

Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal

[*Lactobacillus acidophilus and of direct acidification to minas frescal cheese production*]

C.C.C. Alves¹, N.D.H. Gemal², M.A.S. Cortez³, R.M. Franco³, S.B. Mano³

¹Médica veterinária autônoma

²Aluna de pós-graduação - Faculdade de Veterinária - UFF - Niterói, RJ

³Faculdade de Veterinária - UFF - Niterói, RJ

RESUMO

Três procedimentos foram adotados na elaboração de queijo de minas frescal: fabricação tradicional, com adição de ácido láctico e com *Lactobacillus acidophilus*. As amostras dos queijos foram analisadas quanto à composição e, durante o período de estocagem de 30 dias, quanto à acidez – pH e acidez titulável – e contagem de *L. acidophilus*. A análise sensorial foi realizada por métodos sensoriais afetivos. A composição dos queijos nos diferentes procedimentos apresentou-se de acordo com os padrões esperados, com exceção do teor de gordura, que foi maior no queijo com adição de ácido láctico. Durante a armazenagem, ocorreu aumento da acidez titulável em todos os procedimentos. A contagem de *L. acidophilus* foi acima de 10⁸UFC/g, caracterizando populações suficientes para classificar o queijo como alimento probiótico. Na análise sensorial, o de queijo de minas com a adição do probiótico foi o preferido pelos julgadores. O queijo de minas frescal foi apropriado para incorporação do probiótico, e o uso de *L. acidophilus* melhorou a qualidade sensorial e não alterou os parâmetros físico-químicos.

Palavras-chave: queijo, probióticos, *Lactobacillus acidophilus*, ácido láctico

ABSTRACT

Minas frescal cheese was produced in three different procedures: traditional manufacturing; with the addition of lactic acid; and with Lactobacillus acidophilus. Cheeses samples were analyzed for composition, and during the stock period of 30 days for acidity and L. acidophilus count. The sensory analysis was carried out through sensory affective methods. The composition of cheeses in different treatments presented results in accordance to the standards expected for the product, except for fat content, which was higher in cheese with the addition of lactic acid. During the stock period, an increase of titratable acidity in all treatments was observed. The L. acidophilus count was above 10⁸UFC/g, characterizing sufficient population to classify the cheese as a probiotic food. At the sensory analysis, it was attested that the cheese which had the addition of probiotic was preferred among the tasters. The Minas Frescal cheese was appropriate for incorporation of probiotic and the use of L. acidophilus in cheese improved the sensory quality and did not alter the physicochemical parameters.

Keywords: cheese, probiotics, *Lactobacillus acidophilus*, lactic acid

INTRODUÇÃO

A produção de queijos representa uma das mais importantes atividades para os estabelecimentos industriais, pois 34% de todo o leite recebido é direcionado à fabricação de queijos

(Estatística..., 2010). Destaca-se o queijo de minas frescal, que apresenta ampla aceitação no mercado, excelente rendimento na fabricação e facilidade de produção. No entanto, devido ao alto teor de umidade, elevado valor de pH e grande manipulação durante a fabricação, é

muito suscetível a alterações bioquímicas e microbiológicas que afetam as características de qualidade e durabilidade. Além disso, com frequência apresenta contaminação por diversos patógenos de importância para a saúde coletiva (Furtado e Lourenço Neto, 1994; Pinto *et al.*, 2004).

No setor láteo, os alimentos funcionais, como os adicionados de microrganismos probióticos, apresentam elevado valor comercial, e muitos estabelecimentos industriais desenvolvem produtos tendo a promoção da saúde como relevante estratégia de propaganda. O *Lactobacillus acidophilus* é considerado um microrganismo probiótico em razão dos benefícios relacionados ao consumo (Garcia *et al.*, 2006), sendo muito utilizado na indústria de laticínios, na fabricação de diversos produtos. A acidificação de queijos utilizando ácido láctico é descrita como uma forma de melhorar as características de produção e de preservação, pelo fato de diminuir as alterações qualitativas ao longo do tempo de estocagem (Fox, 2000).

Os objetivos do presente experimento foram obter as características físico-químicas do queijo de minas frescal produzido pelo procedimento tradicional, com a adição de probiótico e com a adição de ácido láctico, determinar o pH e a acidez titulável durante o período de estocagem de 30 dias, efetuar a contagem de *L. acidophilus* durante o período de armazenagem e realizar a avaliação sensorial por meio de testes afetivos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os queijos foram elaborados com leite previamente pasteurizado, utilizando-se quantidades de cloreto de cálcio (solução 50%, Cap-Lab), coagulante microbiano comercial (produzido por cepa de *Aspergillus niger* var. *awamori*, marca Chr. Hansen) e cloreto de sódio (refinado extraiodado, marca Cisne), como o preconizado por Furtado e Lourenço Neto (1994). Para tal, adotaram-se três procedimentos na elaboração dos queijos: queijo de minas frescal tradicional (controle, T1); queijo de minas frescal adicionado de *L. acidophilus* (T2) e queijo de minas frescal adicionado de ácido láctico (T3).

Para a produção do queijo de minas frescal com probiótico, foi utilizada a cultura comercial liofilizada de *L. acidophilus* (LA-5, fornecida pela Chr. Hansen), mantida sob congelamento a -18°C até o momento de uso. A concentração desejada para a inoculação direta no leite foi de 10⁸ UFC/mL, obtida conforme indicação do fabricante (um envelope de 25g para cada 500L de leite). Na acidificação direta do leite com ácido láctico, foram adicionados 2,5mL de ácido láctico para cada 10L de leite, previamente diluído em 25mL de água destilada.

Para caracterizar o produto, foram realizadas análises para determinação de gordura, proteína, cinzas, acidez titulável, pH (Brasil, 2006), cloretos (Métodos, 1981) e umidade (Métodos, 2005). As análises das amostras de cada procedimento foram realizadas em duplicata, no primeiro dia após a produção, usando-se estatística descritiva simples. Na verificação das alterações de acidificação durante o armazenamento, foram realizadas análises de acidez titulável e pH (Brasil, 2006), em sete momentos, nos dias um, três, seis, 12, 18, 24 e 30 após a fabricação.

A contagem de *L. acidophilus* foi realizada no tratamento com probiótico, durante o período de armazenagem, nos mesmos sete momentos. O método utilizado foi o do inóculo em profundidade, com incubação a 35-37°C, por 72 horas, em anaerobiose (Barreto *et al.*, 2003; Garcia *et al.*, 2006).

Os métodos sensoriais utilizados foram o método sensorial afetivo, o de aceitação segundo a escala de nove pontos e o de aceitação segundo a escala de atitude de nove pontos. Em cada teste, foram utilizados 44 julgadores, recrutados aleatoriamente. Os queijos foram analisados no sétimo dia de fabricação. Os resultados foram submetidos à análise de variância e à comparação de médias pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à composição – porcentagem de gordura, proteína, cloretos, umidade e cinzas – das amostras de queijos, realizados no primeiro dia após a fabricação, encontram-se na Tab. 1.

Tabela 1. Composição e gordura no extrato seco (GES) dos queijos, segundo os procedimentos de elaboração

| Tratamento | Composição | | | | | |
|------------|-------------|------------|--------------|--------------|-------------|---------|
| | Umidade (%) | Cinzas (%) | Cloretos (%) | Proteína (%) | Gordura (%) | GES (%) |
| T1 | 64,61 | 4,07 | 1,90 | 16,74 | 18,88 | 53,35 |
| T2 | 63,43 | 4,26 | 1,72 | 15,63 | 18,88 | 51,63 |
| T3 | 60,74 | 5,08 | 2,05 | 17,30 | 24,55 | 62,53 |
| Média | 62,93 | 4,47 | 1,89 | 16,56 | 20,77 | 55,84 |
| DP | 1,983 | 0,536 | 0,165 | 0,849 | 3,273 | 5,860 |
| CV | 0,0315 | 0,120 | 0,087 | 0,0513 | 0,1576 | 0,1049 |

T1: queijo de minas frescal tradicional (controle); T2: queijo de minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*; T3: queijo de minas frescal adicionado de ácido láctico.

Os queijos apresentaram, em média, 55,8% de gordura no extrato seco. Na legislação em vigor (Brasil, 1996), o queijo de minas frescal é classificado como semigordo – conteúdo de gordura no extrato seco entre 25% e 44,9%. No presente experimento, em T1 e T2 obtiveram-se queijos gordos – gordura no extrato seco entre 45,0% e 59,9% – e em T3 queijo extragordo – gordura no extrato seco de, no mínimo, 60%. Isto provavelmente ocorreu em virtude do maior teor de gordura do leite utilizado como matéria-prima, pois não houve padronização do teor de gordura do leite. Furtado e Lourenço Neto (1994) relataram que, na fabricação industrial, é comum a padronização para 3,0% a 3,2% de gordura.

A maior porcentagem de gordura também está relacionada ao tratamento com ácido láctico, como observado em T3. Van Dender *et al.* (1999), ao estudarem o queijo de minas frescal, em diferentes metodologias de fabricação, encontraram resultados semelhantes aos do atual experimento, pois obtiveram valores mais altos de gordura nos queijos fabricados com ácido láctico.

Quanto à composição, os resultados deste trabalho foram semelhantes aos de Lourenço Neto (1998) e Campos e Viotto (1999). O primeiro autor obteve os seguintes valores em queijos fabricados com ácido láctico: 61,7% de umidade, 18,6% de gordura, 0,99% de cloretos e 16,3% de proteínas. Campos e Viotto (1999), ao estudarem o rendimento do queijo fabricado com o mesmo procedimento, encontraram 21,7% de gordura, 1,2% de cloretos e 16,0% de proteínas.

Neste trabalho, os valores de cloretos e gordura no procedimento tradicional foram semelhantes aos de Furtado e Lourenço Neto (1994) e Perry (2004). Furtado e Lourenço Neto (1994) encontraram os seguintes valores para o queijo

de minas frescal: umidade entre 55% e 58%, gordura entre 17% e 19% e cloretos entre 1,4% e 1,6%. Perry (2004) sugeriu que os queijos contenham entre 0,5-2,0% de cloretos. Os teores de umidade encontrados estavam em conformidade com a legislação em vigor. O teor de umidade para o queijo de minas frescal, de acordo com o estipulado na legislação, é de no mínimo, 55%, sendo o queijo classificado como de muito alta umidade (Brasil, 1996).

A composição nas amostras dos queijos com adição de *L. acidophilus* foi semelhante à do queijo tradicional, em todos os parâmetros estudados, o que indica que o probiótico usado não alterou a composição do queijo. Resultados semelhantes foram encontrados por Buriti *et al.* (2005) e Souza (2006). Buriti *et al.* (2005) constataram que não ocorreram diferenças significativas no rendimento, umidade, gordura e proteína nos queijos com adição de *L. acidophilus*, quando comparados ao tradicional. Souza (2006), ao avaliar a composição centesimal do queijo de minas frescal com adição do mesmo probiótico, obteve para o tratamento com *L. acidophilus* e para o tratamento tradicional, respectivamente, 65,6% e 66,3% de umidade, 16,2% e 15,7% de gordura, 10,0% e 12,9% de proteínas, 2,4% e 2,3% de cinzas.

Quanto à acidez titulável durante a armazenagem (Fig. 1), não houve diferença entre os tratamentos na acidez final dos queijos, principalmente entre a acidez do T2 e do T1. No T3 obteve-se a maior acidez titulável, o que também foi encontrado por Van Dender *et al.* (1999), que analisaram o queijo de minas frescal, adicionado de ácido láctico e na fabricação tradicional, e verificaram que a acidez titulável do produto com ácido láctico foi maior.

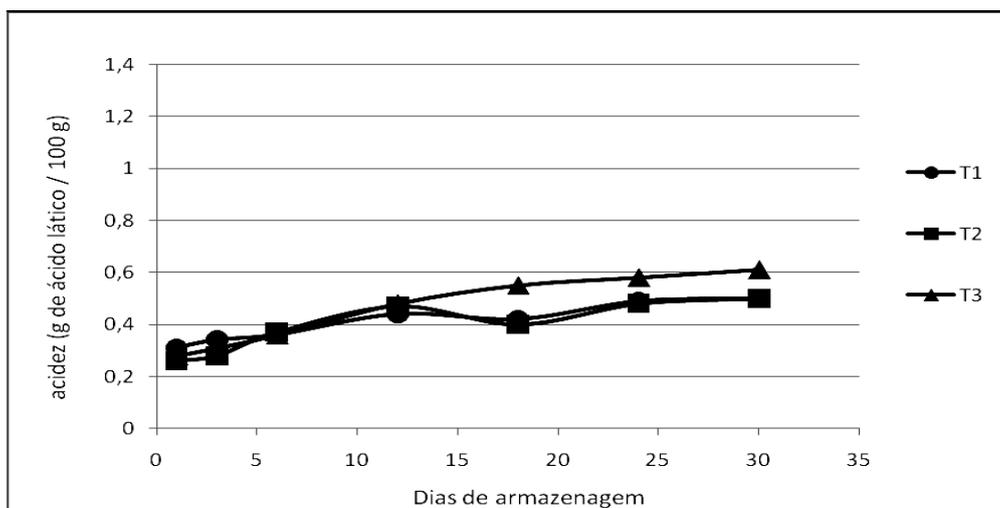


Figura 1. Acidez titulável, em gramas de ácido láctico/100 gramas, ao longo do tempo de estocagem dos queijos, segundo os procedimentos de elaboração. T1: queijo de minas frescal tradicional (controle); T2: queijo de minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*; T3: queijo de minas frescal adicionado de ácido láctico.

Os valores de acidez titulável no 12º dia de fabricação em T2 e T3 foram aproximados. Porém, a acidez no T3 foi maior do que o T2 no 30º dia de fabricação. Lourenço Neto (1998) observou que a acidez titulável dos queijos com a adição de culturas probióticas (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidus* e *Streptococcus thermophilus*) foi maior do que com a adição de ácido láctico, sendo os valores, respectivamente, em torno de 0,60 e 0,45g de ácido láctico/100g no 21º dia de armazenagem. A incorporação de outros microrganismos, inclusive o *S. thermophilus*, que é um rápido acidificante, além do *L. acidophilus*, influenciou o aumento da acidez.

Em T1 e T2 ocorreu aumento semelhante na acidez titulável, ao longo do tempo de estocagem. Resultados semelhantes foram encontrados por Souza (2006), que avaliou a acidez titulável do queijo de minas frescal adicionado de *L. acidophilus* e no tratamento tradicional e constatou que ocorreu aumento significativo da acidez ao longo de 21 dias de armazenagem para os dois tratamentos, porém não ocorreu diferença significativa entre os dois tratamentos. Os valores encontrados por Souza (2006) foram menores que no presente estudo, sendo no primeiro dia e no 21º dia de armazenagem, respectivamente, 0,17g e 0,28g de ácido láctico/100g no tratamento com *L.*

acidophilus e 0,18g e 0,29g de ácido láctico/100g no tratamento tradicional.

Os resultados das análises de pH, durante a armazenagem, nas amostras de queijo de minas frescal, encontram-se na Fig. 2. O T3, com um dia de fabricação, apresentou valores semelhantes aos encontrados na literatura. Campos e Viotto (1999), Furtado e Lourenço Neto (1994) e Lourenço Neto (1998) obtiveram resultados de pH entre 6,1 e 6,76.

A diferença do pH entre T1 e T2 no final da armazenagem foi de 0,01, respectivamente, 6,74 e 6,73. Estes resultados diferem dos encontrados por Souza (2006), ao verificar que, no queijo tradicional, não ocorreu redução significativa no pH ao longo da armazenagem, porém, no queijo adicionado de probiótico, houve redução significativa do pH, em razão da produção de ácidos, principalmente ácido láctico, ao longo da armazenagem. Entretanto, Cichoski *et al.* (2008) quantificaram o pH do queijo prato padrão e do queijo prato com adição de *L. rhamnosus*, sem adição de cultura láctica *starter*, e determinaram que os valores do pH encontrados no queijo probiótico foram maiores, em todos os dias analisados, com tendência a aumento do pH ao longo do tempo de estocagem, e significativamente diferentes do queijo padrão.

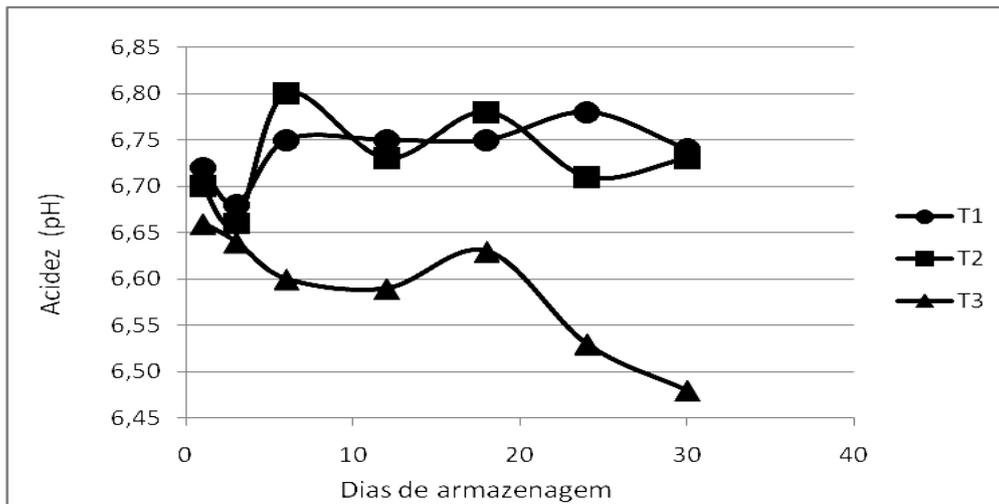


Figura 2. Valores de pH, ao longo do tempo de estocagem dos queijos, segundo os procedimentos de elaboração. T1: queijo de minas frescal tradicional (controle); T2: queijo de minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*; T3: queijo de minas frescal adicionado de ácido láctico.

Em T3 ocorreu a maior redução de pH, sendo de 6,48 com 30 dias de fabricação. Este resultado foi diferente do encontrado por Lourenço Neto (1998), que observou valores mais baixos de pH no queijo de minas frescal com adição de cultura composta de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium bifidus* e *Streptococcus thermophilus*, quando comparado ao queijo adicionado de ácido láctico. Os valores encontrados com 21 dias de produção foram 5,82 (com ácido láctico) e 5,56 (com a cultura probiótica). Lourenço Neto (1998) justificou que a redução de pH pode ser atribuída à produção de ácidos pelas bactérias probióticas que compõem a cultura. Porém, Van Dender *et al.* (1999), ao analisarem o queijo de minas frescal obtido pela adição de ácido láctico e por fabricação tradicional, verificaram que não ocorreu mudança significativa no pH durante a armazenagem por 14 dias. Esses autores encontraram valores de pH menores que no atual estudo, no 14º dia, cujo pH foi de 4,80 nos dois tratamentos.

A adição do *L. acidophilus* não alterou o pH durante o armazenamento dos queijos no atual experimento, sendo o pH com um dia de fabricação de 6,70, e com 30 dias de 6,73. Entretanto, estes resultados foram distintos dos encontrados por Buriti *et al.* (2005) e Ribeiro *et al.* (2009), que obtiveram redução significativa

no pH dos queijos produzidos como esse probiótico.

A contagem de *L. acidophilus* nas amostras do T2 encontra-se na Fig. 3. Observa-se que a contagem de *L. acidophilus* permaneceu alta durante todo o período de armazenagem. Estes resultados assemelham-se aos encontrados por Buriti *et al.* (2005), que realizaram a contagem de *L. acidophilus* durante a armazenagem por 21 dias no queijo de minas frescal e não observaram diferença significativa na contagem, pois a bactéria manteve-se viável e constante durante a armazenagem. O mesmo foi verificado por Ribeiro *et al.* (2009), que estudaram a sobrevivência do *L. acidophilus* adicionada nas concentrações 10^6 , 10^7 , 10^8 UFC/g no queijo de minas frescal e verificaram que o decréscimo da população da bactéria probiótica, ao longo do tempo, não foi significativo.

Há uma recomendação para que a quantidade mínima viável diária dos microrganismos probióticos permaneça entre 10^8 e 10^9 UFC/mL, para que o produto esteja apto para o consumo (Alimentos..., 2008). O T2, a partir da adição inicial de 10^8 UFC/g, foi eficiente para manter a contagem de microrganismos acima desta quantidade, caracterizando o queijo de minas frescal como alimento probiótico, ao longo de todo o período de armazenagem.

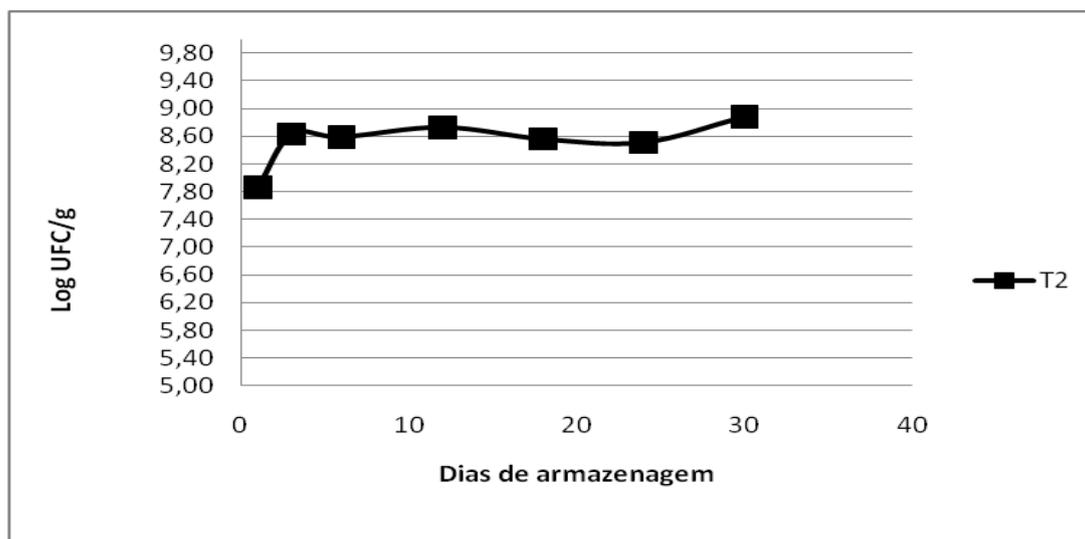


Figura 3. Contagem de *Lactobacillus acidophilus* (Log UFC/g) das amostras do queijo adicionado de *L. acidophilus*, ao longo do tempo de estocagem.

Os resultados das análises sensoriais do queijo de minas frescal, no sétimo dia de fabricação, pelo teste de aceitação, segundo a escala hedônica de nove pontos, e teste de aceitação, segundo a escala de atitude de nove pontos, encontram-se na Tab. 2.

Tabela 2. Resultados da análise sensorial dos queijos pelo teste de aceitação, segundo a escala hedônica de nove pontos, e pelo teste de atitude, segundo a escala de nove pontos, de acordo com os procedimentos de fabricação

| Tratamento | Teste de aceitação (médias) | Teste de atitude (médias) |
|------------|-----------------------------|---------------------------|
| T1 | 7,0b | 6,6ab |
| T2 | 7,8a | 7,1a |
| T3 | 6,4b | 6,0b |

Letras diferentes na coluna indicam que há diferença, pelo teste de Tukey, entre os tratamentos ($P < 0,05$). T1: queijo de minas frescal tradicional (controle); T2: queijo de minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus*; T3: queijo de minas frescal adicionado de ácido láctico.

No teste de aceitação, T2 diferiu significativamente dos demais tratamentos, sendo o mais aceito pelos julgadores, com termo hedônico entre gostei muito e gostei moderadamente. T1 e T3 não diferiram ($P > 0,05$) entre si. No teste de atitude, T2 não diferiu do T1, sendo o mais aceito pelos julgadores, com termo hedônico entre comeria muito

frequentemente e comeria frequentemente (T2) e comeria frequentemente e gostei e comeria de vez em quando (T1). O T3 foi o menos aceito entre os julgadores, com o termo hedônico gostei e comeria de vez em quando.

Nas análises sensoriais, foi verificado que a adição do *L. acidophilus* aumentou a qualidade sensorial do queijo de minas frescal. Outros pesquisadores também verificaram melhores sensoriais com a incorporação de *L. acidophilus*, como Buriti *et al.* (2005), que avaliaram sensorialmente os queijos e concluíram que o queijo contendo o probiótico foi o preferido pelos consumidores, descrito no estudo como o mais agradável. Entretanto, não foi detectada diferença significativa entre os queijos. Souza (2006) avaliou as características do queijo de minas frescal elaborado *L. acidophilus* e também verificou que a adição do microrganismo probiótico resultou em benefícios sensoriais ao produto. Os benefícios da incorporação de *L. acidophilus* foram maiores que os dos queijos produzidos somente com acidificação direta do leite com ácido láctico. Os queijos produzidos com ácido láctico, no atual experimento, também não acrescentaram melhorias sensoriais ao produto.

As características sensoriais desempenharam papel importante na aceitação dos alimentos pelos consumidores. A melhor aceitação das amostras de queijo do tratamento com a adição

do *L. acidophilus* pode ser atribuída à produção de diacetil e acetaldeído pelo *L. acidophilus*, conforme mencionaram Oliveira *et al.* (2002).

CONCLUSÕES

O *L. acidophilus* não alterou as características físico-químicas do queijo, por isso pode ser adicionado, sem prejuízos, à qualidade do produto. O queijo com a adição de ácido láctico apresenta teor de gordura mais alto, e as demais características de composição não se alteram durante os 30 dias de armazenagem. O queijo de minas frescal é adequado para a incorporação da bactéria probiótica *L. acidophilus*, pois a cultura empregada permanece em níveis altos durante todo o período de armazenagem, apresentando populações suficientes para caracterizá-lo como potencialmente probiótico. Nos testes afetivos empregados nas análises sensoriais, o *L. acidophilus* aumenta a qualidade sensorial do queijo de minas frescal, sendo o preferido pelos julgadores. O tratamento composto de ácido láctico é o de pior qualidade sensorial, quando comparado aos demais tratamentos testados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIMENTOS com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecnica_lista>. Acessado em: 25/08/2009.
- BARRETO, G.P.M.; SILVA, N.; SILVA, E.N. *et al.* Quantificação de *Lactobacillus acidophilus*, bifidobactérias e bactérias totais em produtos probióticos comercializados no Brasil. *Braz. J. Food Technol.*, v.6, p.119-126, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e produtos lácteos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 14 dez. 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 1996.
- BURITI, F.C.A.; ROCHA, J.S.; SAAD, S.M. I. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *Int. Dairy J.*, v. 15, p.1279-1288, 2005.
- CAMPOS, A.C.; VIOTTO, W.H. Rendimento do queijo minas frescal fabricado com ácido láctico e diferentes proporções de fermento láctico. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 16., Juiz de Fora. *Anais...*, Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1999. v. 54, p. 105-109.
- CICHOSKI, A.J.; CUNICO, C.; DI LUCCIO, M. *et al.* Efeito da adição de probióticos sobre as características de queijo prato com reduzido teor de gordura fabricado com fibras e lactato de potássio. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v.28, p.214-219, 2008.
- ESTATÍSTICAS do leite. Juiz de Fora: Embrapa/CNPGL, 2010. Disponível em: <<http://www.cnppl.embrapa.br/>>. Acessado em: 5 jan. 2010.
- FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; SWEENEY, P.L.H. *Fundamentals of cheese science*. Maryland: Aspen Publication, 2000. 587p.
- FURTADO, M.M.; LOURENÇO NETO, J.P.M. *Tecnologia de queijos*: manual técnico para a produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.
- GARCIA, G.R.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; MEDEIROS, A.P. *et al.* Inibição do crescimento de bactérias patogênicas por *Lactobacillus acidophilus*. *Rev. Port. Cienc. Vet.*, v.101, p.263-268, 2006.
- LOURENÇO NETO, J.P.M. Uso de culturas lácticas na fabricação de Minas Frescal com alternativa de melhoria de qualidade. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL QUEIJOS FRESCOS, 1., Atibaia, SP, 1998. p.59-75.
- MÉTODOS analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília, DF: LANARA, 1981.
- MÉTODOS físico-químicos para análise de alimentos. 4.ed. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A. et al. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v.38, p.1-21, 2002.

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

PINTO, C.P.; MASCARENHAS, M.O.; FIGUEIREDO, H.M. et al. Queijo Minas Frescal: avaliação da qualidade microbiológica. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 21., Juiz de Fora. *Anais...*, Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 2004. v.59, p.198-201.

RIBEIRO, E.P.; SIMÕES, L.G.; JURKIEWICZ, C.H. Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v.29, p.19-23, 2009.

SOUZA, C.H.B. *Influência de uma cultura 'starter' termofílica sobre a viabilidade de 'Lactobacillus acidophilus' e as características de queijo minas frescal probiótico*. São Paulo, 2006. 110f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

VAN DENDER, A.G.F.; MASSAGUER-ROIG, S.; CAMPOS, S.D.S. Alterações físico-químicas e vida-de-prateleira do queijo Minas frescal tradicional e fabricado pelo método MMV. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 16., Juiz de Fora. *Anais...*, Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, 1999. v.54, p. 67-82.