

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DAS BACTÉRIAS *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* E *BIFIDUMBACTERIUM BIFIDUM* EM QUEIJO MINAS FRESCAL PRODUZIDO A PARTIR DE RETENTATOS.”

Tamy Cristina Gonçalves de Lima¹; Andreza Olira;² Eliana Paula Ribeiro²

¹ Aluna de Iniciação Científica da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT);

² Professora Titular da Escola de Engenharia Mauá (EEM/CEUN-IMT).

Resumo. *Este trabalho teve por objetivo avaliar o pH, a textura e a sobrevivência das bactérias probióticas *L. acidophilus* e *B. bifidum* em queijo minas frescal produzido a partir de retentados, obtidos por ultrafiltração de leite, e a influência do tipo de acidificação na atividade destas bactérias. Foram avaliadas 03 formas de acidificação: adição direta de ácido láctico (QA) e fermento láctico nas concentrações de 1,0% (QB) e 0,5 % (QC). A viabilidade das bactérias probióticas foi determinada por meio de análises microbiológicas realizadas durante o tempo de armazenamento por 30 dias a 5 °C. Os resultados obtidos mostraram que a acidificação pelo ácido láctico ou pelo fermento láctico não exerceu influência significativa ($p > 0,05$) na população de *Lactobacillus acidophilus* e de *Lactobacillus cremoris* mantendo-se a 10^6 nos 3 queijos durante a vida de prateleira, porém influenciou a população de *Bifidumbacterium bifidum* ($p < 0,05$). Para este microorganismo a população microbiana manteve-se em 10^6 no QA, 10^7 no QB e 10^8 no QC. Os valores de pH determinados foram $6,5 \pm 0,1$; $5,3 \pm 0,1$; e $5,3 \pm 0,2$ para os queijos QA, QB e QC respectivamente. O tipo de acidificação utilizado influenciou na variação de pH ao longo do armazenamento ($p < 0,05$) mas não influenciou na textura ($p > 0,05$).*

Introdução

O país caminha velozmente rumo a um perfil demográfico cada vez mais envelhecido. É nítido o envelhecimento demográfico visto que a taxa de fecundidade total está decaindo e que os idosos representam 9,1% (14,5 milhões). Em 2008, para cada grupo de 100 crianças de 0 a 14 anos existem 24,7 idosos de 65 anos ou mais. Em 2050, o quadro muda e para cada 100 crianças de 0 a 14 anos existirão 172,7 idosos. (IBGE, 2010). No período de 1970 a 2000, o crescimento em países desenvolvidos foi de 54%, já em países em desenvolvimento atingiu 123% (ONU, 2010).

É geralmente no grupo da terceira idade que ocorre um acúmulo de casos de enfermidades crônicas. O desenvolvimento de tais enfermidades, associado às mudanças sociais psicológicas, fisiológicas e metabólicas, inerentes ao processo de envelhecimento, pode contribuir de forma negativa no estado nutricional do idoso (Frank & Soares, 2002; Abreu, 2002; Campos, 2000). A combinação de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* na dieta de idosos com desordem intestinal apresentou resultados positivos. Pode-se notar a restauração da flora bacteriana e melhoras dos sintomas clínicos.

Encontrado em diversos alimentos, o amido é a mais importante fonte de carboidratos da dieta. Potencialmente digerível pelas enzimas no trato gastrointestinal, é absorvido na forma de glicose no intestino delgado. Apesar disso, quantidade significativa de amido pode escapar a esta digestão, alcançando o cólon, onde é fermentado pela flora bacteriana. Esta fração, conhecida como amido resistente, tem sido intensamente estudada nos últimos anos devido aos potenciais benefícios à saúde humana. (Walter, Silva, Emanuelli, 1995).

Na ultrafiltração de leite a fração proteica e a gordura são retidas, enquanto a lactose, sais minerais, nitrogênio não proteico e outros componentes menores são eliminados junto com a água no permeado. Minerais tais como cálcio, magnésio, fósforo estão presentes em duas formas: parcialmente ligados à proteína do leite e parcialmente em solução. Durante a ultrafiltração a forma ligada é retida pela membrana e concentrada, enquanto a outra passa

através da membrana, de modo que uma concentração constante é mantida na fase aquosa do retentado (Ribeiro, 1996).

Utilizando ultrafiltração é possível preparar queijo minas frescal com características próprias e coagulá-lo diretamente na própria embalagem (Van Dender, 1995). Além das vantagens econômicas de alto rendimento, a enformagem do queijo diretamente na embalagem de comercialização propicia uma garantia higiênica suplementar ao consumidor, já que elimina os riscos de contaminação associados à manipulação, aumentando, assim a vida útil do produto em relação aos existentes atualmente (Vieira, 2011). No Brasil, existem algumas empresas produzindo queijo minas frescal utilizando o processo de ultrafiltração sendo que uma delas produz desde 1988.

Com a finalidade de a necessidade dos idosos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade das bactérias probióticas *L. acidophilus* e *B. bifidus*, a textura e a variação do pH durante 30 dias de armazenagem a 5 °C em um queijo Minas frescal simbiótico produzido por ultrafiltração e enriquecido em zinco e vitaminas E, K e B6.

Material e Métodos

O leite integral pasteurizado foi aquecido até 55° C em um pasteurizador Tetra Hoyercom capacidade de 100 L, modelo Mix Complet 100, dotado de agitador e sistemas de aquecimento e resfriamento e em seguida, concentrado em uma unidade de ultrafiltração Tetra Alcross MF1, com uma membrana mineral tubular de óxido de zircônio com suporte de carbono grafite, área de 0,2 m² e diâmetro dos poros de 0,1 µm. O leite foi concentrado até o fator de concentração volumétrica de 5:1. A temperatura do leite foi mantida a 55 °C e os valores da pressão de entrada e saída do retentado foram 343 KPa e 264,8 KPa respectivamente, mantendo a pressão da transmembrana constante a 78,4 KPa durante o processamento. O retentado obtido foi aquecido até 68° C por 2 min. e resfriado a 45 °C. Em seguida, foi separado em três partes iguais (QA, QB e QC) para adição dos ingredientes de cada formulação, conforme Tabela 1. A mistura foi realizada com o auxílio de um homogeneizador ULTRA TURRAX e em seguida os queijos foram acondicionados em potes plásticos de 250 ml com tampa e armazenados a 5 °C.

Análises Físico Químicas

a) Determinação de pH

Foram realizadas determinações de pH em quadruplicadas nos queijos utilizando-se um potenciômetro Micronal modelo B374, conforme metodologia descrita por Silva et. al. (1997).

b) Determinação da textura

A textura foi avaliada por meio dos parâmetros de relaxação e ruptura de acordo com Silva et. al (1997), utilizando-se o texturômetro modelo TAXT2 (Texture Profile Analyser – Stable Micro Systems). A coleta de dados foi realizada por meio da utilização do software XY/ Texture Analyser.

O perfil da textura será realizado segundo a metodologia descrita por Rapacci (1997) e Silva (2002). No teste TPM Ruptura utilizou-se um probe acrílico com 30 mm de diâmetro e os valores dos parâmetros para distância que o dispositivo penetra foi de 8 mm a partir da superfície do queijo, 2,0 mm/s para velocidade, 0,98 N para força de contato e 300 s para tempo. Para TPA Relaxação utilizou-se um probe acrílico com 30 mm de diâmetro e os valores dos parâmetros para distância que o dispositivo penetra foi de 8 mm a partir da superfície do queijo, 2,0 mm/s para velocidade, 0,98 N para força de contato e 300 s para tempo,

Tabela 1: Ingredientes utilizados na elaboração dos queijos QA, QB e QC.

Ingredientes	Queijo A (QA)%	Queijo B (QB)%	Queijo C (QC)%
Retentado	100	100	100
Sal (NaCl)	1,2	1,2	1,2
Coalho	0,007	0,007	0,007
Cloreto de cálcio	0,005	0,005	0,005
Zinco (20% de pureza)	0,045	0,045	0,045
Vitamina B6 (100% de pureza)	0,0012	0,0012	0,0012
Vitamina E (50% de pureza)	0,0000132	0,0000132	0,0000132
Vitamina K (5% de pureza)	0,0096	0,0096	0,0096
Hi-Maize®-260	3	3	3
Ácido láctico	0,025	-	-
Fermento láctico	-	1,0	0,5
Lactobacillus acidophilus LA-5	10 ⁹ UFC.g ⁻¹	10 ⁹ UFC.g ⁻¹	10 ⁹ UFC.g ⁻¹
Bifidobacterium Bb-12	10 ⁹ UFC.g ⁻¹	10 ⁹ UFC.g ⁻¹	10 ⁹ UFC.g ⁻¹

Análises Microbiológicas

Foram determinadas as contagens de *Lactobacillus acidophilus*, *bifidumbacterium bifidum* e *Lactobacillus cremoris* (Danisco) nos queijos A (QA), B (QB) e C (QC), durante a vida de prateleira (1,9,14,21 e 28 dias) a 5 °C.

Foram coletadas porções de 10 g coletadas assepticamente, com uma espátula esterilizada, em cada embalagem e homogeneizadas em 90 mL de solução salina 0,1% (diluição 10⁻¹) no homogeneizador Stomacher 400. A partir desta diluição foram realizadas diluições decimais para ter uma contagem mínima na placa de petri de 30 colônias pelo contador eletrônico (Phoenix CP600).

Contagem de *Lactobacillus acidophilus*

A enumeração *Lactobacillus acidophilus* foi feita em duplicata de acordo com as diluições adequadas. A determinação de colônias foi realizada pelo plaqueamento por superfície, inoculando 0,1 mL, com auxílio de uma alça de Drigalski, em placas de Petri com o meio de cultura MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) Ágar. As placas, em duplicata, foram incubadas em jaras de anaerobiose, contendo o gerador de anaerobiose Anaerogen (Oxid) a 43° C por 72 horas em estufa (Fanen 002 Cb) como descreve Jurkiewicz, (1999). A confirmação das colônias realizou-se em observação microscópica da morfologia.

Contagem de *Bifidumbacterim bifidum*

A enumeração de *Bifidumbacterim bifidum* foi feita em duplicata de acordo com as diluições adequadas. Inoculou-se 0,1 mL das respectivas diluições pelo método de plaqueamento por profundidade e adicionou-se o meio de cultura MRS (De Man, Rogosa e Sharpe) Ágar com as soluções de 5% de A, 10 % de B e 5% de C. As placas, em duplicata, foram incubadas em jaras de anaerobiose, contendo o gerador de anaerobiose Anaerogen (Oxid) a 37° C por 72 horas em estufa (Fanen 002 Cb) conforme descrito por Franco et. al., (1996). A confirmação das colônias realizou-se em observação microscópica da morfologia.

Soluções A, B e C para MRS:

Solução A – Solução do antibiótico Dicolixina – Sigma D-9016 (American Generics – Lab. Syntofarma), 100 mg/L, esterilizada por filtração em membrana 0,45 mm.

Solução B – Solução de cloreto de lítio (Lab. Synth), 2 g para cada 18 mL de água destilada, esterilizada por filtração em membrana de 0,45 mm.

Solução C - Solução de L-Cisteína (Casa Americana), 100 g/L, esterilizada por filtração em membrana 0,45 mm.

Contagem de *Lactobacillus cremoris*

A enumeração de *Lactobacillus cremoris* foi feita em duplicata de acordo com as diluições adequadas. Utilizou-se o método de plaqueamento por profundidade mais a sobrecamada e inoculou-se 0,1 mL das respectivas diluições e adicionou-se o meio de cultura PCA (Plate Count Agar), posteriormente, adicionou-se uma subcamada. As placas, em duplicata, foram incubadas a 32°C durante 72 horas em estufa (Fanen 002CB) conforme descreve Franco et. al., (1996). A confirmação das colônias realizou-se em observação microscópica da morfologia,

Planejamento experimental

Foi utilizado o delineamento de blocos completos com 3 fatores e 3 repetições. Os resultados obtidos foram analisados por análise de variância (ANOVA) por meio da utilização do software MINITAB 15.

As médias dos valores foram comparadas usando o teste de Tukey (Sokal And Rohlf, 1979) ao nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos na determinação da população de *Lactobacillus acidophilus* nos queijos A, B e C durante a vida de prateleira são apresentados na figura 1.

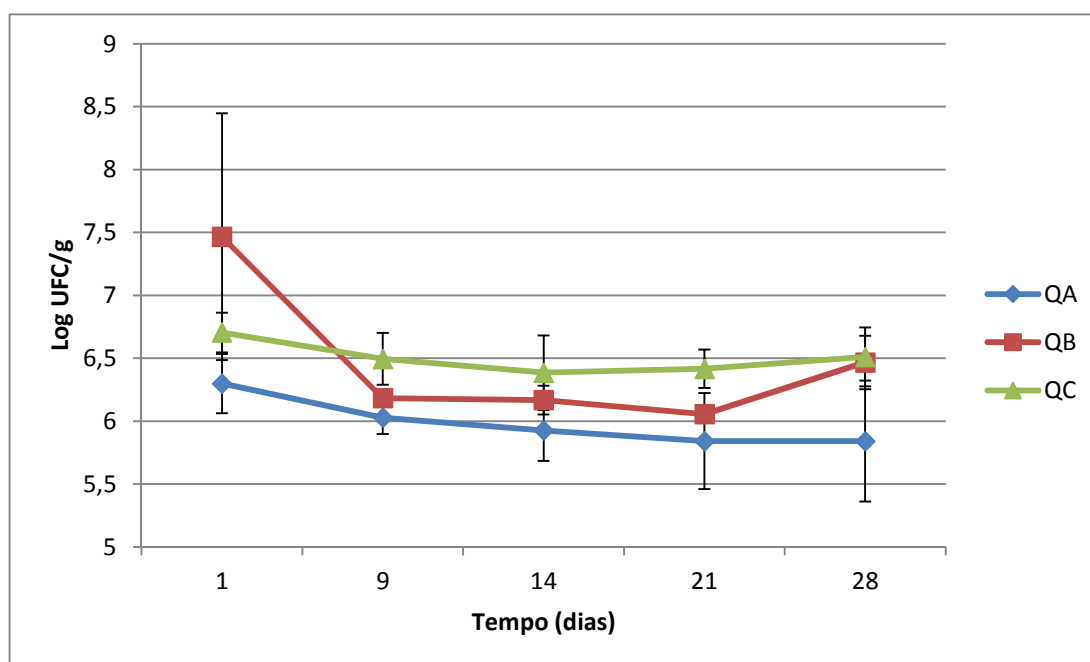


Figura 1: Representação gráfica do comportamento do *Lactobacillus acidophilus* durante a vida de prateleira nos queijos A (acidificação direta), B (1,0% ácido láctico) e C (0,5% ácido láctico).

Observa-se que o comportamento microbiano é praticamente constante em Q.A e Q.C na ordem de 10^6 , porém há redução de dois ciclos logaritmos em Q.B, na primeira contagem para o tempo 14.

Os resultados obtidos na análise de variância mostraram que não existe diferença significativa ($p > 0,05$) entre os queijos em função do tempo, portanto, a adição de ácido láctico ou de fermento láctico em concentrações diferentes não influenciou no desenvolvimento do *Lactobacillus acidophilus*.

Os resultados obtidos na determinação da população de *Bifidumbacterium bifidum* nos queijos A, B e C durante a vida de prateleira é apresentado na figura 2. Ao observar o comportamento do *Bifidumbacterium bifidum*, observa-se que há redução de 2 ciclos logaritmos entre os queijos, ou seja, a média de contagem de colônias do queijo A foi de 10^6 , já o queijo B de 10^7 e o queijo C em 10^8 , ou seja, nos queijos B e C houve maior desenvolvimento do *B. bifidus*. Os resultados da análise de variância mostraram que existe diferença significativa ($p < 0,05$) entre os queijos e em função do tempo. A acidez dos queijos B e C influenciaram no desenvolvimento do crescimento do *B. ifidumbacterium bifidum*. Estes resultados mostram que houve uma maior sobrevivência destas bactérias nos queijos com menor valor de pH e este comportamento pode ser atribuído à presença do fermento láctico.

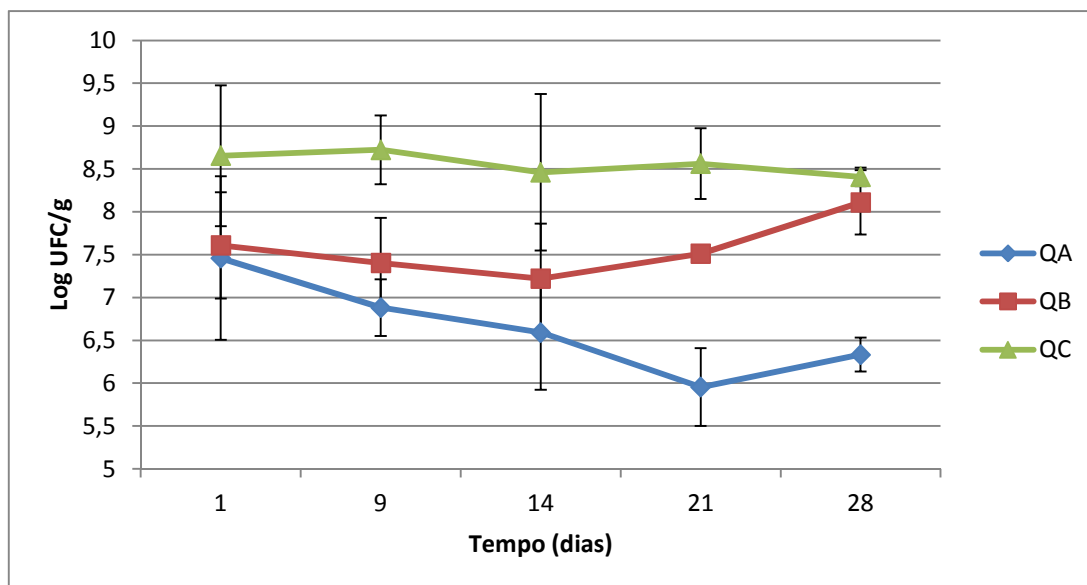


Figura 2: Representação gráfica do comportamento do *Bifidumbacterium bifidum* durante a vida de prateleira nos queijos A (acidificação direta), B (1,0% ácido láctico) e C (0,5% ácido láctico).

O *Lactobacillus cremoris* (fermento láctico) apresentou um comportamento constante na ordem de 10^8 nas concentrações de 1% em Q.B e de 0,5% em Q.C. Aplicou-se ANOVA e o resultado foi que $P = 0,369$, por ser maior que 0,05 não há diferença significativa entre os queijos e também não existe diferença significativa em função do tempo a um nível de significância de 5%. Estes resultados mostram que a concentração de bactérias adicionada (0,5% ou 1,0%) não interferiu na população viável de *Lactobacillus cremoris* ao longo da vida de prateleira.

Os resultados obtidos nas determinações microbiológicas são apresentados na Tabela 2. Os mesmos mostram a quantidade de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidumbacterim bifidum* e *Lactobacillus cremoris* o nos queijos A, B e C ao longo do tempo de armazenagem a 5 °C por 28 dias.

Tabela 2: Resultados obtidos nas determinações microbiológicas realizadas nos queijos QA (ácido láctico), QB (1,0 % de fermento láctico) e QC (0,5% de fermento láctico).

Determinação	QA	QB	QC
	Ácido Láctico	1% Fermento Láctico	0,5% Fermento Láctico
L.A(UFC/g)	1,15E+06 ^a	1,74E+06 ^a	3,35E+06 ^a
B.B. (UFC/g)	4,10E+06 ^a	2,37E+07 ^b	3,51E+08 ^c
L.C(UFC/g)	---	1,52E+08 ^a	3,51E+08 ^a

Onde: letras iguais na mesma linha indicam que não existe diferença significativa ao nível de 5%

Os resultados obtidos concordam com os de Miguel (2009). O autor verificou que em sorvete de iogurte a base de soja e yacon, o mesmo teve melhor desenvolvimento em pH ácido entre 3 e 4. Essa resistência pode ser dada por apresentarem um citoplasma com capacidade tamponante. No pH controle, (6-7) o desenvolvimento foi baixo.

Observa-se que no queijo a, cujo pH é ajustado com ácido láctico, o desenvolvimento de *Lactobacillus acidophilus* e do *Bifidumbacterium bifidum* foi menor.

Para resistir às condições do trato gastrointestinal as culturas probióticas devem apresentar tolerância as condições ácidas do estômago. O pH ótimo do *Lactobacillus acidophilus* é 4,5 e o crescimento é inibido em pH=6. Já para *Lactobacillus cremoris* o pH ótimo é 5,5-6,0 e do *B Bifidumbacterium bifidum* é 6,0.

A produção de componentes metabólicos como ácido láctico pelas bactérias ao longo a vida de prateleira acidifica o queijo. Pode-se dizer que o queijo B e C em que se adicionou o fermento láctico intensificou-se a proteólise, portanto os queijos apresentaram o valor de pH menor. Esperava-se que o QB (1,0% de fermento láctico) apresenta-se pH maior, porém a adição de 1,0 % ou 0,5% não foi significativa.

A redução da cultura de *Lactobacillus acidophilus* de 10⁹UFC/g para 10⁶ UFC/g no QA, QB e QC é dada pelo valor de pH dos queijos que se aproxima do pH de inibição.

O *Bifidumbacterium bifidum* e *Lactobacillus cremoris* apresentaram bom desenvolvimento no QB e QC devido ao fato de se encontrarem em um meio cujo valor de pH é próximo do pH ótimo. No queijo B, com 1,0% de fermento o *Bifidumbacterium bifidum* sofreu duas reduções decimais e o *Lactobacillus cremoris* uma, já em C, ambos sofreram somente uma redução decimal durante a vida de prateleira. O pH de Q.A pode ter inibido o desenvolvimento de *Bifidumbacterium bifidum*, visto que o mesmo é sensível aos valores.

Para ser um alimento probiótico, a legislação considera 10⁸ UFC/g no mínimo, portanto a adição do fermento láctico permite que os queijos B e C sejam considerados probióticos.

Já Vieira et. al (2011) em um estudo sobre a sobrevivência de L. acidiphilus e B. Bacterium em sobremesa láctea, concluiu que o tempo interferia no número de cepas de L. acidiphilus , porém a adição de amido resistente não. Já para o B. Bacterium tem-se a mesma conclusão, que há variação do número de colônias em função do tempo. Crittenden et. al (2000) determinou a sensibilidade do crescimento do gênero Bifidus, em um iogurte simbiótico enriquecido com amido modificado e verificou que o não houve mais crescimento do microorganismo em pH com valor 4,5.

pH e Textura

O valor do pH foi medido de acordo com a vida de prateleira nos 3 queijos e os valores estão representados a Tabela 3. Os resultados representados nessa determinação físico-química demonstra que o tipo e a concentração de acidificante influência no valor de

pH, pois pela análise de variância, obteve-se $p < 0,05$. Portanto, há diferença significativa entre os queijos e existe diferença significativa em função do tempo em nível de significância de 5%.

Os resultados obtidos nas determinações físico-químicas são apresentados na Tabela 3. Esses resultados mostram que o tipo e a concentração do acidificante influenciaram significativamente ($p < 0,05$) nos valores de pH e de acidez. Sendo que o ácido láctico manteve o pH e o fermento láctico diminuiu, como era esperado. As quantidades de 1,0 % e 0,5% não apresentaram diferença significativa no valor do pH. A adição do amido modificado não interfere no valor.

Tabela 3: Resultados obtidos nas determinações físico-químicas realizadas nos queijos QA (ácido láctico), QB (1,0% de fermento láctico) e QC (0,5% de fermento láctico).

Determinação	QA	QB	QC
	Ácido Láctico	1% Fermento Láctico	0,5% Fermento Láctico
pH	6,47±0,1 ^a	5,33±0,1 ^b	5,33±0,2 ^b

Onde: letras iguais na mesma linha indicam que não existe diferença significativa ao nível de 5%.

Vieira (2011) na viabilização de *L. acidophilus* e *B. bacterium* em sobremesa láctea, observou que a adição de amido modificado não influencia o valor de pH. A redução é dada pelo ácido láctico, resultante da fermentação da lactose. Miguel (2009) também observou essa variação em função do tempo.

Os resultados obtidos nas determinações de textura mostram que o tipo e a concentração do acidificante não influenciaram significativamente ($p < 0,05$) nos valores de relaxação nem ruptura. Portanto, a adição de amido modificado e diferentes fermentos não interferem significamente em relação aos queijos e em função do tempo.

A adição de amido modificado e de diferentes concentrações de fermento láctico não interfere na textura. Esperava-se que quanto mais ácido, mais mole, portanto menor força de ruptura, visto que quanto maior a acidificação, maior a produção de enzima proteolíticas, as quais quebram a estrutura do queijo.

Vieira (2011) determinaram que a adição de amido modificado em sobremesa láctea influenciava no valor de textura(N/mm) e isto pode ser atribuído à formação de uma rede mais forte devido à presença das duas gomas e de uma maior concentração de amido resistente, o qual aumentou a retenção de água na rede.

Conclusão

A acidificação dos queijos produzidos por ultrafiltração e enriquecido com vitaminas E, K e B6(DSM), O mineral Zn(DSM) e amido resistente (Novelose – National Starch), por meio de ácido láctico ou fermento láctico nas concentrações de 1,0% e 0,5% não interfere significamente no desenvolvimento de *Lactobacillus acidophilus* de *Lactobacillus cremoris* porém interfere no desenvolvimento de *Bifidumbacterium bifidum*, a nível de significância de 5%.

A adição de 0,5% de fermento láctico permitiu uma maior sobrevivência do *Bifidumbacterium bifidum*.

A adição de amido modificado e de diferentes concentrações de fermento láctico não influenciou significativamente na textura.

A adição de fermento láctico resultou em maior redução de pH no queijo ao longo do seu tempo de armazenamento.

Referências Bibliográficas

- Abreu, G. M. N. (2002) Percepção gustativa, consumo e preferências alimentares de mulheres da 3ª idade: um estudo de caso. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Association Of Official Analytical Chemists. (1984) Official methods of analysis of the A.O.A.C. Ed Sidney Williams. 14 ed., Arlington.
- Atherton, H. V.; Newlander, J. A. (1981) Chemistry and testing of dairy products. 4th ed. Westport, AVI.
- Campos, M.T.S.F.; Monteiro, J.B.R.; Ornelas, A.P.R.C. (2000) Fatores que afetam o consumo alimentar e a nutrição do idoso. *Revista Nutrição*, **13**, 157-165.
- Franco. B,D, Melo, G ; Destro. M, T.; Landgraf. M. (1996) *Microbiologia dos Alimentos*. Ed. Atheneu, São Paulo.
- Frank, A.A.; Soares, E.A. (2011) Nutrição no envelhecer. São Paulo: Editora Atheneu.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em - IBGE –: <www.ibge.com.br> Acessado em: 25/07/2011.
- Jurkiewicz, C.H. (1999) Avaliação das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de queijo Minas frescal elaborado com culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus*. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, SP.
- Miguel, P.D. (2005) Desenvolvimento de sorvete de “iogurte” simbiótico à base de extrato aquoso de soja e de yacon (*Smallanthus sonchifolius*) fermentado com *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, SP.
- Organização Mundial De Saúde. Keep fit for life: meeting the nutritional needs of older persons. Boston, Mass, 1998. Disponível em: <<http://www.who.int/nut/age.htm>>. Acesso em 28 fev. 2010.
- Organização das Nações Unidas (ONU). Disponível em: [HTTP://www.onu.com.br](http://www.onu.com.br)> Acessado em: 25/07/2011
- Ribeiro, E. P.; Simões. L. G.; 1 Jurkiewicz, C. H. (2009) *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, **29**, 19-23.
- Ribeiro, E. P. (1996) Aplicação de ultrafiltração de leite no processo de fabricação de queijo prato. Tese de doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Van Dender, A. G. F. (1995) Contribuição ao estudo do uso da ultrafiltração de leite na fabricação de queijo Minas Frescal. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Walter. M; Silva. L,P; Emanuelli. T. (2005) Amido resistente: carcterísticas físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologia de quantificação. *Ciência Rural*, 35.
- Vieira, T. A. (2011) Avaliação dos efeitos da adição das gomas guar e carragena e de amido resistente na textura e na sobrevivência das bactérias *L. acidophilus* e *B. bifidum* . Dissertação de Mestrado. Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, SP.