HAVENAAR, R.; BRINK, T.; HUIS IN'T VELDT, J.H.J In: FULLER, R., ed. **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman and Hall, p. 209-224, 1992.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão – IBGE. **Produção Pecuária Municipal – 2013**, Rio de Janeiro, v. 41, p.1-108, 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6^o ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

KEMPKA, A.P.; KRÜGER, R. L.; VALDUGAI, E.; DI LUCCIO, M.; TREICHEI, H.; CANSIAN, R.; OLIVEIRA, D. Formulação de bebida láctea fermentada sabor pêssego utilizando substratos alternativos e cultura probiótica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, supl., p. 170-177, 2008.

KLAENHAMMER, T. R.; KULLEN, M. J. Selection and design of probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, n. 1-2, p. 45–57, 1999.

LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; XAUS, J. The balance between caseins and whey proteins in cow's milk determines its allergenicity. **Journal of dairy science**, v. 88, n. 5, p. 1654–1660, 2005.

LAURENT, C.; BESANÇON, P.; CAPORICCIO, B. Flavonoids from a grape seed extract interact with digestive secretions and intestinal cells as assessed in an in vitro digestion/caco-2 cell culture model. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1704–1712, 2007.

LEE, Y. K.; SALMINEN, S. **Handbook of Probiotics and Prebiotics**. 2^o ed. NEW JERSEY: WILEY, 2009.

LI, R.; CARPENTER, J. A.; CHENEY, R. Sensory and instrumental properties of smoked sausage made with Mechanically Separated Poultry (MSP) meat and wheat protein. **Journal of Food Science**, v. 63, n. 5, 1998.

LIMA, J. R.; LOCATELLI, G. O.; FINKLER, L.; LUNA-FINKLER, C. L. Incorporação de *Lactobacillus casei* microencapsulado em queijo tipo coalho. **Revista Ciência & Saúde**, v. 7, n. 1, p. 27–34, 2014.

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.

MADALOZZO, E. S.; SAUER, E.; NAGATA, N. Determination of fat, protein and moisture in ricotta cheese by near infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1–7, 2013.

MADUREIRA, A. R. M. F. **Use of Whey Protein Matrices as Food Vectors for Probiotic Bacteria**. 2010. 285p. Tese (Doutorado em Biotecnologia – Ciência dos Alimentos e Engenharia). Universidade Católica Portuguesa, Porto, Portugal.

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 465–470, 2011.

MADUREIRA, A. R.; PEREIRA, C. I.; TRUSZKOWSKA, K.; et al. Survival of probiotic bacteria in a whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 6-9, p. 921–927, 2005.

MAIA, S. R.; FERREIRA, A. C.; ABREU, L. R. DE. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em Ricota. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 2, p. 358–365, 2004.

MAINVILLE, I.; ARCAND, Y.; FARNWORTH, E.R. A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, p. 287–296, 2005.

MARTINS, J. T.; CERQUEIRA, M. A.; SOUZA, B. W. S.; CARMO AVIDES, M. D. O.; VICENTE, A. A. Shelf life extension of ricotta cheese using coatings of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against

listeria monocytogenes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 1884–1891, 2010.

MAZOCHI, V.; MATOS JÚNIOR, F. E.; VAL, C. H.; DINIZ, D. N.; RESENDE, A. F. Iogurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 6, p. 1484–1490, 2010.

MEDINA, M.; NUNEZ, M. Cheeses made from ewes' and goats' milk. In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P. (Eds.), **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**, v. 2, 3ed. Elsevier, Amsterdam, p. 279–299, 2004.

MILANI, F. X.; WENDORFF, W. L. Goat and sheep milk products in the United States (USA). **Small Ruminant Research**, v. 101, n. 1-3, p. 134–139, 2011.

MINERVINI, F.; DI CAGNO, R.; LATTANZI, A.; DE ANGELIS, M.; ANTONIELLI, L.; CARDINALI, G.; CAPPELLE, S.; GOBBETTI, M. Lactic acid bacterium and yeast microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1251–1264, 2012.

MIZUBUTI, I. Y. Soro de leite: composição, processamento e utilização na alimentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 15, n. 1, p. 80–94, 1994.

MOREIRA, R. W. M.; MADRONA, G. S.; BRANCO, I. G.; BERGAMASCO, R.; PEREIRA, N. C. Avaliação sensorial e reológica de uma bebida achocolatada elaborada a partir de extrato hidrossolúvel de soja e soro de queijo. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 32, n. 4, p. 435–438, 2010.

OLIVEIRA, M. E. G. **Desenvolvimento de formulações de bebidas lácteas fermentadas a partir de soro e leite de cabra**. 2009. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

OLIVEIRA, M. E. G. **Queijo coalho caprino adicionado de bactérias lácticas: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial probiótico**. 2013. 162p. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, C. E. V.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E.; MADUREIRA, A. R. M. F.; CONCEIÇÃO, M. L.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**, v. 64, p. 241–247, 2014. doi:10.1016/j.foodres.2014.06.032

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 6, p. 370 – 379, 2012.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** [online], v.38, n.1, p. 1-21, 2002.

OLIVO, R.; GUARNIERI, P. D.; SHIMOKOMAKI, M. Fatores que influenciam na cor de filés de peito de frango. **Revista Nacional da Carne**, v. 289, p. 44-49, 2001.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* or *Bifidobacterium* spp. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 8, p. 937–945, 2007a.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 5, p. 446–456, 2006.

ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N. P. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium* sp. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 1, p. 67–78, 2007b.

ORDÓÑEZ, J. A. Nata, manteiga e outros derivados lácteos. In: **Tecnologia de alimentos. Alimentos de origem animal** - vol. 2. Editora Artmed, Porto Alegre – RS, p. 122, 2005.

PARK, Y. W.; DRAKE, M. A. Effect of 3 months frozen-storage on organic acid contents and sensory properties, and their correlations in soft goat milk cheese. **Small Ruminant Research**, v. 58, n. 3, p. 291–298, 2005.

PARK, Y. W.; JUAREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1-2, p. 88-113. 2007.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367/368, p. 19–25, 2009.

PELEGRINI, D. H.; CARRASQUEIRA, R. L. Aproveitamento do soro do leite no enriquecimento nutricional de bebidas. **Brazilian Journal of Food Technology**. VII BMCFB, dez. 2008.

PELLEGRINI, L. G.; GUSSO, A. P.; CASSNEGO, D. B.; MATTANNA, P.; SILVA, S. V. Características físico-químicas e cor instrumental de Ricota Fresca de leite de cabra. **Synergismus scyentifica UTFPR**, v.7, n. 1, 2012.

PEREIRA, A. J. G.; PÓVOA, M. E. B.; CRUZ, G. R. Influência da velocidade de aquecimento sobre a qualidade da ricota. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 43, n. 257, p. 11–14, 1988.

PEREIRA, L. C. **Influência da associação de culturas probióticas sobre as características de queijo petit-suisse**, 2007. 82p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo.

PEREIRA, R.A.G.; QUEIROGA, R.C.R.E.; VIANNA, R.P.T.; OLIVEIRA, M.E.G. Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 64, 2, 205-211, 2005.

PÉREZ, S.; MATTA, E.; OSELLA, C.; LA TORRE, M. DE; SÁNCHEZ, H. D. Effect of soy flour and whey protein concentrate on cookie color. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 120–125, 2013.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 293-300, 2004.

PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Estudos descritivos e tecnológicos sobre Requeijão: caracterização e conservação. **Boletim de Biotecnologia da Sociedade Portuguesa de Biotecnologia**, v. 62, p. 19 – 26, 1999.

PINTADO, M. M. E.; MACEDO, A. C.; MALCATA, F. X. Review: Technology, Chemistry and Microbiology of Whey Cheeses. **Food Science and Technology International**, v. 7, n. 2, p. 105–116, 2001.

POLL, H. **Anuário brasileiro da pecuária 2013** . Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 2013. 128 p.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMAN-CALDENTY, K. M.; et al. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 1, p. 3–11, 2002.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P.; GUILLET, I.; CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: An update. **Small Ruminant Research**. v.79, n.1, p.57-72, 2008.

RIBEIRO, A. C. et al. Controle Microbiológico da Vida de Prateleira de Ricota Cremosa. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 1, p. 113-117, 2005.

RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO, S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 225–233, 2010.

RIBEIRO, K. M.; PEREIRA, L. C.; HOCH, C.; SOUZA, B. B. S.; SAAD, S. M. I. Comportamento de cepas distintas de *Lactobacillus acidophilus* em queijo *petit-suisse*. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 62, n. 2, p. 347–354, 2012.

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

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição: Introdução à Bromatologia**. 3. ed. Porto Alegre: Artemed; 2002.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of dairy science**, v. 84, n. 2, p. 319–331, 2001.

SANDERS, M.E. Probiotics: considerations for human health. **Nutrition Reviews**, v.61, n.3, p.91-99, 2003.

SANDERS, M. E.; HUIS, V.J. Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v.76, n.1-4, p.293-315, 1999.

SANTOS, B.M. **Elaboração e Caracterização de Queijo de Leite de Cabra “Tipo coalho” com inclusão de Leite de Vaca**. 2011. 110p. Dissertação (Mestrado em Nutrição). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba.

SANTOS, K. O. DOS; EGITO, A. S. DO; BOMFIM, M. A. D.; BENEVIDES, S. D. Produção de queijos probióticos para agregação de valor ao leite caprino. **EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS**, 2008. SOBRAL: EMBRAPA.

SECCHI, N.; STARA, G.; ANEDDA, R.; et al. Effectiveness of sweet ovine whey powder in increasing the shelf life of Amaretti cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1073–1078, 2011.

SHEEHAN, J. J.; PATEL, A. D.; DRAKE, M. A.; MCSWEENEY, P. L. H. Effect of partial or total substitution of bovine for caprine milk on the compositional, volatile, non-volatile and sensory characteristics of semi-hard cheeses. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 9, p. 498–509, 2009.

SILANIKOVE, N.; LEITNER, G.; MERIN, U.; PROSSER, C. G. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 110-124, 2010.

SILVA, C. A. DA; GOMES, J. P.; SILVA, F. L. H. DA; MELO, E. S. R. L. DE; CALDAS, M. C. S. Utilização de soro de leite na elaboração de pães: estudo da qualidade sensorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. Especial, p. 355–362, 2011.

SILVA, H. W. DA; GUIMARÃES, C. R. B.; OLIVEIRA, T. S. Aspectos da exploração da caprinocultura leiteira no Brasil. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 2, n. 2, p. 121–125, 2012.

SILVANO, M.F.; VARELA, M.S.; PALACIO, M.A.; RUFFINENGO, S.; YAMUL, D.K. Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region. **Food Chemistry**, v. 152, p. 500-507, 2014. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.011.

SILVEIRA, E. O.; LOPES NETO, J. H.; SILVA, L. A.; RAPOSO, A. E. S.; MAGNANI, M.; CARDARELLI, H. R. The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 445–451, 2015.

SKEIE, S.B. Quality aspects of goat milk for cheese production in Norway: A review. **Small Ruminant Research**, v.122, n. 1-3, 10–17, 2014.

SOUZA, C. H. B.; SAAD, S. M. I. Viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physico-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 633–640, 2009.

SOUZA, E.L.; COSTA, A.C.V.; GARCIA, E.F.; OLIVEIRA, M.E.G., SOUZA, W.H.; QUEIROGA, R.C.R.E. Qualidade do queijo de leite de cabra tipo Coalho condimentado com cumaru (*Amburana cearensis* A.C. Smith). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 3, 220-225, 2011.

Stone, H. S., & Sidel, J. L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic Press. 1993

TALWALKAR, A.; MILLER, C. W.; KAILASAPATHY, K.; NGUYEN, M. H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 39, n.6, p. 605-611, 2004.

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589–595, 2006.

TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, n. 1, p. 225–241, 2014.

USDA (United States Department of Agriculture). **How to Buy Cheese**. 1995. Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=STELDEV3002488> Acessado em: 21 de junho de 2015.

USDA (United States Department of Agriculture). **USDA Specifications for Ricotta Cheeses**. 1981. Disponível em: <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=STELDEV3004560> Acessado em: 21 de junho de 2015.

VALDUGA, E.; PAVIANI, L. C.; MAZUR, S. P.; FINZER, J. R. D. Aplicação do soro de leite em pó na panificação. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n.4, p. 393–400, 2006.

VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. Probiotics: an update. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 1, p. 6–21, 2015.

VILELA, V. L. R.; SOLANO, G. B.; ARAÚJO, M. M.; SOUSA, R. V. R.; SILVA, W. A.; FEITOSA, T. F.; ATHAYDE, A. C. R. Ensaios preliminares para validação do método Famacha © em condições de semi-árido paraibano. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 17, n. 1, p. 154–157, 2008.

WANDER, A. E.; MARTINS, E. C. Viabilidade econômica da caprinocultura leiteira. **Anuário Brasileiro de Caprinos e Ovinos**, 140-145, 2008. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/533519> Acessado em 21 de abril de 2015.

WILDMAN, R. E. C.; KELLEY, M. Nutraceuticals and functional foods. In: Wildman, R. E. C. (editor). **Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods**, 2ª Ed., Boca Raton, FL: CRC Press. p 1-22.

ZAVAREZE, E. D. R.; MORAES, K.; SALAS-MELLADO, M. D. L. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 100–105, 2010.

ZENG, S. S.; SORYAL, K.; FEKADU, B.; BAH, B.; POPHAM, T. Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. **Small Ruminant Research**, v. 69, n. 1-3, p. 180–186, 2007.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão são apresentados sob a forma de um artigo científico e um pedido de patente de invenção. O artigo científico intitulado **Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions** foi elaborado segundo as normas do periódico *Food Research International* (ISSN: 0963-9969), sua confirmação de submissão encontra-se no **ANEXO B** e a carta de aceitação do artigo para publicação encontra-se no **ANEXO C**. O pedido de patente de invenção intitulado **“MÉTODO DE PRODUÇÃO DE QUEIJO CAPRINO TIPO RICOTA PROBIÓTICO”** foi elaborado e submetido segundo as normas da Agência UFPB de Inovação Tecnológica – Núcleo de Inovação Tecnológica/Rede NIT-NE e INPI – Instituto Nacional da Propriedade Intelectual no dia 11 de junho de 2015, estando, portanto, em pleno andamento e sob total sigilo de informações como demonstra a Declaração expedida pela Agência no **ANEXO D** e a Relação de Processos Cadastrados no INPI sob o número definitivo **BR102015016223-5** no **ANEXO E**.

ARTIGO

Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions

Running title: Probiotics in goat ricotta

Quênia Gramile Silva Meira¹, Marciane Magnani², Francisco Cesino de Medeiros Júnior³, Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga³, Marta Suely Madruga⁴, Beatriz Gullón⁵, Ana Maria Pereira Gomes⁵, Maria Manuela Estevez Pintado⁵, Evandro Leite de Souza¹

¹*Laboratory of Food Microbiology, Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil*

²*Laboratory of Microbial Process in Foods, Department of Food Engineering, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil*

³*Laboratory of Food Quality, Department of Nutrition, Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil*

⁴*Laboratory of Chemistry of Foods, Department of Food Engineering, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil*

⁵*College of Biotechnology, Catholic University of Porto, Porto, Portugal*

* Corresponding author: Evandro Leite de Souza
Universidade Federal da Paraíba

Centro de Ciências da Saúde

Departamento de Nutrição

Campus I, 58051-900, Cidade Universitária, João Pessoa, Paraíba, Brasil.

E-mail: evandroleitesouza@ccs.ufpb.br

Telephone number: + 55 83 3216 7807; Fax number: + 55 83 3216 7094

ABSTRACT

This study evaluated the effects of incorporating the probiotics *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 (*B. lactis*) or *Lactobacillus acidophilus* La-05 (*L. acidophilus*) into goat ricotta on the technological, physicochemical, physical and sensory parameters of this product during refrigerated storage, as well as the protective effects of the goat ricotta on the survival of the tested probiotics during exposure to simulated gastrointestinal conditions. Incorporating the tested probiotics did not affect the yield or syneresis of the obtained goat ricotta. The counts of *L. acidophilus* and *B. lactis* during the chosen storage period were approximately 6 log CFU/g. The ricotta samples containing a probiotic strain presented smaller and greater amounts of lactose and lactic acid, respectively, and exhibited greater hardness and lower brightness after storage compared with the samples lacking a probiotic. No differences were observed in the fatty acid profiles of the goat ricotta containing or not containing a probiotic. All of the ricotta samples were described as a soft cheese with a homogeneous texture; however, the goat ricotta cheeses containing *L. acidophilus* or *B. lactis* were described as having a more acidic flavor. At the end of a challenge using experimental human digestive conditions, the counts of each of the tested probiotic strains were approximately 6 log

CFU/g if it had been incorporated into goat ricotta. These results demonstrated the feasibility of incorporating *L. acidophilus* or *B. lactis* into goat ricotta because these probiotics did not negatively affect the quality characteristics of this product and suggested that goat ricotta is an efficacious food matrix for maintaining the viability of these probiotics during storage and under the stressful conditions imposed by the human gastrointestinal tract.

Keywords: goat products, fresh cheese, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., probiotics

1. Introduction

The consumption of goat dairy products has increased worldwide, with a consequent increase in the demand for goat milk in the major producing countries (Queiroga et al., 2013). The flavor and taste of goat dairy products are mainly due to the high content of short- and medium-chain fatty acids (such as caproic (C6:0), caprylic (C8:0) and capric (C10:0) fatty acids) in the fat contained in goat milk, which is a commonly cited obstacle to their widespread acceptance (Prandini, Sigolo, & Piva, 2011; Raynal-Ljutovac, Le Pape, Gaborit, & Barrucand, 2011). The lower content of “goat” fatty acids in the whey obtained during the production of goat cheese could increase the acceptance of goat whey-based products by consumers (Borba, Silva, Madruga, Queiroga, Souza, & Magnani, 2013).

The interest in the development of new products using goat milk whey is also associated with the high nutritional value of this by-product. This use provides an environmental friendly destination for the whey generated during goat cheese manufacture, which is a large source of environmental pollution when improperly disposed (Silveira, Lopes-Neto, Silva, Raposo, Magnani, & Cardarelli, 2014). Moreover, whey-based dairy products have been shown to be a suitable substrate for harboring, protecting and delivering probiotic bacteria (Castro et al., 2013).

Probiotics are viable microorganisms that are beneficial to the host when administered in appropriate quantities (FAO/WHO, 2002). Probiotics can protect human hosts from infections, primarily those that occur on the colonized mucosal surfaces of the gastrointestinal tract (Sanders, 2003; [Vandenplas, Huys, & Daube, 2015](#)). Researchers have reported dairy products (e.g., yogurt, beverages and cheese) to be suitable vehicles of probiotics that provide health benefits to the consumer (Saarela, Lähteenmäki, Crittenden, Salminen, & Mattila-Sandholm, 2002; [Boylston, Vinderola, Ghoddusi, & Reinheimer, 2004](#)). Cheeses are particularly interesting in this regard due to their solid consistency and high buffering capacity, which help maintain the viability of probiotics not only throughout the product shelf life but also during their passage through the gastrointestinal tract after consumption (Coman, Cecchini, Verdenelli, Silvi, Orpianesi, & Cresci, 2012; Gregor, 2015). However, few studies have assessed the capacity of goat cheese to deliver probiotics either by monitoring the probiotic survival rate during the shelf-life period of the tested products or when such products are exposed to gastrointestinal conditions (Oliveira et al., 2014;

Oliveira, Garcia, Queiroga, & Souza, 2012; Garcia, Oliveira, Queiroga, Machado, & Souza, 2012).

In recent years, the growing public awareness of diet-related health issues has fueled the demand for foods with distinct health-promoting effects, such as food-related probiotics (Silveira et al., 2014; Oliveira et al., 2014). Probiotic products must have a microbial count of ≥ 6 log counting forming units per milliliters or gram until the end of their shelf-life period to produce their claimed benefits (Roy, 2005; Garcia et al., [2012](#)). However, several factors can affect the viability of probiotic cells in dairy products during their storage, such as the nutrient content, acidity, pH, Aw and secreted inhibitory metabolites (e.g., organic acids and bacteriocins) (Cruz, Buriti, Souza, Faria, & Saad, 2009; Jankovic, Sybesma, Phothirath, Ananta, & Mercenier, 2010). Ricotta cheese is a soft cheese typically consumed in Italy and in Ibero-American countries (Borba et al., 2014). This product is defined as an unripened, creamy dairy product that is generally obtained via heat-induced coagulation and acid-precipitation of whey proteins from cow, sheep or goat milk (Buriti, Cardarelli, Filisetti, & Saad, 2007). The high moisture content, low salt content and initial pH above 6.0 (Davies, Bevis, & Delves-Broughton, 1997) make ricotta cheese a favorable environment for the survival of probiotic bacteria. Among the well-recognized probiotic bacteria, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (*B. lactis*) and *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) have been widely used as active ingredients of functional dairy products (González-Sánchez, Azaola, Gutiérrez-López, & Hernández-Sánchez, 2010). When added to bovine or caprine fermented milks, yogurts, dairy beverages (Silveira et al., 2014; Ranadheera,

Evans, Adams & Baines, 2013; Vinderola, & Reinheimer, 1999) or ewe cheese (Albenzio, Santillo, Caroprese, Braghieri, Sevi, & Napolitano, 2013), *B. lactis* and *L. acidophilus* showed satisfactory viability and had no undesirable effects on the nutritional and sensory aspects of such products during their storage.

Considering these aspects, the aims of this study were as follows: 1) to manufacture goat ricotta cheese containing the well-known probiotic strains *B. lactis* (*B. lactis* Bb12) or *L. acidophilus* (*L. acidophilus* La-05) (Albenzio et al., 2013; Sanders, & Veld, 1999); 2) to assess the survival of each of the test probiotics when incorporated into the manufactured goat ricotta cheeses during their refrigerated storage; 3) to evaluate the effects of the added probiotic strain on the technological, physicochemical, physical and sensory parameters of the obtained cheeses during their refrigerated storage; and 4) to assess the protective effects of goat ricotta on the survival of the tested probiotics during exposure to simulated human gastrointestinal conditions.

2 Materials and methods

2.1 Raw materials

Goat whey was generated during the manufacture of coalho, a product typical of northeastern Brazil, which is a semi-hard cheese with a medium moisture content. This coalho cheese was produced using enzymatic coagulation according to a previously described procedure (Garcia et al., 2012).

The goat milk used to manufacture the coalho cheese was obtained from Alpine breed goats and was pasteurized at 65 °C for 30 min.

2.2 Bacterial strains and growth conditions

Lyophilized cultures of *L. acidophilus* (La-05; Chr. Hansen SA, Valinhos, São Paulo) and *B. lactis* (Bb-12; Chr. Hansen SA, Valinhos, São Paulo) were grown for 24 h at 37 °C in de Man, Rogosa, and Sharpe (MRS) broth (Oxoid SpA, Milan, Italy) and in MRS + cysteine (0.05 g /100 mL, Sigma-Aldrich, Milan, Italy) (cMRS), respectively. After this period, the probiotic cultures were heated in a water bath at 65 °C for 30 min to induce heat adaptation, after which six successive heat treatments were performed (Minervini et al., 2012). The cell cultures (30 mL) were centrifuged ($1,200 \times g$ for 10 min) and the supernatants were discarded, and then 30 mL of sterile distilled water was added to each pellet obtained. The harvested cells were plated on selective growth medium to test their recovery after heat treatment. The counts of the *L. acidophilus* and *B. lactis* cells ranged from 8.5 and 8.0 log of counting forming units per milliliter (log cfu/mL).

2.3 Production of goat ricotta

Three different types of goat ricotta cheese were produced, as follows: R1 – goat ricotta without probiotic cells; R2 – goat ricotta containing *L. acidophilus* La-5 cells; and R3 - goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12 cells. The

cheeses were prepared using the manufacturing procedures shown in Flow Chart 1.

Samples of the three different goat ricotta cheeses were used for physicochemical, nutritional microbiological and sensory analyses. The ricotta cheese samples were analyzed immediately (day 1) and after 7 days of storage at 7 °C because it has been suggested that commercial version of this product must have a shelf-life of 7 days of storage under refrigeration (Brazil, 2001). Each day, three ricotta cheeses prepared from the same batch were unpacked. Samples (25 g) were aseptically collected from different parts of the cheeses for microbiological analysis. For the instrumental texture profile analysis, at least 0.5 cm of the rind was discarded, and the cheese samples were carefully collected along a line passing from the center to the exterior. The rest of the cheese was grated and immediately used for physicochemical, microbiological and sensory analyses. The study of the survival of each probiotic upon exposure to simulated gastrointestinal conditions was performed using goat ricotta samples that had been stored for 1 day.

2.4 Microbiological analysis and analysis of the viability of the probiotics during storage

For the microbiological analysis of the goat ricotta samples, counts of the total and thermotolerant coliforms (using the more probable number in *Escherichi coli* broth – Himedia, India; at 45 °C for 24 h), the mesophilic bacteria (using plate count agar - Himedia, India; at 35 °C for 24 h) and coagulase-

positive *Staphylococcus* (using Baird Parker agar supplemented with 50 mL/L of egg yolk emulsion containing potassium tellurite (3.5%) - Himedia, India; at 35 °C for 24 h) were obtained and the presence of *Salmonella* spp. (using *Salmonella* differential agar – Himedia, India; at 35 °C for 24 h) and *Listeria monocytogenes* (using *Listeria* Agar Base containing selective supplement for *Listeria* II - Himedia, India; 30 °C for 24 h) was determined according to standard procedures described elsewhere (APHA, 2001).

The counts of *L. acidophilus* La-05 and *B. lactis* Bb-12 in the goat ricotta samples was determined using a viable-cell count procedure (Oliveira et al., 2014). For this procedure, at each pre-established time (1 and 7 days of storage), 25-g samples of cheese was homogenized in 225 mL of peptone water (1 mg/100 g) using a Bag Mixer 400 (Interscience Co., Saint Nom, France) and the homogenates were serially diluted ($10^2 - 10^5$) using the same diluent. Subsequently, a 1-mL aliquot of each dilution was dispensed into MRS (Himedia, India) or MRS + cysteine agar (0.05 g/100 mL Sigma-Aldrich, Milan, Italy) (cMRS agar) (for counting *L. acidophilus* and *B. lactis*, respectively) using the pour-plate inoculation method and the plates were incubated for 3 days at 37 °C under anaerobic conditions (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid) (FDA 1992). The counts were expressed as the log of the colony forming units per gram of cheese (log cfu/g).

2.5 Yield, syneresis, pH, Aw and proximate composition

The yield of each batch was expressed as the fresh weight of the goat ricotta obtained from each liter of whey used for production (g of cheese/L of whey) (Zeng, Soryal, Fekadu, Bah, & Popham, 2007). The level of syneresis (grams of whey per kilogram of cheese) was calculated as the weight of whey in grams released from each kilogram of ricotta in the package after different storage periods divided by the weight of the cheese in the same package in grams and multiplied by 100 (Borba et al., 2013). The proximate composition and the A_w value were determined according to the standard procedures (AOAC, 2005) for measuring the moisture (925.09), fat (2000.18), protein (939.02), lactose (923.09), extracted total solids (990.19) and ash (930.30) contents and the acidity (g/100 g of lactic acid) (920.124) and A_w (978.18) values. The pH values were measured using a digital potentiometer and the density (milligrams per deciliter - mg/dL) of the samples was measured at 15 °C using a thermo-lacto density meter.

2.6 Instrumental textural analysis

The textural properties of the ricotta samples were evaluated using a TA-XT2 Texture Analyzer TM (Stable Micro Systems, Godalming, England), using a two-bite compression of cylindrical samples (25-mm-diameter acrylic cylindrical probe (P25), a strain rate programmed to a speed of 1 mm/s and maximum penetration depth of 10 mm). The hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, chewiness, gumminess were measured in three replicates of each sample (Garcia et al., 2012).

2.7 Color analysis

A CR-300 colorimeter® (Minolta Co., Osaka, Japan) was used for the instrumental color evaluation. The CIE Lab color scale ($L^*a^*b^*$) was applied using D65 illumination (standard daylight) at a 10 ° angle. The L^* , a^* and b^* parameters were determined according to the International Commission on Illumination (CIE, 1996). Using reference plates, the apparatus was calibrated in the reflectance mode with specular reflection excluded. A 10-mm quartz cuvette was used for the readings. The measurements were performed in triplicate using the inner section of the ricotta samples immediately after their unpacking (Sant'Ana et al., 2013).

2.8 Determination of the fatty acids profile

After extracting the total lipids (Folch, Less & Stanley, 1957), followed by saponification and esterification (Hartman & Lago, 1986), the fatty acid profile of the ricotta samples was determined using a Varian 430-GC gas-chromatograph equipped with a flame ionization detector and a fused silica capillary column (Varian CP WAX 52 CB) with the dimensions of 60 m x 0.25 mm x 0.25-mm thick film. Helium was used as the carrier gas, at a flow rate of 1 mL/min. The oven temperature was initially 100 °C, which was increased at 2.5 °C/min to a final temperature of 240 °C, which was held for 20 min, for a total time of 76 min. The injector and detector temperatures were maintained at 250 °C and 260 °C, respectively. A 1.0 - μ L aliquot of the esterified extract was injected into a split/*splitless* type of injector at 250 °C, and chromatograms were recorded using Galaxie Chromatography Data System software. The fatty acids were

identified by comparing the methyl ester retention times with those of the standards from a Supelco ME19-Kit (Fatty Acid Methyl Esters C6-C24). The fatty acid contents were quantified using area normalization of the methyl ester peaks and were expressed as the percent (%) area.

2.9 Determination of the sugar profile

Ricotta samples (5 g) were precipitated by adding 20.0 g of 1.0 M perchloric acid and letting the preparation stand overnight at 4 °C. The supernatant (1 mL) was cleared by centrifugation (4000 rpm, 15 min, 4 °C), and this material was passed through a 0.45-mm membrane filter and subjected to HPLC analysis (Freitas, Pintado, Pintado, & Malcata, 1999). The sugar content was determined using a 1100 series Hewlett-Packard chromatograph equipped with a refractive index detector, operated at 50 °C, and a 300 × 7.8 mm CARBOsep CHO 682 column (Transgenomic, Glasgow, U.K.), operated at 80 °C. Distilled water was used as the mobile phase (flow rate of 0.4 mL/min). The HPLC sample peaks were identified by comparing their retention times with those of sugars standards (Sigma Aldrich®), namely lactose, galactose and glucose. Duplicate injections were performed, and the average peak areas were used for quantification.

2.10 Determination of the organic acids profile

Ricotta samples (5 g) were precipitated by adding 20.0 g of 1.0 M perchloric acid and letting the preparation stand overnight at 4 °C. The

supernatant (1 mL) was cleared by centrifugation (4000 rpm, 15 min, 4 °C), and this material was passed through a 0.45-mm membrane filter and subjected to HPLC analysis (Freitas, Pintado, Pintado, & Malcata, 1999) to directly determine the organic acids content using an Agilent 1200 series HPLC instrument equipped with a refractive index (RI) detector (Agilent, Waldbronn, Germany) and operated at 50 °C. The other analytic conditions were as follows: an Aminex HPX-87H column (BioRad, Hercules, CA, USA); mobile phase, 0.003 M H₂SO₄; flow rate, 0.6 mL/min. The HPLC sample peaks were identified by comparing their retention times with those of organic acid standards (Sigma Aldrich®), namely acetic, formic and lactic. Duplicate injections were performed, and the average peak areas were used for quantification.

2.11 Sensory Analysis

For the sensory analysis, the ricotta samples were characterized using the quantitative descriptive analysis (QDA) method (Stone & Sidel, 1993). The panel consisted of 10 panelists who were trained in pre-selection, the definitions of the descriptive terminology and descriptive analysis. The panelists participated in 10 training sessions (each session lasting one hour) to develop their descriptive terminology and become familiar with the reference materials. The attributes evaluated included the appearance (smooth, whitish and creamy), aroma (goat milk and butter), flavor (goat milk, butter, acidic and salty) and texture (soft and homogenous). An unstructured scale ranging from 0 (poor) to 9 (strong), which anchored the minimal and the maximal values, was used to assess the intensity of each described attribute (Borba et al., 2013).

The analyses were performed in individual booths with controlled temperature and lighting, and the samples were served at the refrigeration temperature in disposable dishes coded with three random digits and accompanied by mineral water and crackers.

2.12. Effects of goat ricotta on the viability of probiotic bacteria exposed to simulated gastrointestinal conditions

Each probiotic strain was studied separately; for each strain, a set of three ricotta samples labeled S1, S2 and S3 were produced. S1 was a ricotta sample that was inoculated with the tested probiotic strain but was not exposed to the simulated gastrointestinal conditions, S2 was a ricotta sample that was not inoculated with the tested probiotic strain but was exposed to the simulated gastrointestinal conditions (and used to aseptically follow the pH adjustments during the sequential stages of the *in vitro* digestion); and S3 was a ricotta sample that was inoculated with the tested probiotic strain and was exposed to the simulated gastrointestinal conditions. Twenty-five gram samples containing each of the probiotic strains were prepared in sterile 50-mL flasks. The simulated gastrointestinal pathway used in this study, including the compounds utilized, their concentrations, the exposure period and the intensities of stirring at all steps (stirring was used to somewhat simulate peristaltic movements) is described in Table 1. The simulation process was continuous, so that the overall working volume increased (as happens during actual digestion) from that of the initial 25-g sample of ricotta (Madureira, Amorim, Gomes, Pintado, & Malcata, 2011). The number of viable cells referred to the volume at each stage

so these values could be compared with the values for the R1 counterparts to compensate for the effect of dilution. All of the enzyme solutions were freshly prepared and were filter-sterilized using a 0.22- μ m membrane filter (Millipore, Billerica, MA, USA) prior to use; after sterilization, all of the solutions were maintained in an ice bath during the entire period of simulation prior to their gradual addition (when appropriate). After exposure to each artificial digestion condition, a 1-mL aliquot of the system in each gastrointestinal compartment was aseptically collected and then was serially diluted using sterile peptone water [0.1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, USA)]. A 1-mL aliquot of each dilution was dispensed into cMRS or MRS agar (Himedia, India) for counting *B. lactis* and *L. acidophilus* cells, respectively, using the pour-plate inoculation method, followed by incubation for 3 days at 37 °C under anaerobic conditions (Anaerobic System Anaerogen, Oxoid) (FDA 1992). The counts were expressed as the log of the colony forming units per gram of ricotta (log cfu/g).

2.13 Statistical analysis

All analyses were conducted on three different occasions (repetitions) and the samples were assessed in triplicate. Initially, the data were assessed via descriptive analysis (means and standard deviation) to obtain the description order of the variables. Subsequently, inferential analyses were performed to determine significant differences ($p \leq 0.05$) between the results obtained from different treatments (ANOVA followed by post hoc Tukey test or student t test). Principal Component Analysis (PCA) was conducted due to its ability to provide accurate graphical representations (that best integrated all of the significant

data) of objects or variables for studies of their proximity (Silva, Minim, Simiqueli, Gomide, & Minim, 2010). For this, the SigmaStat 3.1 software was used.

3. Results and discussion

3.1 Microbiological analysis of ricotta samples and viability of the probiotics during storage

At the chosen storage period (1 and 7 days), all of the goat ricotta samples had < 0.3 NMP/g of total and thermotolerant coliforms and lacked coagulase-positive *Staphylococcus*, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*. These results indicated that the goat ricotta produced had a satisfactory microbiological quality as determined by current Brazilian legislation (Brasil, 2001). The counts of mesophilic bacteria in all of the ricotta samples were less than 6.0 log CFU/g at the end of the experimental storage period, which was in agreement with the European Union Directives (92/46 and 94/71 EU Directives) for mesophilic bacterial counts in goat cheeses.

The counts of *L. acidophilus* and *B. lactis* at 1 and 7 days of storage were approximately 6 log CFU/g in R2 (day 1: 6.01 ± 0.6 log cfu/g; day 7: 6.29 ± 0.9 log cfu/g) and R3 (day 1: 6.12 ± 0.4 log cfu/g; day 7: 6.31 ± 0.6 log cfu/g), although the initial counts in all of the ricotta samples were slightly higher (± 0.3 log cfu/g) than those at the end of the storage period. Previous studies reported similar counts for the same probiotic strains tested in this study during the

refrigerated storage of goat dairy products (e.g., dairy beverages and cheese) (Silveira et al., 2015; Oliveira et al., 2012; Garcia et al., 2012), as well as for *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus thermophilus* in bovine fresh white cheese (Yerlikaya & Ozer, 2014). Maintaining viable counts of approximately 6 cfu/g during a 7-day storage period is noteworthy because this is the minimal count (6 cfu/g) of probiotics that must be present in food to provide their potential benefits to the host (Plessas, Bosnea, Alexopoulos, & Bezirtzoglou, 2012; Vandenplas, Huys, & Daube, 2015).

3.2 Yield, syneresis, pH, Aw and proximate composition

Incorporating *L. acidophilus* (R2) or *B. lactis* (R3) in goat ricotta did not affect the yield of the obtained samples. The yields of the goat ricotta cheeses that did or did not contain the tested probiotics were similar ($p > 0.05$), ranging from 4.26 g/100 g to 4.51 g/100 g (Table 2). A previous study reported a higher yield (13 - 14%) for goat semi-hard cheese containing *Lactobacillus paracasei* compared with the same cheese containing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and/or the cheese containing *L. acidophilus* La-05 (Oliveira et al., 2012). However, these investigators used a starter culture (containing *L. paracasei*) to manufacture cheese that was not supplemented with *L. acidophilus* and thus the observed yield was most likely due to specific characteristics of the product that were primarily related to the technological qualities of the starter culture used. It is well known that the curds obtained via acid precipitation of goat milk (as applied in our study) are fragile, resulting in a low yield of the cheeses obtained using it (Raynal-Ljutovac et al., 2011).

After 7 days of storage, the syneresis value of all the goat ricotta samples (R1, R2 and R3) had increased, most likely due to the observed decrease in the moisture content that occurred during storage (Table 2). Similar results were reported for fresh white bovine cheese (Minas Frescal) containing *L. paracasei* (Buriti, Rocha, Assis, & Saad 2005). The moisture content of all of the ricotta samples was greater than 55 g/100 g whereas the A_w value was approximately 0.99 (Table 2). These findings showed that incorporating the tested probiotic strains did not change the characteristics of goat ricotta that are required by the Brazilian legislation (Brazil, 2001), such as a high moisture content. Similarly, a previous study reported that the production of fresh white cheese containing different co-cultures comprising probiotic strains of *Lactobacillus* spp. and *S. thermophilus* did not affect negatively the cheese characteristics (Yerlikaya & Ozer, 2014).

Some investigators have suggested that the syneresis rate is directly related to the acidity level and therefore is inversely related to the pH value (Souza & Saad 2009); however, in our study, these predicted relationships were valid only for ricotta containing the probiotic strains (R2 and R3). The pH value of R2 and R3 decreased during refrigerated storage, and the acidity level of these samples increased, but not that of R1 (control without probiotics) (Table 2). The increase in the acidity of R2 and R3 was most likely due to the increase in the contents of organic acids caused by the metabolism of the probiotics added to these cheeses (Salminen, Wight, & Ouwenhand, 2004). The decrease in the pH values and consequent increase in the acidity level during refrigerated storage has been reported in goat-milk beverages containing *B. lactis* (BLC1)

(Silveira et al., 2014) and in Minas fresh cheese containing *L. acidophilus* (La-05) (Buriti, Rocha, & Saad, 2005).

The ash content (fixed mineral residue) of all of the ricotta samples decreased during 7 days of storage ($p \leq 0.05$) (Table 2). Despite the differences among the treatments, the decrease in ash content may be related to the loss of minerals that occurred when whey was released (syneresis) during storage (Borba et al., 2013; Sant'Ana et al., 2013).

The protein content of goat ricotta containing or not containing a probiotic decreased ($p \leq 0.05$) during 7 days of storage (Table 2). The decrease in the values for this parameter can be partially explained by the well-documented protein degradation that occurs during the storage of fresh cheeses, which affects the rheological characteristics of these products, primarily their texture and flavor (Sánchez-Macias et al, 2011).

The fat contents of the goat ricotta samples studied ranged from 15 to 17 g/100 g, with no differences ($p > 0.05$) among the different samples after 1 or 7 days of storage. Some researchers have stated that the high rate of heating used to manufacture ricotta could be related to the high retention of fat in this product (Pintado, Silva, & Malcata, 1996). Ricotta samples without an added probiotic had a higher content ($p \leq 0.05$) of lactose compared with that of samples containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12 (R2 and R3, respectively). However, the lactose content decreased during the storage period (Table 2) in all of the ricotta samples. The lower lactose content of goat ricotta cheeses containing *L. acidophilus* or *B. lactis* could be attributed to the sugar-

metabolism profile of the added probiotics because *L. acidophilus* and *B. lactis* are typical lactose-fermenting microorganisms (Oliveira et al., 2012).

3.3 Instrumental textural profile

The instrumental textural profile of the different goat ricotta samples characterized these products as soft in texture, non-elastic, easily deformable, cohesive and having a fragile structure. After 7 days of storage, an increased ($p \leq 0.05$) hardness was observed in all of the samples; however, the goat ricotta containing one of the tested probiotics had higher values ($p \leq 0.05$) for this parameter compared with that of the ricotta lacking a probiotic (Table 3). The increase in hardness that occurred during storage can be attributed to the increased degree of crosslinking among the proteins resulting in the formation of three-dimensional networks, which would be the consequence of the greater level of syneresis of these sample causing compression of the cheese structure and consequently placing the proteins in closer proximity (Oliveira et al., 2012; Lobato-Calleros, Reyes-Hernández, Beristain, Hornelas-Urbe, Sánchez-García, & Vernon-Carter, 2007). The difference ($p \leq 0.05$) in the hardness of the goat ricotta samples containing a probiotic compared with that of the control samples could be related to changes in the cheeses promoted by bacterial metabolism. A previous study reported that Minas frescal cheese containing *L. acidophilus* became harder during storage, which was proposed to be related to the increase in acidity (Buriti, Rocha, & Saad, 2005). This finding is interesting because the increased acidity of R2 and R3 observed after 7 days of storage compared with that observed in R1 could have contributed to the increased

hardness of these samples, as well as to the greater levels of chewiness and gumminess (hardness derivative parameters) ($p \leq 0.05$). Another important factor related to the greater chewiness and gumminess of goat ricotta containing probiotics is the ability of lactobacilli and bifidobacteria to produce exopolysaccharides (EPSs). These EPSs can improve the texture and viscosity of dairy products because they modify their structures (Salazar et al., 2009).

3.4 Instrumental color profile

Studies have shown that incorporating probiotics into cheeses affected the color changes that occurred during their storage (Rohm & Jaros, 1996; Garcia et al., 2012). The brightness (L^* value) of the goat ricotta containing or not containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12 significantly differed ($p \leq 0.05$). Lower values for brightness (L^*) and higher values ($p \leq 0.05$) for green color (a^* value) were found for R2 and R3 compared with those for R1 (Table 3). The differences between the ricotta containing either of the tested probiotics and the control ricotta might be associated with their ability to synthesize certain nutrients, particularly the B vitamins (such as, riboflavin – B12 vitamin), which contribute to the production of green pigments in food (Gomes & Malcata, 1999; Salminen, Wright, & Ouwehand, 2004). The yellow color (b^* values) had increased ($p \leq 0.05$) in R2 and R3 and had decreased ($p \leq 0.05$) in R1 by the end of experimental storage period. Few studies have assessed the color changes that occur in goat ricotta, making it difficult to thoroughly discuss the data obtained in this study; nevertheless, yellowing during the storage of cheeses made using goat milk (ricotta and Ibores cheese) without probiotics

was not detected in previous studies (Pizzillo, Claps, Cifuni, Fedele, & Rubino, 2005; Delgado, González-Crespo, Cava, & Ramírez, 2012), suggesting that there is relationship between the detected color changes and the presence of the tested probiotic strains.

3.5 Fatty acid profile

The fatty acid profiles of all of goat ricotta samples included higher levels of long- and medium chain fatty acids than short-chain fatty acids, as shown by the large amounts of myristic (C14:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0) acids and monounsaturated oleic acid (C18:1n9c) (Table 4). Similar fatty acid profile was previously reported for creamy ricotta made with a mixture of whey and cow's milk and goat's milk (Borba et al., 2013), fresh goat cheese (Galiou et al., 2015) and low-ripened goat cheese (Poveda & Cabezas, 2006). The presence of higher amounts of long- and medium chain fatty acids and lower levels of short-chain fatty acids, particularly caproic, caprylic and capric acids, in obtained ricotta cheeses is interesting because the residual goat flavor and taste in goat dairy products is mainly attributed to the high content of short- and medium-chain fatty acids (Prandini, Sigolo, & Piva, 2011; Raynal-Ljutovac et al., 2011).

The fatty acid profiles of the goat ricotta samples containing or not containing one of the tested probiotics showed the presence of essential fatty acids, such as oleic (C18:1n9c) acid, which have beneficial effects on health, particularly those related to protection against cardiovascular chronic diseases.

Some studies have associated differences in fatty acids profile and essential fatty acids production in cheeses with the metabolism (mostly lipolysis activity) of autochthonous, starter or added probiotic cultures (Medina, Oliszewski, Abeijón Mukdsi, Van Nieuwenhove, & González, 2011; Lavasani & Ehsani, 2013; Taboada, Van Nieuwenhove, López, & Medina, 2015). However, the influence of probiotic strains on fatty acids profile of cheeses has been observed in ripened rather than in fresh cheeses (such as ricotta cheese) (Lavasani & Ehsani, 2013; Taboada et al., 2015).

3.6 Sugar profile and organic acid profiles

The sugar present in the highest concentration in all of the goat ricotta samples was lactose (Table 5). Ricotta samples lacking a probiotic had a higher level ($p \leq 0.05$) of lactose compared with samples containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12 (R2 and R3, respectively) after 7 days of storage. Lower levels of glucose ($p \leq 0.05$) were found in goat ricotta cheeses containing a probiotic (R2 and R3) compared with ricotta lacking a probiotic (R1) after both 1 and 7 days of storage. The lower lactose and glucose content of the ricotta containing a probiotic is likely to be associated with the conversion of these sugars into organic acids by the incorporated probiotic bacteria (Garde, Ávila, Gaya, Arias, & Nuñez, 2012). *L. acidophilus* and *B. lactis* are typical glucose/lactose-fermenting microorganisms that use these monosaccharides as substrates for lactic fermentation (Oliveira et al., 2012). The use of glucose and lactose by lactic-acid bacteria (LAB) could also be involved in their EPS production because galactose was found to be a constituent of the EPSs

produced by mesophilic and thermophilic LAB (Salminen, Wright, & Ouwehand, 2004) and the level of galactose increased in goat ricotta cheeses containing each of the tested probiotic strains during storage.

Organic acids are important flavor compounds of dairy products (typically in aged cheeses). These acids are formed in cheeses as result of bacterial metabolism and/or the degradation of milk proteins, fats, lactose and citrate during their manufacture and/or storage (Seçkin & Esmer, 2011). Acetic acid was the most abundant organic acid in all of the goat ricotta samples, which was most likely the consequence of using vinegar for the production of curds during the ricotta manufacturing process (Table 5). A significant decrease in the level of acetic acid was observed in all of the ricotta samples after 7 days of storage, whereas the level of lactic acid increased in R2 and R3 during this period ($p \leq 0.05$). These results were somewhat expected because lactic acid is the main product of sugar fermentation by the probiotics that were incorporated into the goat ricotta cheeses. Moreover, *Bifidobacterium* can produce acetic acid from glucose or lactose via an unusual pathway (Hughes, & Hoover, 1991; Gomes, & Malcata, 1999), which could explain the higher content of acetic acid ($p \leq 0.05$) in R3 compared with that in R2 after 7 days of storage.

3.7 Quantitative descriptive analysis

All of the goat ricotta samples (R1, R2 and R3) were considered cheeses with a soft and homogeneous texture (Table 6). In general, no differences in the evaluated sensory attributes ($p \geq 0.05$) were observed among the samples

containing or not containing each of the tested probiotics, with exception of acidity. Earlier studies reported similar results for bovine cheddar cheese (Gardiner, Ross, Collins, Fitzgerald & Stanton 1998; Stanton, Gardiner, Lynch, Collins, Fitzgerald, & Ross, 1998) containing probiotic *Lactobacillus* strains. After 7 days of refrigerated storage, R2 and R3 received higher scores for acidity than did R1. The higher acidity of these cheeses perceived by the panelists was most likely the result of the acid production of the incorporated probiotics via lactose fermentation, which decreased the pH values. The creamy color also increased only in R2 and R3 during the experimental storage period, which was consistent with the yellowing observed in these samples during this period (as detected using color instrumental analysis).

It is noteworthy that the "goat milk flavor" and "goat milk aroma" scores were not changed by storing any of the ricotta samples. Thus, using goat whey to manufacturing the ricotta and maintaining the goat milk content at a minimal level might have contributed to the acceptance of this product because goat whey has a low content of short- and medium-chain fatty acids, which are negatively related to the desired sensory aspects of goat dairy products (Raynal-Ljutovac et al., 2011).

After the characteristics of stored R1, R2 and R3 had been studied, PCA was used to assess the overall effect of incorporating each of the tested probiotics into goat ricotta based on the principal components that defined the ricotta samples stored for 7 days. The parameters of goat ricotta that contributed most to PC1 were the lactose content, perceived acidity, brightness, lactic acid content, homogenous texture and goat milk flavor (Figure 2A). PC1,

which explained 39.57% of the variance among the samples, clearly separated the perceived acidity, lactic acid content, homogeneous texture and brightness from the lactose content and goat milk flavor. Most of the variability related to the effects of the probiotics incorporated into goat ricotta could be explained by these variables. PC2, which explained 32.84% of the variance among the samples, was defined by the hardness, smooth appearance, whitish color, butter aroma and goat milk aroma. The variability not explained by PC1 was explained by these variables. In the case of PC2, the hardness and butter aroma together with a whitish color and smooth appearance were found to be the most important variables that separated the ricotta containing each of the added probiotics (R2 and R3) from the ricotta that did not contain a probiotic (R1) (Figure 2B).

Previous studies also reported a whitish color, perceived acidity and goat milk aroma as important characteristics of goat fresh cheese (Sant'Ana et al., 2013). Similar to the findings of our study, a butter aroma and smooth appearance better described creamy ricotta manufactured using a mixture of goat and cow whey (Borba et al., 2013). PC1 also explained the separation of the goat ricotta containing *L. acidophilus* (R2) from that containing *B. lactis* (R3) and ricotta without an added probiotic (R1) (Figure 2B), most likely due to the higher acidity perceived by the sensory panelists after this sample (R2) had been stored for 7 days (Table 7). PC2 explained the separation of either goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12 (Figure 2B) from the goat ricotta not containing a probiotic due to its lower level of hardness (Table 3) and smoother appearance (Table 6).

The angle between the vectors that represented the variables showed the correlation among the variables. Vectors with angle of 90° indicated that the variables were not correlated, whereas angles smaller or greater than 90° suggested a positive or negative correlation between the variables, respectively (Silva et al., 2010). For the goat ricotta samples studied, perceived acidity was positively correlated with the lactic acid and lactose content ($r = 0.89$), whereas a negative correlation was observed for chewiness ($r = -0.81$) and brightness ($r = -0.89$). There was also a negative correlation between gumminess and a smooth appearance ($r = -0.74$) of all of the ricotta samples, as demonstrated by the inverse relationship between the values obtained for these parameters (Tables 3 and 6).

3.8 Viability of probiotic bacteria exposed to simulated gastrointestinal conditions

The counts of viable *L. acidophilus* La-05 and *B. lactis* Bb-12 in MRS broth and in goat ricotta cheeses after these samples were exposed to the simulated gastrointestinal conditions were monitored (Table 1). *B. lactis* Bb-12 maintained higher ($p \leq 0.05$) viable counts when incorporated into goat ricotta compared with the counts observed when this strain was assayed in MRS broth at each successive step comprising the simulated digestive process. At the beginning of the *in vitro* digestive process (time zero, before exposure to the experimental mouth conditions), the counts of both of the probiotic strains incorporated into either MRS or goat ricotta were approximately 6 log CFU/g (± 0.5). The counts of the samples collected at the end of the experimental

digestive process (after the 10th digestive step) were approximately 6.5 log CFU/g and 6.0 log CFU/g for *L. acidophilus* La-05 when incorporated into MRS and into goat ricotta, respectively, and ≤ 2 CFU/g and approximately 6.3 log cfu/g for *B. lactis* Bb-12 when incorporated into MRS and into goat ricotta, respectively.

The counts of viable *L. acidophilus* La-05 that had been assayed in MRS or incorporated into goat ricotta were approximately 6 log CFU/g during exposure to each of the steps of the simulated digestion conditions, with no differences ($p > 0.05$) found between the counts at the end of the experimental digestive process (after the 10th digestive step) and before exposure to the experimental mouth conditions. After the 6th digestive step (experimental esophagus-stomach condition), the counts of *L. acidophilus* La-05 that was incorporated into goat ricotta had slightly decreased (± 0.3 log CFU/g). However, the counts of *L. acidophilus* La-05 obtained at further experimental digestive steps (duodenum and ileum) were not different ($p > 0.05$) from the counts obtained in the earliest digestive steps.

After exposure to the 1st step of the esophagus-stomach experimental condition, a decrease of > 1.5 log cfu/g was observed in the counts of *B. lactis* Bb-12 assayed in MRS broth. At the end of the esophagus-stomach experimental step (8th digestive step), the counts of *B. lactis* Bb-12 were approximately 3.0 log cfu/g, whereas after exposure to the duodenum and ileum experimental conditions, the counts were ≤ 2 log CFU/g. In contrast, the counts of *B. lactis* Bb-12 incorporated into goat ricotta and exposed to the steps comprising the esophagus-stomach and duodenum experimental conditions

were approximately 6 log cfu/g, and no reductions in the counts were observed until the last experimental digestive step (10th).

The ability to tolerate digestive stresses is one of the most important characteristics of probiotics that can be successfully incorporated into foods. The survival of the well-known probiotic strains (such as those utilized in the present study) during exposure to simulated gastrointestinal conditions was expected. However, in the present study, after the 3rd experimental digestive step (comprising the esophagus–stomach conditions), the counts of *B. lactis* Bb-12 were lower than the minimum required (6 log cfu/g) in foods at the moment of intake to ensure a favorable effect on the health of the consumer (Talwalkar, Miller, Kailasapathy, & Nguyen, 2004). However, this behavior was observed only in *B. lactis* incorporated into MRS broth as opposed in goat ricotta. This is an interesting result because researchers have reported a decrease in the counts of *B. lactis* at the earliest experimental digestive steps when this bacterium was incorporated into goat semi-hard cheese (Oliveira et al., 2014) and whey cheese (Madureira et al., 2011) using the same experimental digestive model. In this study, goat ricotta exhibited protective effects on *B. lactis* Bb-12 because throughout the successive experimental digestive steps, the viable counts were approximately 6 log cfu/g, whereas the counts of the same bacterium incorporated into MRS both and exposed to the experimental digestive conditions reached values as low as ≤ 2 log cfu/g. The protective effects were particularly obvious when the strain was exposed to the highest level of acidity (pH 2.0 – 4.6) under the esophagus–stomach conditions (4th – 8th digestion steps) and to bile salts under the duodenum (9th digestive

step) experimental condition. The buffering capacity of the goat ricotta matrix most likely resulted in an environment favorable to the viability of *B. lactis* cells. Moreover, the greater fat content and the more solid consistency of goat ricotta might also promoted (protect) the survival of *B. lactis* during exposure to the stomach and intestinal conditions (Cruz et al., 2009). When the *B. lactis* cells incorporated into ricotta samples were later exposed to bile salts, they were able to tolerate the inhibitory effects of these compounds, which can dissolve bacterial membranes.

The *L. acidophilus* La-05 cells was less affected by the stressful conditions imposed during the experimental digestion than were *B. lactis* Bb-12 cells because no differences ($p > 0.05$) were observed between the counts of viable *L. acidophilus* La-05 cells incorporated into MRS broth or goat ricotta and exposed to the simulated gastrointestinal conditions. An earlier study also found a smaller decrease in the counts of *L. acidophilus* and a greater decrease in the counts of *B. lactis* that had been incorporated into MRS broth at the end of an artificial digestion challenge (Oliveira et al., 2014). Upon initial consideration, the lack of difference between the viability of *L. acidophilus* La-05 assayed in either MRS broth or goat ricotta could be considered unimportant. However, these results are interesting because when this probiotic strain was incorporated into a goat semi-hard cheese, the survival rate decreased within 72 min of exposure to gastric juice (pH of 2.3; 6th digestion step; esophagus–stomach condition) (Oliveira et al., 2014). These findings might be attributed to the more favorable environment for bacterial survival provided by goat ricotta due to its higher A_w compared with that of goat semi-hard cheese because it

has been proposed that the ability of bacteria to tolerate low pH conditions was directly affected by the A_w of their environment (Cruz et al., 2009).

5. Conclusions

This study demonstrated that incorporating a well-known probiotic strain, either *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, into goat ricotta did not affect the yield, syneresis rate or physicochemical characteristics of the product, with the exception of the acidity level and the pH value, which resulted in a more acidic flavor, most likely associated with the concentration of lactic acid in these cheeses. Incorporating either of the tested probiotics into goat ricotta affected specific physical characteristics of the cheeses, as demonstrated by the increased yellowish color and hardness level. The results of bacterial viability study revealed that goat ricotta is a good matrix for delivering probiotic *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12 cells in counts sufficient to provide health benefits to the consumer. Moreover, when incorporated into goat ricotta, both of the tested probiotics were able to tolerate the stressful conditions imposed by the experimental digestive process, although goat ricotta exhibited a stronger protective effect on *B. lactis* Bb-12. Overall, these results showed the feasibility of incorporating *L. acidophilus* La-05 and *B. lactis* Bb-12 into goat ricotta because these probiotics did not negatively affect the general quality characteristics of this product and suggested that goat ricotta is an efficacious food matrix for maintaining the viability of these probiotics during storage and under the stressful conditions imposed by the human gastrointestinal tract.

Acknowledgements

The authors would like to thank the National Council of Technological and Scientific Development – CNPq (Brazil) and Coordination for Improvement of Higher Level Personnel – CAPES (Brazil) for financial support and for a scholarship awarded to the first author (Q.G.S. Meira).

References

- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Braghieri, A., Sevi, A., & Napolitano, F. (2013). Composition and sensory profiling of probiotic Scamorza ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 96, 2792–800.
- AOAC (2005). *Official Methods of Analysis*. 18th ed. AOAC Intl., Gaithersburg, MD.
- APHA (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. 4th ed. Washington, DC: American public health association.
- Borba, K. K. S., Silva, F. A., Madruga, M. S., Queiroga, R. C. R. E., Souza, E. L., & Magnani, M. (2013). The effect of storage on nutritional, textural and sensory characteristics of creamy ricotta made from whey as well as cow's milk and goat's milk. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 1279–1286.
- Boylston, T. D., Vinderola, C. G., Ghoddusi, H. B., & Reinheimer, J.A. (2004). Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14, 375–387.

- Brazil, M.S. Resolution RDC nº 12, January 2nd (2001). Technical bulletin of microbiological analyses in foods. Retrieved on 12 August 2014 from <http://www.anvisa.gov.br>
- Buriti, F. C. a, Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M. C. C., & Saad, S. M. I. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chemistry*, 104, 1605–1610.
- Buriti, F. C.A, Da Rocha, J. S., & Saad, S. M. I. (2005). Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15, 1279–1288.
- Buriti, F. C., Rocha, J. S., Assis, E. G., & Saad, S. M. I. (2005). Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. *LWT - Food Science and Technology*, 38, 173–180.
- Castro, W. F., Cruz, A.G., Rodrigues, D., Ghiselli, G., Oliveira, C. A. F., Faria, J. A. F., & Godoy, H. T. (2013). Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. *Journal of Dairy Science*, 96, 96–100.
- CIE - Commission Internationale de l' Eclairage. (1996). Colourimetry, 2nd ed. Vienna: CIE Publication.
- Coman, M. M., Cecchini, C., Verdenelli, M. C., Silvi, S., Orpianesi, C., & Cresci, A. (2012). Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria combination. *International Journal of Food Microbiology*, 157, 346–352.

- Cruz, A. G., Buriti, F. C. A., Souza, C. H. B., Faria, J. A. F., & Saad, S. M. I. (2009). Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 344–354.
- Davies, E. A., Bevis, H. E., & Delves-Broughton, J. (1997). The use of the bacteriocin, nisin, as a preservative in ricotta-type cheeses to control the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 24, 343–346.
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R., & Ramírez, R. (2012). Changes in microbiology, proteolysis, texture and sensory characteristics of raw goat milk cheeses treated by high-pressure at different stages of maturation. *LWT - Food Science and Technology*, 48, 268–275.
- Folch, L., Less, M., & Stanley, S. A. (1957). Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497–509.
- FAO/WHO (2002). Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, ON, Canada: FAO/WHO.
- Freitas, A. C., Pintado, A. E., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (1999). Organic acids produced by lactobacilli, enterococci and yeasts isolated from Picante cheese. *European Food Research and Technology*, 209, 434–438.
- Galiou, E., Zantar, S., Bakkali, Laglaoui, A., Centeno, J. A., Carballo, J. (2015). Chemical and microbiological characteristics of traditional homemadefresh goat cheeses from Northern Morocco. *Small Ruminant Research*, 129, 108–113.

- Garcia, E. F., de Oliveira, M. E. G., Queiroga, R. C. R. E., Machado, T. A. D., & Souza, E. L. (2012). Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 120511020811004.
- Garde, S., Ávila, M., Gaya, P., Arias, R., & Nuñez, M. (2012). Sugars and organic acids in raw and pasteurized milk Manchego cheeses with different degrees of late blowing defect. *International Dairy Journal*, 25, 87–91.
- Gardiner, G., Ross, R. P., Collins, J. K., Fitzgerald, G., & Stanton, C. (1998). Development of a probiotic Cheddar cheese containing human-derived *Lactobacillus paracasei* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 2192–2199.
- Gomes, A. M. P., & Malcata, F. X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 139–157.
- González-Sánchez, F., Azaola, A., Gutiérrez-López, G. F., & Hernández-Sánchez, H. (2010). Viability of microencapsulated *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB12 in kefir during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 431–436.
- Gregor R. (2015). The growth potential for dairy probiotics. *International Dairy Journal*, 49, 16–22.
- Hartman, L., & Lago, R.C.A. 1986. *Rapid preparation of fatty acids methyl esters*. London: Laboratory Practices. 22, 475-476.

- Hughes, D.B., & Hoover, D.G. (1991) Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. *Food Technology*, 45, 74-80.
- Jankovic, I., Sybesma, W., Phothirath, P., Ananta, E., & Mercenier, A. (2010). Application of probiotics in food products: Challenges and new approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 21, 175–181.
- Lavasani, R. S., & Ehsani, M. R. (2012). Effect of *Bifidobacterium lactis* on free fatty acids of Lighvan cheese during ripening. *Journal of Medical and Bioengineering*. DOI:10.12720/jomb.1.1.4-6
- Lobato-Calleros, C., Reyes-Hernández, J., Beristain, C. I., Hornelas-Urbe, Y., Sánchez-García, J. E., & Vernon-Carter, E. J. (2007). Microstructure and texture of white fresh cheese made with canola oil and whey protein concentrate in partial or total replacement of milk fat. *Food Research International*, 40, 529–537.
- Madureira, a. R., Amorim, M., Gomes, A. M., Pintado, M. E., & Malcata, F. X. (2011). Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 44, 465–470.
- Medina, R.B., Oliszewski, R., Abeijón Mukdsi, M. C., Van Nieuwenhove, C.P., & González, S.N., 2011. Sheep and goats dairy products from South America: microbiota and its metabolic activity. *Small Ruminant Research*, 101, 84–91.
- Minervini, F., Di Cagno, R., Lattanzi, A., De Angelis, M., Antonielli, L., Cardinali, G., Capelle, S., & Gobbetti, M. (2012). Lactic acid bacterium and yeast

microbiotas of 19 sourdoughs used for traditional/typical Italian breads: Interactions between ingredients and microbial species diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 1251–1264.

Oliveira, M. E. G., Garcia, E. F., Oliveira, C. E. V., Gomes, A. M. P., Pintado, M. M. E., Madureira, A. R. M. F., & Souza, E. L. (2014). Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. *Food Research International*, 64, 241–247.

Oliveira, M. E. G., Garcia, E. F., Queiroga, R. C. R. E., & Souza, E. L. (2012). Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Scientia Agricola*, 69, 370-379.

Pintado, M. E., da Silva, J. A. L., & Malcata, F. X. (1996). Characterization of Requeijão and technological optimization of its manufacturing process. *Journal of Food Engineering*, 30, 363–376.

Pizzillo, M., Claps, S., Cifuni, G. F., Fedele, V., & Rubino, R. (2005). Effect of goat breed on the sensory, chemical and nutritional characteristics of ricotta cheese. *Livestock Production Science*, 94, 33–40.

Plessas, S., Bosnea, L., Alexopoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2012). Potential effects of probiotics in cheese and yogurt production: A review. *Engineering in Life Sciences*, 12, 433–440.

- Poveda, J. M., & Cabezas, L. (2006). Free fatty acid composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. *Food Chemistry*, 95, 307–311.
- Prandini, A., Sigolo, S., & Piva, G. (2011). A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 55–61.
- Queiroga, R. C. R. E., Santos, B. M., Gomes, A. M. P., Monteiro, M. J., Teixeira, S. M., Souza, E. L., & Pintado, M. M. E. (2013). Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 538–544.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. (2013). Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research*, 112, 174–180.
- Raynal-Ljutovac, K., Le Pape, M., Gaborit, P., & Barrucand, P. (2011). French goat milk cheeses: An overview on their nutritional and sensorial characteristics and their impacts on consumers' acceptance. *Small Ruminant Research*, 101, 64–72.
- Rohm, H., & Jaros, D. (1996). Colour of hard cheese. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 203, 241–244.
- Roy, D. (2005). Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. *Lait*, 85, 39–56.

- Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., & Mattila-Sandholm, T. (2002). Gut bacteria and health foods-the European perspective. *International Journal of Food Microbiology*, 78, 99–117.
- Salazar, N., Prieto, A., Leal, J.A, Mayo, B., Bada-Gancedo, J.C., de los Reyes-Gavilán, C.G., & Ruas-Madiedo, P. (2009). Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains of human origin, and metabolic activity of the producing bacteria in milk. *Journal of Dairy Science*, 92, 4158–4168.
- Salminen, S., Von Wright, A., & Ouwehand, A. (2004). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. 3rd. ed. New York: Marcel Dekker.
- Sánchez-Macías, D., Morales-Delanuez, a, Moreno-Indias, I., Hernández-Castellano, L. E., Mendoza-Grimón, V., Castro, N., & Argüello, A. (2011). Lipolysis and proteolysis profiles of fresh artisanal goat cheese made with raw milk with 3 different fat contents. *Journal of Dairy Science*, 94, 5786–93.
- Sanders, M. E. (2003). Probiotics: considerations for human health. *Nutrition Reviews*, 61, 91–99.
- Sanders, M. E., Huis in't Veld, J. (1999) Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 76, 293-315.
- Sant'Ana, M. S., Bezerril, F.F., Madruga, M. S., Batista, S. M., Magnani, M., Souza, E. L., & Queiroga, R. C. R. E. (2013). Nutritional and sensory

- characteristics of Minas fresh cheese made with goat milk, cow milk, or a mixture of both. *Journal of Dairy Science*, 96, 7442–7453.
- Seçkin, A., & Esmer, Ö.K. (2011). Effect of curd freezing and packaging methods on the organic acid contents of goat cheeses during storage. *Mljekarstvo*, 61, 234–243.
- Silva, R. C. S. N., Minim, V. P. R., Simiqueli, L. E. S. M., Gomide, A. I., & Minim, L. A. (2010). Optimized descriptive profile: a rapid methodology for sensory description. *Food and Quality Preference*, 24, 190-200.
- Silveira, E. O., Lopes Neto, J. H., Silva, L., Raposo, A. E. S., Magnani, M., & Cardarelli, H. R. (2014). The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 445–451.
- Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P. B., Collins, J. K., Fitzgerald, G., & Ross, R. P. (1998). Probiotic cheese. *International Dairy Journal*, 8, 491–496.
- Stone, H. S., & Sidel, J. L. (1993). *Sensory evaluation practices*. San Diego: Academic Press.
- Taboada, N., Van Nieuwenhove, C., Alzogaray, S. L. & Medina, R. (2015). Influence of autochthonous cultures on fatty acid composition, esterase activity and sensory profile of Argentinean goat cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 86-94

- Talwalkar, A., Miller, C. W., Kailasapathy, K., & Nguyen, M. H. (2004). Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 605–611.
- Vandenplas, Y., Huys, G., & Daube. (2015). Probiotics: an update. *Jornal de Pediatria*, 91, 6-21.
- Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9, 497–505.
- Yerlikaya, O., & Ozer, E. (2014). Production of probiotic fresh white cheese using co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Technology*, 34, 471-477.
- Zeng, S. S., Soryal, K., Fekadu, B., Bah, B., & Popham, T. (2007). Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. *Small Ruminant Research*, 69, 180–186.

Figure legends

Figure 1. Flowchart of the processes for manufacturing goat ricotta containing or not containing the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus* La-05 or *Bifidobacterium lactis* Bb-12.

Figure 2. (A) Principal Component Analysis (PCA) graph of the physicochemical and sensory aspects of the goat ricotta samples; (B) distribution of the ricotta samples according to the PCA. R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria; R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05; R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12.

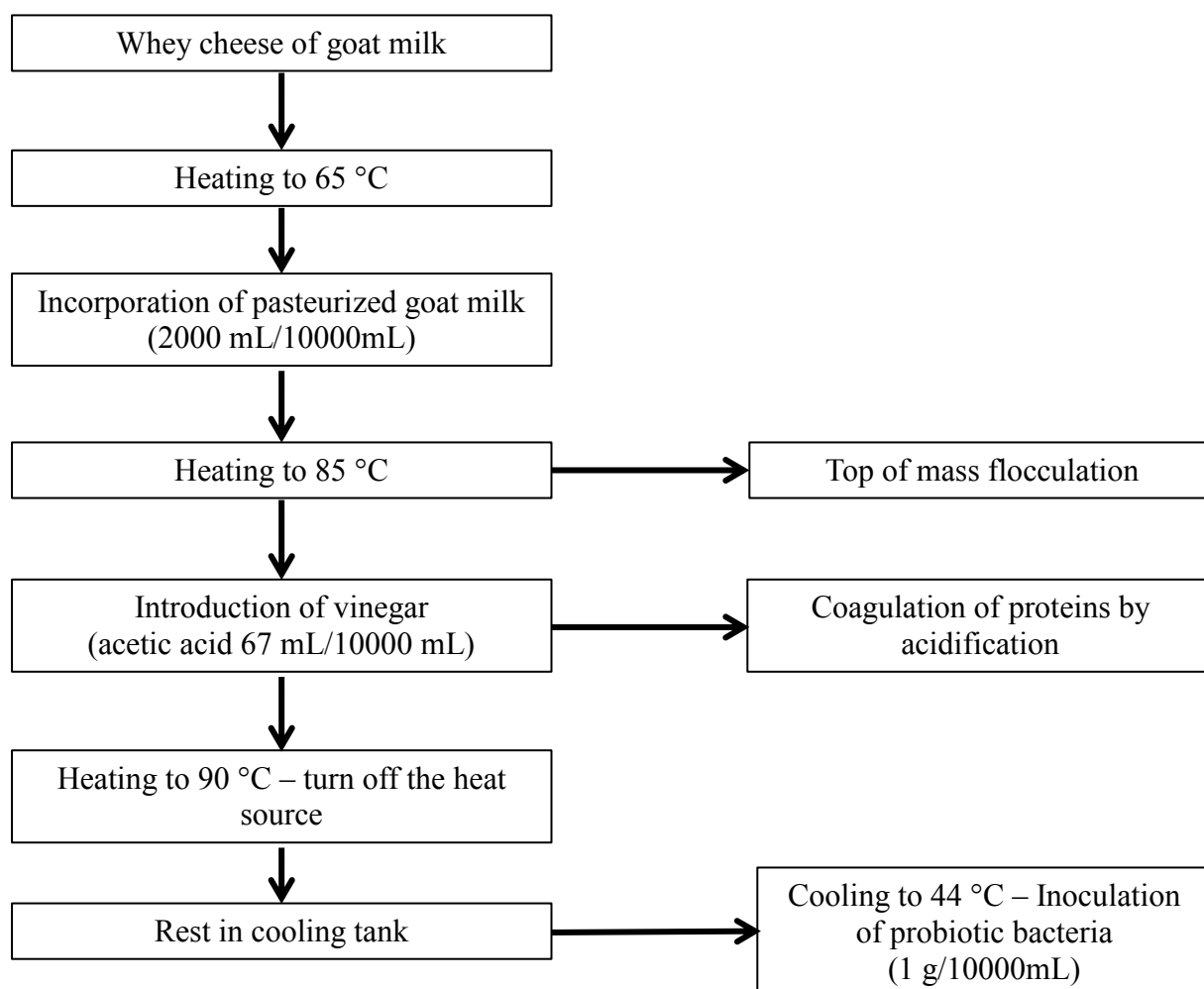


Figure 1.

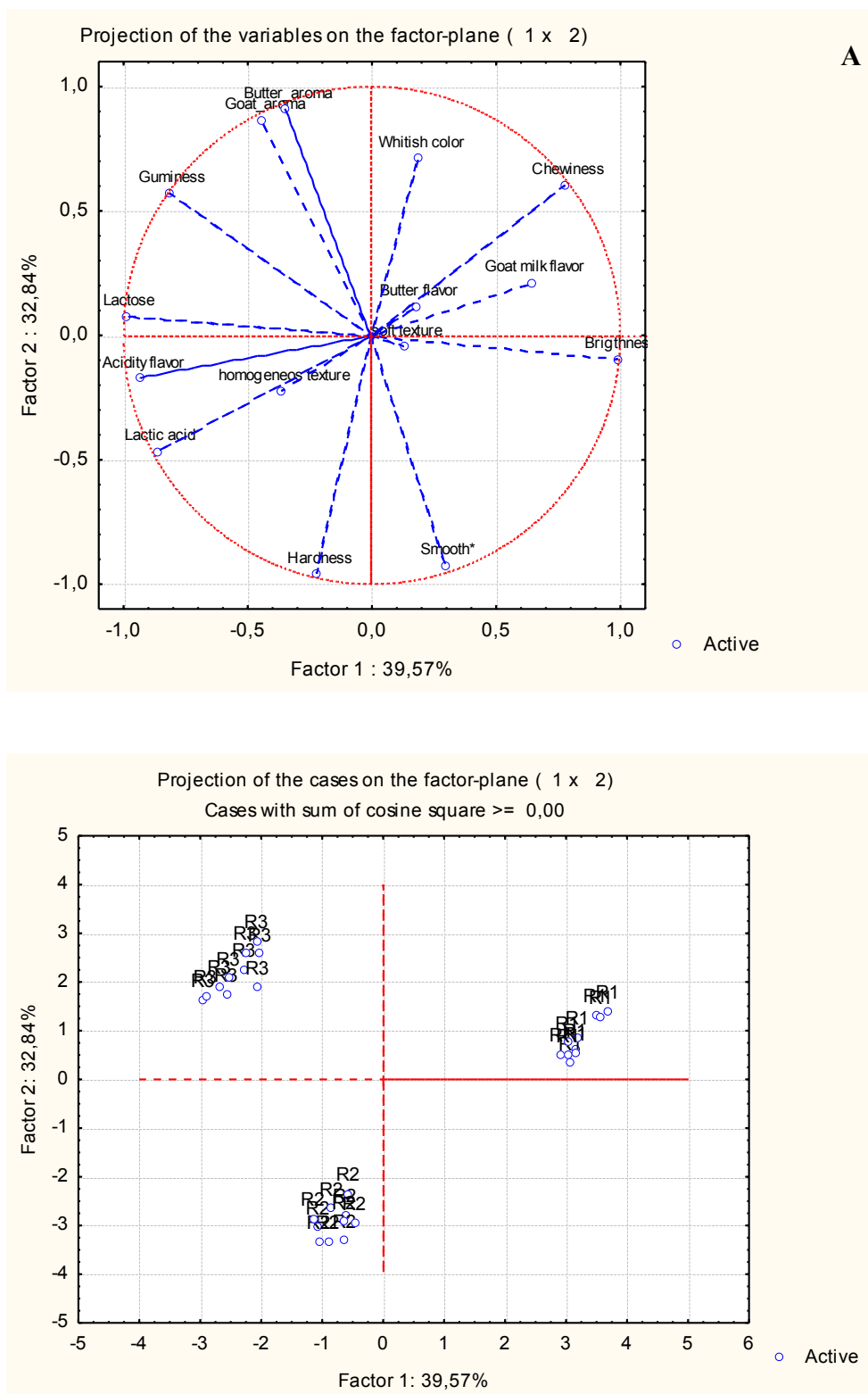
Figure 2.

Table 1. The conditions used during each step of the simulated digestion and the obtained viable cell counts (n:3, mean values $\pm$ standard deviation, in log of cfu/g) for *L. acidophilus* La-05 (*L. acidophilus*) and *B. lactis* BB-12 (*B. lactis*) assayed in de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth or into goat ricotta, after exposure to each digestion step.

Steps	Compartment	Conditions	Stirring (rpm)	Final pH	Time of exposure (min)	Viable cell counts (in log CFU/g)			
						<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>B. lactis</i>
						MRS broth	Goat ricotta	MRS broth	Goat ricotta
1	Before simulation	-	-	-	-	6.36 (± 0.2)	6.54 (± 0.3)	6.49 (± 0.1)	6.22 (± 0.3)
2	Mouth	Saliva	200	6.9	2	6.34 (± 0.1)	6.51 (± 0.2)	6.01 (± 0.3)	6.44 (± 0.2)
3	Esophagus–stomach	Pepsin	130	5.5	10	6.14 (± 0.3)	6.41 (± 0.1)	5.73 (± 0.2) ^A	6.14 (± 0.3) ^B
4				4.6	10	5.94 (± 0.2)	6.43 (± 0.3)	5.43 (± 0.2) ^A	5.94 (± 0.1) ^B
5				3.8	10	6.13 (± 0.2)	6.19 (± 0.2)	5.44 (± 0.3) ^A	6.13 (± 0.2) ^B
6				2.8	20	6.08 (± 0.3)	5.95 (± 0.3)	5.32 (± 0.2) ^A	6.08 (± 0.3) ^B
7				2.3	20	6.06 (± 0.1)	5.74 (± 0.3)	4.60 (± 0.3) ^A	6.06 (± 0.2) ^B
8				2.0	20	6.38 (± 0.2) ^A	5.86 (± 0.2) ^B	3.50 (± 0.1) ^A	6.18 (± 0.3) ^B
9	Duodenum	Pancreatin + bile salts	45	5.0	30	6.58 (± 0.2) ^B	5.93 (± 0.2) ^A	≤ 2 (± 0.0) ^A	5.78 (± 0.3) ^B
10	Ileum		45	6.5	60	6.04 (± 0.3)	6.01 (± 0.3) ^{bc}	≤ 2 (± 0.0) ^A	6.27 (± 0.1) ^B

A – B: different superscript letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the viable cell counts obtained for the same bacterial strain when assayed in MRS broth or into goat ricotta and exposed to the same step of the experimental digestion, according to the Tukey's test

Table 2. Yield, syneresis and physicochemical parameters (n:3, mean values $\pm$ standard deviation) of goat ricotta cheese not containing or containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.

Parameters	Days of storage	Cheeses		
		R1	R2	R3
Yield ¹	1	4.40 (± 0.20) ^A	4.26 (± 0.39) ^A	4.51 (± 0.28) ^A
Syneresis ²	1	1.79 (± 0.10) ^{Ca}	2.13 (± 0.02) ^{Aa}	2.27 (± 0.01) ^{Bb}
	7	2.70 (± 0.02) ^{Bc}	2.77 (± 0.04) ^{Cc}	3.12 (± 0.04) ^{Ac}
Moisture (g/100 g)	1	70.23 (± 0.36) ^{Aa}	68.39 (± 0.41) ^{Ba}	70.39 (± 0.07) ^{Aa}
	7	68.55 (± 0.42) ^{Bab}	66.51 (± 0.08) ^{Cb}	68.93 (± 0.14) ^{Bb}
Dry matter (g/100 g)	1	29.77 (± 0.36) ^{Cb}	33.49 (± 0.08) ^{Aa}	31.07 (± 0.14) ^{Ba}
	7	31.45 (± 0.42) ^{Aab}	31.61 (± 0.41) ^{Ab}	29.61 (± 0.07) ^{Bb}
Ashes (g/100 g)	1	1.16 (± 0.03) ^{Aa}	1.18 (± 0.03) ^{Aa}	1.22 (± 0.06) ^{Aa}
	7	1.04 (± 0.07) ^{Ab}	1.03 (± 0.02) ^{Ab}	1.06 (± 0.01) ^{Ab}
Total protein (g/100 g)	1	9.49 (± 0.39) ^{Aa}	8.68 (± 0.12) ^{Aa}	8.65 (± 0.46) ^{Aa}
	7	7.14 (± 0.19) ^{Ab}	7.27 (± 0.24) ^{Ab}	7.35 (± 0.20) ^{Ab}
Fat (g/100 g)	1	16.00 (± 1.41) ^{Aa}	15.00 (± 1.56) ^{Aa}	17.00 (± 1.29) ^{Aa}
	7	18.00 (± 1.52) ^{Aa}	17.50 (± 1.61) ^{Aa}	16.00 (± 1.73) ^{Aa}
Lactose (g/100 g)	1	3.35 (± 0.06) ^{Aa}	2.37 (± 0.07) ^{Ba}	3.08 (± 0.10) ^{Ca}
	7	2.18 (± 0.01) ^{bA}	2.19 (± 0.01) ^{Ab}	2.14 (± 0.02) ^{Bb}
pH	1	6.96 (± 0.10) ^{Ba}	6.93 (± 0.12) ^{Ba}	6.98 (± 0.10) ^{Aa}
	7	6.97 (± 0.10) ^{Aa}	6.70 (± 0.10) ^{Bb}	6.69 (± 0.11) ^{Bb}
Titratable acidity (g/100 g)	1	0.25 (± 0.01) ^{Aa}	0.23 (± 0.01) ^{Aa}	0.22 (± 0.03) ^{Aa}
	7	0.26 (± 0.01) ^{Aa}	0.26 (± 0.02) ^{Ab}	0.25 (± 0.01) ^{Ab}
Aw	1	0.99 (± 0.00) ^{Aa}	0.99 (± 0.00) ^{Aa}	0.99 (± 0.00) ^{Aa}
	7	0.99 (± 0.00) ^{Aa}	0.99 (± 0.00) ^{Aa}	0.99 (± 0.00) ^{Aa}

R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria

R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05

R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12

A – C: different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between different treatments, according to the Tukey's test

a – c: different superscript lowercase letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) in the same treatment during storage, according to the Tukey's test

Table 3. Mean values (n:3, $\pm$ standard deviation) for textural and color parameters of goat ricotta cheese not containing or containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.

Parameters	Days of storage	Cheeses		
		R1	R2	R3
Textural parameters				
Hardness	1	427.92 (±1.19) ^{Aa}	277.05 (±1.69) ^{Cb}	370.56 (±0.69) ^{Bb}
	7	438.18 (± 1.39) ^{Ca}	493.65 (± 2.13) ^{Aa}	467.85 (± 1.25) ^{Ba}
Adhesiveness	1	-68.37 (±9.26) ^{Aa}	-30.73 (±4.28) ^{Aa}	-57.68 (±12.13) ^{ab}
	7	-41.21 (±3.64) ^{Ab}	-30.27 (±6.52) ^{Aa}	-29.61 (±5.23) ^{Ab}
Springiness	1	0.81 (±0.06) ^{Aa}	0.81 (±0.03) ^{Aa}	0.78 (±0.01) ^{Aa}
	7	0.80 (±0.07) ^{Aa}	0.76 (±0.05) ^{Aa}	0.80 (±0.01) ^{Aa}
Cohesiveness	1	0.37 (±0.03) ^{Aa}	0.29 (±0.04) ^{Aa}	0.30 (±0.08) ^{Aa}
	7	0.43 (±0.03) ^{Ab}	0.40 (±0.03) ^{Ab}	0.42 (±0.04) ^{Ab}
Gumminess	1	160.49 (±19.03) ^{Aa}	111.60 (±15.24) ^{Bb}	113.06 (±2.53) ^{Bb}
	7	142.71 (±16.43) ^{Cb}	154.95 (±29.62) ^{Ba}	214.19 (±5.15) ^{Aa}
Chewiness	1	131.09 (±1.25) ^{Aa}	90.15 (±9.72) ^{Ba}	88.69 (±2.93) ^{Ba}
	7	135.42 (±4.15) ^{Aa}	114.88 (±3.87) ^{Cb}	122.92 (±2.38) ^{Bb}
Color parameters				
L	1	90.86 (±0.13) ^{Ab}	69.37 (±0.25) ^{Ba}	57.12 (±0.10) ^{Ca}
	7	93.33 (±0.10) ^{Aa}	55.67 (±0.10) ^{Bb}	52.37 (±0.17) ^{Bb}
A	1	-2.90 (±0.08) ^{Cb}	-1.52 (±0.02) ^{Ba}	-1.43 (±0.04) ^{Ab}
	7	-2.12 (±0.03) ^{Ba}	-1.76 (±0.01) ^{Cb}	-1.31 (±0.02) ^{Aa}
B	1	7.73 (±0.01) ^{Aa}	5.47 (±0.02) ^{Ba}	4.28 (±0.02) ^{Ca}
	7	5.86 (±0.06) ^{Ab}	5.76 (±0.04) ^{Bb}	4.43 (±0.01) ^{Cb}

R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria

R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05

R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12

A – C: different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between different treatments, according to the Tukey's test

a – c: different superscript lowercase letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) in the same treatment during storage, according to the Tukey's test

Table 4. Fatty acids (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.

Fatty acids	Cheeses		
	R1	R2	R3
Short chain			
Caproic (C6:0)	0.31 (± 0.12) ^A	Nd	0.75 (± 0.33) ^A
Caprylic (C8:0)	0.80 (± 0.11) ^A	0.69 (± 0.10) ^A	0.65 (± 0.16) ^A
Pelargonic (C9:0)	0.03 (± 0.01) ^A	0.02 (± 0.01) ^A	0.04 (± 0.01) ^A
Capric (C10:0)	6.53 (± 1.30) ^A	4.93 (± 0.50) ^A	5.20 (± 1.02) ^A
Undecanoic (C11:0)	0.27 (± 0.02) ^A	0.05 (± 0.01) ^B	0.05 (± 0.01) ^B
Medium chain			
Lauric (C12:0)	3.64 (± 1.35) ^A	2.81 (± 0.15) ^B	2.95 (± 0.13) ^B
Myristic (C14:0)	10.71 (± 1.60) ^A	9.13 (± 1.51) ^A	9.55 (± 1.10) ^A
Myristoleic (C14:1)	0.25 (± 0.03) ^B	0.40 (± 0.02) ^A	0.42 (± 0.02) ^A
Pentadecanoic (C15:0)	1.04 (± 0.03) ^A	1.08 (± 0.01) ^A	1.14 (± 0.10) ^A
Palmitic (C16:0)	27.32 (± 2.01) ^A	25.48 (± 1.80) ^A	26.70 (± 1.20) ^A
Palmitoleic (C16:1)	0.88 (± 0.02) ^A	0.87 (± 0.02) ^A	0.92 (± 0.02) ^A
Long chain			
Heptadecanoic (C17:0)	0.65 (± 0.06) ^A	0.67 (± 0.04) ^A	0.71 (± 0.04) ^A
Cis-10-heptadecanoic (C17:1)	0.30 (± 0.03) ^A	0.36 (± 0.03) ^A	0.37 (± 0.03) ^A
Stearic (C18:0)	10.42 (± 1.02) ^A	9.08 (± 1.13) ^C	9.63 (± 1.09) ^B
Oleic (C18:1 n9cis)	30.92 (± 4.50) ^A	26.49 (± 4.37) ^A	27.92 (± 3.32) ^A
Vaccenic (C18:1 n11cis)	1.07 (± 0.05) ^B	1.41 (± 0.05) ^A	1.49 (± 0.04) ^A
Linoleic (C18:2 n6cis)	1.74 (± 0.06) ^B	1.85 (± 0.04) ^B	1.97 (± 0.05) ^A
Nonadecanoic (C19:0)	0.14 (± 0.01) ^A	0.16 (± 0.01) ^A	0.15 (± 0.01) ^A
Alpha-linolenic (C18:3 n3)	0.55 (± 0.10) ^A	0.74 (± 0.11) ^A	0.81 (± 0.10) ^A
Eicosanoic (C20:0)	0.34 (± 0.07) ^A	0.16 (± 0.05) ^C	0.30 (± 0.09) ^B
Cis-9-eicosenoic (C20:1 n9)	0.06 (± 0.03) ^A	0.10 (± 0.02) ^A	0.16 (± 0.05) ^A
Heneicosanoic (C21:0)	Nd	0.29 (± 0.01) ^A	0.30 (± 0.01) ^A
Docosanoic (C22:0)	0.74 (± 0.05) ^B	0.63 (± 0.03) ^A	0.10 (± 0.03) ^C
Erucic (C22:1n9)	nd	0.22 (± 0.02) ^B	0.40 (± 0.02) ^A

R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria

R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05

R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12

A – C: different superscript letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) among the different treatments, according to the Tukey's test

nd: not detected

Table 5. Sugars and organic acids (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, after 1 and 7 days of refrigerated storage.

Sugars	Days of storage	Cheeses		
		R1	R2	R3
Lactose	1	142.82 ($\pm$ 4.28) ^{Cb}	154.96 ($\pm$ 1.10) ^{Aa}	168.92 ($\pm$ 4.31) ^{Ba}
	7	145.20 ($\pm$ 2.50) ^{Ca}	138.25 ($\pm$ 4.50) ^{Bb}	135.50 ($\pm$ 6.55) ^{Ab}
Galactose	1	3.50 ($\pm$ 0.70) ^{Cb}	3.15 ($\pm$ 0.63) ^{Bb}	4.33 ($\pm$ 0.87) ^{Ab}
	7	4.00 ($\pm$ 0.54) ^{Ca}	4.80 ($\pm$ 0.96) ^{Ba}	5.21 ($\pm$ 0.68) ^{Aa}
Glucose	1	6.20 ($\pm$ 0.99) ^{Aa}	3.52 ($\pm$ 0.56) ^{Ca}	4.87 ($\pm$ 0.78) ^{Ba}
	7	6.19 ($\pm$ 0.93) ^{Aa}	3.49 ($\pm$ 0.60) ^{Ba}	4.11 ($\pm$ 0.70) ^{Ba}
Organic acids				
Lactic	1	0.7 ($\pm$ 0.01) ^{Bb}	1.90 ($\pm$ 0.04) ^{Ab}	1.60 ($\pm$ 0.02) ^{Ba}
	7	0.6 ($\pm$ 0.05) ^{Aa}	2.20 ($\pm$ 0.03) ^{Ba}	1.80 ($\pm$ 0.01) ^{Ca}
Formic	1	0.14 ($\pm$ 0.03) ^{Bb}	0.17 ($\pm$ 0.03) ^{Ab}	0.16 ($\pm$ 0.03) ^{Ab}
	7	0.23 ($\pm$ 0.05) ^{Aa}	0.25 ($\pm$ 0.04) ^{Aa}	0.22 ($\pm$ 0.04) ^{Ba}
Acetic	1	1.08 ($\pm$ 0.11) ^{Ba}	0.92 ($\pm$ 0.06) ^{Ca}	1.12 ($\pm$ 0.11) ^{Aa}
	7	0.87 ($\pm$ 0.09) ^{Bb}	0.79 ($\pm$ 0.05) ^{Cb}	1.04 ($\pm$ 0.10) ^{Ab}

R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria

R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05

R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12

A – C: different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between different treatments, according to the Tukey's test

a – c: different superscript lowercase letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) in the same treatment during storage, according to the Tukey's test

Table 6. Parameters of sensory descriptive quantitative analysis (n:3, mean values, $\pm$ standard deviation) in goat ricotta cheese not containing or containing *L. acidophilus* La-05 or *B. lactis* Bb-12, after 1 and 7 days of storage.

Attributes*	Days of storage	Cheeses		
		R1	R2	R3
Smooth appearance	1	4.01 ($\pm$ 1.60) ^{Aa}	3.27 ($\pm$ 1.19) ^{Aa}	3.35 ($\pm$ 1.59) ^{Aa}
	7	5.26 ($\pm$ 1.73) ^{Aa}	4.23 ($\pm$ 1.27) ^{Aa}	3.68 ($\pm$ 1.34) ^{Aa}
Whitish color	1	7.02 ($\pm$ 1.58) ^{Aa}	7.26 ($\pm$ 1.29) ^{Aa}	7.16 ($\pm$ 1.80) ^{Aa}
	7	7.55 ($\pm$ 0.68) ^{Aa}	7.14 ($\pm$ 0.90) ^{Aa}	7.41 ($\pm$ 0.96) ^{Aa}
Creamy color	1	1.24 ($\pm$ 0.50) ^{Aa}	0.85 ($\pm$ 0.34) ^{Cb}	0.97 ($\pm$ 0.31) ^{Bb}
	7	1.46 ($\pm$ 0.58) ^{Ca}	1.78 ($\pm$ 0.53) ^{Aa}	1.54 ($\pm$ 0.48) ^{Ba}
Syneresis	1	3.33 ($\pm$ 1.00) ^{Aa}	2.29 ($\pm$ 0.92) ^{Aa}	2.79 ($\pm$ 0.99) ^{Aa}
	7	3.36 ($\pm$ 1.34) ^{Aa}	1.56 ($\pm$ 0.62) ^{Aa}	2.47 ($\pm$ 1.88) ^{Aa}
Goat milk aroma	1	2.06 ($\pm$ 0.82) ^{Aa}	2.73 ($\pm$ 0.87) ^{Aa}	3.46 ($\pm$ 1.99) ^{Aa}
	7	3.16 ($\pm$ 1.17) ^{Aa}	2.27 ($\pm$ 0.91) ^{Aa}	2.94 ($\pm$ 1.21) ^{Aa}
Butter aroma	1	1.84 ($\pm$ 0.74) ^{Aa}	2.86 ($\pm$ 0.97) ^{Aa}	3.14 ($\pm$ 1.40) ^{Aa}
	7	2.24 ($\pm$ 0.90) ^{Aa}	2.96 ($\pm$ 1.07) ^{Aa}	3.28 ($\pm$ 1.00) ^{Aa}
Goat milk flavor	1	2.90 ($\pm$ 1.16) ^{Aa}	2.97 ($\pm$ 1.19) ^{Aa}	3.54 ($\pm$ 1.69) ^{Aa}
	7	2.95 ($\pm$ 1.09) ^{Aa}	3.14 ($\pm$ 1.26) ^{Aa}	4.29 ($\pm$ 2.03) ^{Aa}
Butter flavor	1	2.51 ($\pm$ 1.00) ^{Aa}	2.43 ($\pm$ 0.97) ^{Aa}	2.38 ($\pm$ 0.84) ^{Aa}
	7	2.60 ($\pm$ 1.04) ^{Aa}	2.79 ($\pm$ 0.98) ^{Aa}	2.92 ($\pm$ 0.82) ^{Aa}
Acidity flavor	1	1.46 ($\pm$ 0.58) ^{Aa}	0.83 ($\pm$ 0.38) ^{Bb}	0.69 ($\pm$ 0.28) ^{Bb}
	7	0.96 ($\pm$ 0.38) ^{Ab}	1.89 ($\pm$ 0.61) ^{Ba}	1.39 ($\pm$ 0.44) ^{Ba}
Salty flavor	1	1.28 ($\pm$ 0.15) ^{Aa}	1.17 ($\pm$ 0.47) ^{Aa}	1.27 ($\pm$ 0.31) ^{Aa}
	7	0.97 ($\pm$ 0.35) ^{Aa}	1.47 ($\pm$ 0.60) ^{Aa}	1.49 ($\pm$ 0.35) ^{Aa}
Soft texture	1	6.68 ($\pm$ 1.95) ^{Aa}	7.90 ($\pm$ 1.36) ^{Aa}	7.57 ($\pm$ 1.99) ^{Aa}
	7	6.80 ($\pm$ 1.63) ^{Aa}	7.18 ($\pm$ 2.16) ^{Aa}	7.34 ($\pm$ 1.97) ^{Aa}
Homogeneous texture	1	4.65 ($\pm$ 1.40) ^{Aa}	5.58 ($\pm$ 2.06) ^{Aa}	5.72 ($\pm$ 2.68) ^{Aa}
	7	5.78 ($\pm$ 1.86) ^{Aa}	6.25 ($\pm$ 2.30) ^{Aa}	6.25 ($\pm$ 2.01) ^{Aa}

R1: goat ricotta lacking probiotic bacteria

R2: goat ricotta containing *L. acidophilus* La-05

R3: goat ricotta containing *B. lactis* Bb-12

A – C: different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between different treatments

a – c: different superscript lowercase letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) in the same treatment during storage.

*Intensity of each attribute was assessed using an unstructured scale ranging from 0 (poor) to 9 (strong), which anchored the minimal and the maximal values.

7 CONCLUSÃO

A utilização dos resíduos lácteos é uma tendência na indústria de laticínios. O emprego de soro de queijo caprino como ingrediente principal na fabricação de ricota não interfere em suas características reológicas nem atribui características sensoriais negativas ao produto demonstrando-se como uma opção viável para o reaproveitamento de soro gerado em laticínios que em dado momento poderia ser descartado no meio ambiente, tornando-se um problema econômico e ambiental no que concerne a poluição de rios, afluentes e oceanos.

O queijo é um dos produtos lácteos que se apresenta como um bom “veículo” para culturas probióticas, pois constituem um ambiente que favorece a sobrevivência destas culturas no produto. Este estudo demonstrou que a incorporação de cepas probióticas já conhecidas de *Lactobacillus acidophilus* La-05 (*L. acidophilus*) e *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (*B. lactis*) em ricota caprina não afeta o rendimento, a sinérese ou as características físico-químicas do produto, com exceção do nível de acidez e o valor de pH, resultando num sabor mais ácido, provavelmente relacionado com a concentração de ácido láctico nestes queijos.

A incorporação das cepas probióticas testadas em ricota caprina afetaram as características físicas específicas dos queijos, como o aumento da cor amarela e o nível de dureza. Os resultados dos ensaios de viabilidade bacteriana revelaram que ricota caprina, por ser uma matriz sólida, caracteriza-se como um bom carreador de cepas probióticas de *L. acidophilus* LA-05 ou *B. lactis* BB-12 demonstrando contagens suficientes e capazes de proporcionar benefícios à saúde de quem a consumir. Além disso, quando as cepas probióticas foram incorporadas na ricota caprina, estas foram capazes de tolerar as condições de *stress* impostas pelo processo digestório experimental.

Embora a ricota caprina apresente um forte efeito protetor sobre *B. lactis* BB-12, de maneira geral, pode-se concluir que estes resultados demonstraram uma viabilidade satisfatória com a incorporação das cepas probióticas em ricota caprina. Ainda, as cepas testadas não afetaram

negativamente as características gerais de qualidade deste produto sugerindo que a ricota caprina caracteriza-se como uma matriz alimentar eficaz para manter a viabilidade destes probióticos durante o armazenamento refrigerado e sob as condições adversas encontradas no trato gastrointestinal humano.

Estes resultados incentivam novas pesquisas com foco na viabilidade dessas cepas e sua incorporação em diversos produtos alimentícios e não só em derivados lácteos.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Terminologia de atributos sensoriais determinados pelo painel de avaliadores. Suas respectivas definições e normas definem os extremos da escala não estruturada.

Termo descritor	Definição	Referência
Aparência		
Lisa	Característica do produto apresentar-se liso, contínuo, sem grânulos ou olhaduras	Pouco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de ricota fresca Muito: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional
Cor esbranquiçada	Cor característica de queijo de cabra, tendendo ao branco	Fraca: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo de coalho de leite de cabra Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo Minas Frescal de leite de cabra artesanal
Cor creme	Cor branco-amarelada, semelhante à cor da nata do leite	Clara: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo de coalho de leite de cabra Intensa: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo parmesão
Liberação de soro	Liberação de líquido variando de gotículas na superfície a uma quantidade visível de líquido separado do queijo	Baixa: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de ricota fresca Alta: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional
Aroma		
Aroma de leite de cabra	Aroma característico de queijo de leite de cabra	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo de coalho de leite de cabra Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo Minas Frescal de leite de cabra artesanal
Aroma de manteiga	Aroma característico de manteiga	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo parmesão
Sabor		
Gosto de leite de cabra	Sensação complexa composta de sensações gustativas, olfativas e táteis que são percebidas durante a degustação de produtos contendo leite de cabra.	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo de coalho de leite de cabra Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo Minas Frescal de leite de cabra artesanal
Gosto de manteiga	Gosto característico de manteiga	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo parmesão
Gosto ácido	Sensação provocada pela degustação de ácido cítrico.	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional Forte: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de Queijo Minas Frescal de leite de cabra artesanal
Gosto Salgado	Gosto estimulado pela presença de cloreto de sódio	Fraco: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de ricota fresca Intenso: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo parmesão
Textura		
Maciez	Propriedade de textura que oferece pouca resistência à mastigação, variando de firme até macio	Baixa: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo parmesão Alta: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional
Homogeneidade	Propriedade relacionada à ausência de grumos percebidos ao degustar o produto.	Baixa: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de ricota fresca Alta: 1 fatia medindo 8 x 6 cm de queijo minas frescal ultrafiltrado tradicional

APÊNDICE B – Escala para determinação de atributos sensoriais determinados pelo painel de avaliadores.

Nome: _____ Data: _____

Você está recebendo uma amostra de queijo ricota. Por favor, em cada amostra, avalie a intensidade de cada um dos atributos. Para isto, coloque um traço vertical na escala correspondente.

Amostra: _____

Aparência

LISA		Pouco	Muito
COR			
ESBRANQUIÇADA		Fraca	Forte
COR CREME			
		Clara	Intensa
LIBERAÇÃO DE SORO			
		Baixa	Alta

Aroma

AROMA DE LEITE DE			
CABRA		Fraco	Forte
AROMA DE			
MANTEIGA		Fraco	Forte

Sabor

GOSTO DE LEITE DE			
CABRA		Fraco	Forte
GOSTO DE			
MANTEIGA		Fraco	Forte
GOSTO ÁCIDO			
		Fraco	Forte
GOSTO SALGADO			

Textura		Fraco	Intenso
MACIEZ			
		Fraco	Forte
HOMOGENEIDADE			
		Baixa	Alta

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB

UNIVERSIDADE FEDERAL DA
PARAÍBA - CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE



PROJETO DE PESQUISA

Título: Produção de derivados lácteos: tecnologias e agregação de valor a produtos da caprinocultura leiteira
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 02226912.0.0000.5188
Pesquisador: Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga
Instituição: Universidade Federal da Paraíba

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 111.523
Data da Relatoria: 25/09/2012

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa tem por objetivo desenvolver e adaptar tecnologias de produtos lácteos caprinos (queijos, iogurte, bebidas lácteas), como também, aproveitar resíduos de indústrias de laticínios e frutos da biodiversidade regional, visando o aumento da produção e agregação de valor, para que contribuam na sustentabilidade da agricultura familiar da região Semiárida, procurando-se atender aos requisitos de segurança alimentar. Serão elaborados produtos lácteos com qualidade satisfatória os quais serão submetidos a testes sensoriais. Os procedimentos realizados na pesquisa serão explicados aos indivíduos e, em seguida, caso aceitem participar da mesma, assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido. Serão convidados e selecionados a formar o grupo de provadores estudantes e servidores da Instituição maiores de 18 anos. As análises sensoriais serão realizadas no Laboratório de Técnica Dietética DN/CCS/UFPB e para a realização das mesmas serão aplicados Testes de Aceitação (100 provadores) e de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) (12 provadores) de acordo com metodologia descrita por Faria & Yotsuyanagi (2002). Para participação do painel sensorial serão recrutados voluntários entre estudantes, funcionários e professores da UFPB. Os dados obtidos serão tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA). As diferenças entre os grupos estudados serão analisados utilizando o teste de média Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de significância. Com relação à análise sensorial, os dados serão tabulados em gráfico de planilha eletrônica EXCEL, sendo os valores médios de cada atributo sensorial comparado através de teste de Friedman. Para a comparação entre os tratamentos será realizada a análise de variância (ANOVA) dos provadores e comparação ao teste de Tukey com nível de 5 % de significância.

Objetivo da Pesquisa:

Desenvolver e adaptar tecnologias de produtos lácteos caprinos, como também, aproveitar resíduos de indústrias de laticínios e frutos da biodiversidade regional, visando o aumento da produção e agregação de valor, para que contribuam na sustentabilidade da agricultura familiar da região Semiárida, procurando-se atender aos requisitos de segurança alimentar.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos previsíveis, e o pesquisador relata que os benefícios gerados com a pesquisa são para a área de conhecimento, mas não ao participante diretamente. Também pode contribuir para a expansão da agroindústria especializada nestes produtos, pela valorização da caprinocultura leiteira brasileira e contribuição para o desenvolvimento sustentável do Semiárido brasileiro.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA
PARAÍBA - CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE



Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante na sua área do conhecimento e atende a todas as considerações éticas da resolução 196/96.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.

Todas as recomendações solicitadas no parecer da versão 01 foram acatadas pelo pesquisador e realizadas.

Recomendações:

Como todas as recomendações solicitadas no parecer da versão 02 foram acatadas pelo pesquisador, não temos mais recomendações a fazer.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conforme acima relatado, salvo melhor juízo, somos de parecer que este Projeto deve ser considerado APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

JOAO PESSOA, 01 de Outubro de 2012

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)

**ANEXO B – Confirmação de submissão de artigo científico no periódico
Food Research International**

From: fri@uoguelph.ca
To: evandroleitesouza@hotmail.com
Date: Tue, 9 Jun 2015 18:19:36 +0100
Subject: Submission Confirmation

Dear Dr. Evandro de Souza,

Your submission entitled "Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions" of Research Paper has been received by Food Research International

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/foodres/>.

Your username is: evandroleitesouza@hotmail.com
If you need to retrieve password details, please go
to: http://ees.elsevier.com/foodres/automail_query.asp

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Food Research International

Important information to authors concerning the manuscript processing at Food Research International and correspondence with the Editorial Office

All papers submitted to FRI undergo a process of pre-review evaluation which will determine whether they are sent for external review (see Guide for Authors).

FRI submissions have increased by over 40% over the past three years, and while editors try to process them rapidly as possible, the pre-review evaluation

of many papers cannot be completed in a short time. When a paper is marked "With Editor" in EES, the pre-evaluation review is being completed.

Papers that are accepted for external review are sent to peer reviewers. Finding reviewers who are both specialized in the same field as the manuscript topic and who are available to review can be a long and time-consuming process. Papers marked "Under Review" have not been forgotten, but frequently it takes multiple attempts to find two peer reviewers who will actually review the submission.

Authors should only send correspondence to the journal about technical issues - e.g. password difficulties, missing data, adding another author, or some other item that was forgotten or overlooked when the paper was uploaded into EES. Enquiries concerning the status of papers, given the very small staff at the FRI Editorial Office, and its part-time operation, will delay the processing of manuscripts; there is no guarantee that such enquiries will be answered.

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

ANEXO C – Carta de aceite de artigo científico no periódico Food Research International

From: and@unicamp.br
To: evandroleitesouza@hotmail.com
Date: Sat, 1 Aug 2015 03:21:17 +0100
Subject: Your Submission

Ms. Ref. No.: FOODRES-D-15-01682R1

Title: Effects of added Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions
Food Research International

Dear Dr. Evandro de Souza,

I am pleased to confirm that your paper "Effects of added Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium lactis probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions" has been accepted for publication in Food Research International.

Your accepted manuscript will now be transferred to our production department and work will begin on creation of the proof. If we need any additional information to create the proof, we will let you know. If not, you will be contacted again in the next few days with a request to approve the proof and to complete a number of online forms that are required for publication.

Comments from the Editor and Reviewers can be found below.

When your paper is published on ScienceDirect, you want to make sure it gets the attention it deserves. To help you get your message across, Elsevier has developed a new, free service called AudioSlides: brief, webcast-style presentations that are shown (publicly available) next to your published article. This format gives you the opportunity to explain your research in your own words and attract interest. You will receive an invitation email to create an AudioSlides presentation shortly. For more information and examples, please visit <http://www.elsevier.com/audioslides>.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,

Food Research International

Anderson de Souza Sant'Ana, Ph.D.

Editor-in-Chief

ANEXO D – Declaração de submissão de pedido de patente de invenção ao INOVA/INPI



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
REITORIA
AGÊNCIA UFPB DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA
NÚCLEO DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA – REDE NIT-NE

DECLARAÇÃO – Nº 63

Declaro para fins comprobatórios que **Quênia Gramile Silva Meira** (009.695.984-32), **Evandro Leite de Souza** (032.472.784-43), **Marciane Magnani** (881.401.130-34), **Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga** (395.300.194-91) deram início, neste Núcleo de Inovação Tecnológica – NIT, ao processo de pedido de PATENTE DE INVENÇÃO denominado “**MÉTODO DE PRODUÇÃO DE QUEIJO CAPRINO TIPO RICOTA PROBIÓTICO**” a qual está em andamento e sob total sigilo de informações conforme Lei nº 9.279/1996, Lei nº 10.603/2002, Lei nº 12.527/2011 e seus regulamentos.

João Pessoa – PB, 11 de junho de 2015.


Prof. Dr. Fernando Figueiras de A. Vilho
Diretor Presidente da Agência UFPB de
Inovação Tecnológica / INOVA-UFPB
BIA/PE 1227993

Cidade Universitária – Campus I – Prédio da Reitoria, 2º Andar.
CEP: 58.051-900. E-mail: cgiti@prpg.ufpb.br – Fone: (83) 3216.7558



NIT - UFPB

ANEXO E – Relação de Processo Cadastrado no INPI do pedido de patente de invenção



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

Sistema PUSH - Relação de Processos Cadastrados

Relação de Processos Cadastrados
102015016223

Data: Quarta-feira, 05 Agosto 2015

05/08/2015 INPI

BRASIL Acesso à informação Participe Serviços Legislação Canais

Instituto Nacional da
Propriedade Industrial
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior

Consulta à Base de Dados do INPI [\[Início \]](#) [Ajuda?](#)

RESULTADO DA PESQUISA (05/08/2015 às 14:31:19)
Pesquisa por:
Nº Pedido: 'BR102015016223-5' \

AVISO: Nº Pedido: 'BR102015016223-5' \ consta em nosso banco de dados. Por favor, acesse regularmente a Revista da Propriedade Industrial (RPI), a fim de acompanhar as publicações relativas ao pedido em questão.

Dados atualizados até **04/08/2015** - Nº da Revista: **2326**

Rua Marquês de São Carlos, 9 - Centro - RJ - CEP: 20090-910 | Rua São Bento, 1 - Centro - RJ - CEP: 20090-010

**Falei
Conosco**