

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL**  
**CURSO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**



Dissertação

**LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO COM ADIÇÃO DE AMORA-  
PRETA**

**BIBIANA BITTENCOURT BICCA**

Médica Veterinária

Pelotas, 2022

**BIBIANA BITTENCOURT BICCA**

**LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO COM ADIÇÃO DE AMORA-  
PRETA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Comitê de orientação:  
Orientadora: Profa. Graciela Volz Lopes  
Co-orientadora: Profa. Ângela Maria Fiorentini

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

B583I Bicca, Bibiana Bittencourt

Leite caprino fermentado probiótico com adição de amora-preta / Bibiana Bittencourt Bicca ; Graciela Volz Lopes, orientadora ; Angela Maria Fiorentini, coorientadora. — Pelotas, 2022.

77 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Caprinos. 2. Leite fermentado. 3. Antioxidante. 4. *Bifidobacterium*. 5. *Lactobacillus acidophilus*. I. Lopes, Graciela Volz, orient. II. Fiorentini, Angela Maria, coorient. III. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

## **BIBIANA BITTENCOURT BICCA**

### **LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO COM ADIÇÃO DE AMORA- PRETA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

#### **BANCA EXAMINADORA:**

Profa. Dra. Graciela Volz Lopes – Presidente da Banca  
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Ângela Maria Fiorentini – Membro Titular  
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Dra. Graciele Daiana Funck – Membro Titular  
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPeI)

Prof. Dr. Rodrigo Casquero Cunha – Membro Titular  
Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS)

Dra. Tassiana Ramires – Membro Titular  
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPeI)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar esse curso que, apesar das dificuldades, trouxe muito aprendizado para minha vida. À minha família pela força e carinho, em especial a minha mãe pelo incentivo diário, obrigada!

Agradeço a todos os professores do curso pelos ensinamentos, em especial à minha orientadora, professora Dra. Graciela Volz Lopes, pela paciência e auxílio. Agradeço à co-orientadora, professora Dra. Ângela Maria Fiorentini, e a toda equipe do Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Animal (LPOA) e do Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Agronomia (FAEM). Agradecimento especial a Khadija, pelo apoio e dedicação, o que contribuiu sobremaneira para a realização da pesquisa, muito obrigada!

À Embrapa Pelotas pela colaboração e fornecimento das amostras de amora e ao Laticínio Agrocapri pela cedência dos leites caprinos, os quais foram de grande valia para a elaboração da pesquisa, obrigada.

## RESUMO

BICCA, Bibiana Bittencourt. **Leite caprino fermentado com adição de amora-preta**. 2022. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

O leite caprino apresenta alto valor nutricional, elevada digestibilidade e tem potencial hipoalergênico, sendo indicado para crianças e idosos, ou ainda pessoas que apresentem problemas nutricionais ou gastrointestinais. Além do fornecimento do leite in natura, pode-se ingeri-lo através de seus derivados. Dentre eles, o leite fermentado é uma boa opção, pois além da praticidade no consumo, possui uma vida útil maior. Além disso, há a possibilidade de incorporar frutas e bactérias probióticas, tornando-o um alimento funcional. Diante do exposto, objetivou-se neste estudo produzir um leite caprino fermentado com características funcionais pela adição de probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12/*Lactobacillus acidophilus*-LA-5, e adicionado de polpa de amora-preta. Foram produzidos dois leites fermentados a partir de dois tratamentos, sendo o primeiro tratamento (LFA) com adição de culturas iniciadoras *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, mais polpa de amora-preta. O segundo tratamento (LFPA) consistiu em leite caprino fermentado com adição da combinação de cultura iniciadora e culturas probióticas (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5) e polpa de amora-preta. Para a polpa de amora-preta, o valor de pH foi de 3,311 e a acidez em percentual de ácido cítrico foi de 1,26%. Com relação a antocianinas, observou-se 1614,98 mg para cada 100 g de cianidina-3-glicosídeo e 40252,19 µg do equivalente trolox para cada 100 g de amostra seca para atividade antioxidante. O pH, acidez e viabilidade das culturas iniciadoras e probióticas foram avaliados para LFA e LFPA nos dias 0, 7, 14, 21 e 35. Foram realizadas as análises físico-químicas gordura, proteínas, carboidratos, umidade e cinzas, bem como a análise sensorial com avaliadores não treinados. Com relação aos valores de pH, observou-se uma diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre LFA e LFPA apenas no dia 14 de armazenamento, porém a acidez foi superior para LFPA nos dias 7, 14, 21 e 35. As concentrações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 mantiveram-se em contagens elevadas ( $> 6 \text{ Log UFC.g}^{-1}$ ) durante os 35 dias de armazenamento. A composição de LFPA demonstrou 74,12% de umidade, 4,12% de gordura, 3,54% de proteína, 18,07% de carboidratos e 0,12% de minerais. Na análise sensorial, a cor foi o atributo com maior média, seguido da textura, aspecto global, aroma e sabor. O leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) apresentou um índice de aceitabilidade de 85,5%. Com relação à intenção de compra, 97,5% dos consumidores comprariam o produto, indicando potencial para comercialização. Diante do exposto, comprova-se que é possível produzir um leite caprino fermentado probiótico de amora-preta, o qual mantém suas características funcionais preservadas durante o armazenamento por 35 dias e tem boa aceitação sensorial.

**Palavras-chave:** Caprinos. Leite fermentado. Antioxidante. *Bifidobacterium*.  
*Lactobacillus acidophilus*.

## ABSTRACT

BICCA, Bibiana Bittencourt. **Fermented goat milk with the addition of black berry pulp**. 2022. 77 f. Dissertation (Master's in Food Science and Technology) – Professional Master's Course in Food Science and Technology, Eliseu Maciel College of Agronomy, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

Goat milk has a chemical composition with proteins of high biological value and fatty acids that truly do benefit the human organism, not neglecting its mineral and vitamin content. It is, thus, deservedly regarded as a highly nutritional food. It does have a high digestibility rate because all fatty globules are small-sized if one compares it to bovine milk. Furthermore, they are majorly compounded by short- and middle range chains-based fatty acids. The hypersensitivity to cow milk protein is one of the main causes of food-derived allergies. Casein and alfa-lactoalbumin are the chemical compounds most involved in allergic reactions. In goat milk, the deficiency of the alpha-s1 casein fraction – the main casein in cow milk – and a higher fraction of alpha-s2 casein make this milk less allergenic that might even be hypoallergenic: it becomes recommended, then, towards elderly, children and people with nutritional or gastrointestinal problems. In addition to supplying fresh goat milk, it can be ingested through the manufacture of its derivatives. Among them, fermented milk is a good option because, regardless of marketability traits, it holds onto a larger shelf life. Moreover, there is the further possibility of adding fruits and probiotic bacteria onto the mix, making it a functional food. Given the previously asserted, the aim of this study was to produce a fermented goat milk with functional characteristics by adding probiotics *Bifidobacterium lactis* Bb-12/*Lactobacillus acidophilus* LA-5, with a black berry pulp. Two treatments of fermented goat milk were produced, the first treatment (LFA) with addition of starter cultures *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*, plus the black berry pulp. In the second treatment (LFPA), fermented goat milk with the addition of a combination of starter culture and probiotic organisms, specifically the *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5, plus the black berry pulp. For the black berry pulp, the pH value was 3.311 and the acidity in percentage of citric acid was 1.26%. Regarding anthocyanins, 1614,98 mg was observed for every 100 g of cyanidin-3-glycoside and 40252,19 µg of Trolox equivalent for every 100 g of dry sample for antioxidant activity. The pH, acidity and viability of starter and probiotic organisms were evaluated for LFA and LFPA on the following days: 0, 7, 14, 21 and 35. Furthermore, physicochemical analysis of fat, proteins, carbohydrates, humidity and ash were performed, as well as sensory analysis with non-trained evaluators. Concerning pH estimates, there was a significant difference ( $p \leq 0.05$ ) between LFA and LFPA only on day 14 of storage, but acidity was higher for LFPA on days 7,14, 21 and 35. The concentrations of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 remained at high counts ( $> 6 \text{ Log CFU.g}^{-1}$ ) during the 35 days of storage. The LFPA composition



demonstrated 74.12% moisture, 4.12% fat, 3.54% protein, 18.07% carbohydrates, and 0.12% minerals. During the sensory analysis, color was the attribute with the highest average, followed by texture, overall appearance, flavor and taste. The black berry-based probiotic fermented goat milk (LFPA) showed an acceptability index of 85.5%. Regarding purchase intention, 97.5% of consumers would buy the product, indicating commercial potential. In summary, it is possible to produce a black berry-based probiotic fermented goat milk, which maintains its functional characteristics preserved during storage for 35 days and has a good sensory acceptance.

**Keywords:** Goats. Fermented milk. Antioxidant. *Bifidobacterium*. *Lactobacillus acidophilus*.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Requisitos físico-químicos de leites fermentados.....	24
<b>Tabela 2</b> – Contagem de micro-organismos em leites fermentados.....	24
<b>Tabela 3</b> – Caracterização físico-química da polpa de amora-preta liofilizada.....	40
<b>Tabela 4</b> – Valores de pH e acidez nas duas formulações de leite caprino fermentado ao longo do armazenamento refrigerado.....	44
<b>Tabela 5</b> – Viabilidade das culturas iniciadoras em leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) ao longo do armazenamento refrigerado. ....	47
<b>Tabela 6</b> – Viabilidade das culturas <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 e <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) ao longo do armazenamento refrigerado.....	50

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Fluxograma de fabricação do leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).....35
- Figura 2** – Gráficos apresentando valores de pH (A) e acidez (B) em leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) armazenados durante 35 dias sob refrigeração. Letras diferentes no mesmo tratamento indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).....45
- Figura 3** – Gráfico de comparação da viabilidade ao longo do tempo das culturas iniciadoras em leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA). Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).....48
- Figura 4** – Gráfico comparativo entre a viabilidade de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) armazenados durante 35 dias sob refrigeração. O asterisco no mesmo tempo indica diferença significativa de acordo com o Teste T ( $p \leq 0,05$ ).....52
- Figura 5** – Gráfico demonstrativo sobre a viabilidade ao longo do tempo de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA). Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).....52
- Figura 6** – Gráfico com a classificação dos escores hedônicos (1 a 9) em percentual para leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).....55
- Figura 7** – Gráfico com percentuais de intenção de compra de leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).....56

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
3.1 LEITE CAPRINO.....	16
3.2 BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS (BAL).....	17
3.3 MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS.....	18
3.4 PRINCIPAIS CULTURAS PROBIÓTICAS.....	19
3.5 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS.....	20
3.6 MECANISMOS DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS.....	21
3.7 BENEFÍCIOS DO CONSUMO DE PROBIÓTICOS.....	21
3.8 LEITE FERMENTADO.....	22
3.8.1 Fluxograma de produção de leites fermentados.....	24
3.9 AMORA-PRETA.....	26
<b>4. MANUSCRITO: LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO COM ADIÇÃO DE AMORA-PRETA</b> .....	28
4.1. INTRODUÇÃO.....	29
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.2.1. Local do estudo e origem da matéria-prima.....	32
4.2.2. Polpa de amora-preta liofilizada.....	33
4.2.3. Produção de leite caprino fermentado.....	33
4.2.4. Análise de pH e acidez.....	35
4.2.5. Viabilidade das culturas iniciadoras e culturas probióticas no leite caprino fermentado.....	35
4.2.6. Caracterização do leite caprino fermentado probiótico (LFPA).....	36
4.2.6.1 Gordura.....	37
4.2.6.2. Proteínas e carboidratos.....	37
4.2.6.3. Umidade e cinzas.....	37
4.2.7. Análises microbiológicas.....	37
4.2.8. Análise sensorial.....	38

4.2.9. Análise estatística.....	39
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.3.1. Caracterização físico-química da polpa de amora-preta .....	40
4.3.2. Leite caprino fermentado.....	43
4.3.3. Viabilidade das culturas iniciadoras.....	47
4.3.4. Viabilidade das culturas probióticas.....	50
4.3.5. Análises físico-químicas do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).....	53
4.3.6. Análises de segurança microbiológica.....	54
4.3.7. Análise sensorial.....	54
4.4. CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS.....	58
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>65</b>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
APÊNDICES.....	74
APÊNDICE A.....	75
APÊNDICE B.....	76
APÊNDICE C.....	77

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil apresentou um rebanho caprino de 12,1 milhões de animais, conforme o censo do IBGE do ano de 2020, sendo que 93,9% encontra-se na região Nordeste do país. E, dentro destes, os animais leiteiros representam mais da metade do rebanho nacional (52,61%). O Rio Grande do Sul tem pouca tradição na produção de caprinos e o efetivo deste rebanho equivale a 61.694 animais, o que representa 0,51% do total de animais criados no Brasil (IBGE, 2021). As possíveis causas para o reduzido rebanho caprino no sul do Brasil podem ser a especialização dos produtores em outras atividades, como as lavouras de commodities, além da produção de bovinos de corte e ovinos.

Conforme definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), o leite caprino é um alimento que possui valor nutritivo e contém os elementos necessários à nutrição humana, como carboidratos (lactose), proteínas, lipídeos, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais. Cada 100 g de leite caprino contém em média 4,5 g de carboidratos, 4,1 g de lipídeos, 3,6 g de proteínas, 134 mg de cálcio e 0,1 mg de ferro. O leite caprino apresenta características sensoriais e físico-químicas singulares, sendo que sua gordura e proteína de elevada digestibilidade o tornam atraente aos consumidores com disfunções digestivas.

As bactérias ácido-láticas (BAL) são micro-organismos Gram-positivos, com morfologia de cocos ou bacilos, catalase e oxidase negativas, não produzem esporos e são anaeróbios facultativos (LEVIT *et al.*, 2021), são reconhecidas pela *Food and Drug Administration* (FDA) como GRAS (*Generally Regonized as Safe*) porque sua ingestão não representa risco à saúde do consumidor (LEE *et al.*, 1999), pelo contrário, algumas cepas de BAL possuem funções de promoção da saúde (DE MELO PEREIRA *et al.*, 2018). No grupo das BAL, muitas espécies apresentam propriedades probióticas. Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, conferem benefícios à saúde do consumidor (FAO/WHO, 2001). Para que os benefícios a saúde sejam obtidos, é essencial que o produto probiótico apresente um número de micro-organismos viáveis de pelo menos  $10^6$  UFC/mL ou g do alimento, até o momento do consumo. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(ANVISA) preconiza ainda que a ingestão dessa dose seja diária, para a obtenção máxima dos efeitos benéficos dos probióticos (BRASIL, 2008).

Alimentos que contêm micro-organismos probióticos são considerados alimentos funcionais. Conforme a ANVISA (1999), o alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica. No Brasil, o mercado de alimentos funcionais representa cerca de 15% do mercado de alimentos, com crescimento anual de aproximadamente 20% (COSTA; ROSA, 2016).

O interesse pelo desenvolvimento de produtos contendo micro-organismos probióticos demonstra um grande potencial na promoção da saúde humana e, podem ser facilmente fornecidos aos consumidores por incorporação em produtos lácteos, tais como o iogurte e leites fermentados (AKIN; OZCAN, 2017). A legislação brasileira define os leites fermentados como os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante adição de cultivos de micro-organismos específicos, o que inclui iogurte, leite fermentado ou cultivado, leite acidófilo, kefir, kumys e coalhada (BRASIL, 2007).

O Rio Grande do Sul é classificado como maior produtor nacional de amoreira-preta. A amora-preta pertence ao grupo das pequenas frutas vermelhas que demonstram propriedades benéficas a saúde, devido à sua composição química (RASEIRA; ANTUNES, 2004). A fruta é apreciada pelos consumidores e é descrita como um alimento com diversos benefícios à saúde (DA SILVA *et al.*, 2019). Possui propriedades terapêuticas que são atribuídas à alta concentração de compostos biologicamente ativos, como compostos fenólicos, taninos elágicos e ácido ascórbico (OSZMIAŃSKI *et al.*, 2015), sendo considerada uma fruta com alto potencial antioxidante.

Nesse contexto, a elaboração de um leite caprino fermentado com características funcionais pela adição dos probióticos *Bifidobacterium* e *Lactobacillus acidophilus*, e da amora-preta, torna-se um produto atrativo para o mercado de lácteos na região sul do Brasil.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Produzir um leite caprino fermentado com características funcionais pela adição dos probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, adicionado de polpa de amora-preta.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir um leite caprino fermentado a partir de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* com polpa de amora-preta;
- Desenvolver um leite caprino fermentado com caráter probiótico através da adição da cultura de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, com polpa de amora-preta;
- Determinar as características físico-químicas e potencial antioxidante da polpa de amora-preta;
- Avaliar a viabilidade das culturas iniciadoras e probióticas durante o período de armazenamento nos leites fermentados;
- Determinar as características físico-químicas e microbiológicas do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta;
- Avaliar a aceitação sensorial e a intenção de compra do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 LEITE CAPRINO

O leite caprino tem sido uma parte importante da nutrição humana há milênios, devido à maior semelhança com o leite humano, formação de coalhada mais macia, maior proporção de pequenos glóbulos de gordura do leite e propriedades hipoalergênicas em comparação com o leite bovino (CLARK, GARCIA, 2017). As gorduras do leite caprino são formadas, em grande parte, por ácidos graxos de cadeias médias e curtas. Além disso, os glóbulos de gordura são de tamanho menor comparado ao leite bovino, sendo mais rapidamente absorvidos pelo organismo humano, apresentando maior digestibilidade (CRUZ *et al.*, 2016).

Em relação à alergenicidade, o leite caprino apresenta um conteúdo baixo de  $\alpha$ S1-caseína, sendo esta a principal razão pela qual o leite caprino provoca menos reações alérgicas, quando comparado ao leite bovino (SONG *et al.*, 2020). Segundo a ANVISA (1999), o leite caprino pode ser classificado como alimento funcional, por apresentar altos teores de determinados ácidos graxos benéficos ao organismo, qualidade superior ao leite de vaca em relação a propriedades nutricionais e terapêuticas, além de melhor digestibilidade, alcalinidade, teor de proteínas de alto valor nutritivo e hipoalergenicidade.

As condições de produção, identidade e os requisitos mínimos de qualidade do leite caprino destinado ao consumo humano são estabelecidos através da Instrução Normativa 37 do MAPA (BRASIL, 2000). São considerados como padrões mínimos: 2,8% de proteína bruta, 4,3% de lactose, 8,2% sólidos não gordurosos e 0,7% de cinzas. O leite caprino apresenta uma coloração branco-porcelana e o leite de vaca apresenta uma coloração branco-amarelada devido à ausência de beta carotenos (pigmento alaranjado precursor da vitamina A) (CRUZ *et al.*, 2016).

#### 3.2 BACTÉRIAS ÁCIDO-LÁTICAS (BAL)

A indústria alimentícia tem utilizado bactérias ácido-láticas (BAL) nos mais variados produtos, como culturas iniciadoras ou adjuntas em leites fermentados e queijos, pois elas desempenham um papel de favorecer características sensoriais e tecnológicas, além de promover a conservação inibindo à competição da microbiota deteriorante e de agentes patogênicos. Os derivados do leite são bons meios de crescimento para as BAL, pois contém fatores e substratos indispensáveis para a fermentação, como açúcares e proteínas (ORDOÑEZ *et al.*, 2007; GAVA *et al.*, 2008).

As BAL são bactérias Gram-positivas, com morfologia de cocos ou bacilos, catalase e oxidases negativas, não formadoras de esporos e anaeróbicas facultativas, têm como principal característica a produção de ácido lático pela fermentação de carboidratos (SILVA *et al.*, 2017), mas também peptídeos antimicrobianos, diacetil, peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e dióxido carbônico (CO<sub>2</sub>) (BACHTARZI *et al.*, 2019). Encontram-se em ambientes ricos em nutrientes, onde carboidratos e proteínas são abundantes (VIVEK *et al.*, 2019). As BAL são reconhecidas pela *Food and Drug Administration* (FDA) como GRAS (*Generally Regonized as Safe*) porque sua ingestão não representa risco à saúde do consumidor (LEE *et al.*, 1999), pelo contrário, algumas cepas de BAL possuem funções de promoção da saúde (DE MELO PEREIRA *et al.*, 2018).

As atividades enzimáticas desses micro-organismos contribuem para as propriedades organolépticas, reológicas e nutricionais finais dos produtos fermentados, sendo, portanto, o principal grupo empregado na tecnologia de alimentos (DOS SANTOS CRUXEN *et al.*, 2019). As BAL possuem duas vias principais de fermentação, homofermentativas ou heterofermentativas. Através da primeira, produzem principalmente ácido lático a partir de açúcares, enquanto as BAL heterofermentativas produzem ácido lático, ácido acético ou álcool e dióxido de carbono (MOKOENA *et al.*, 2016).

As BAL apresentam ainda significativo efeito inibitório sobre o crescimento e a produção de toxinas de outras espécies de bactérias, devido às suas propriedades metabólicas, como a produção de ácido lático e bacteriocinas (DA COSTA *et al.*, 2016). Esses micro-organismos podem ser uma alternativa aos aditivos alimentares, devido à produção de compostos que inibem a multiplicação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes (MOHAMED; ÇON, 2021).

Os principais gêneros pertencentes ao grupo de BAL são: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* e *Pediococcus* (ALBAYRAK; DURAN, 2021). As espécies que são consideradas mais importantes para aplicação na área de alimentos, fazem parte da família Lactobacillacea, fermentam carboidratos e têm capacidade em fermentar frutanos extracelulares, amido e glicogênio (ZHENG *et al.*, 2020).

### 3.3 MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

Estudos apontam que algumas cepas de BAL são denominadas probióticas, pois conferem benefícios à saúde dos consumidores (DE MELO PEREIRA *et al.*, 2018). Naturalmente, as BAL estão presentes no leite caprino e seus derivados, o que os torna produtos ideais para adição das mesmas, principalmente de cepas probióticas. Os probióticos são micro-organismos vivos que conferem efeito benéfico ao indivíduo quando consumidos em quantidades adequadas (FAO/WHO, 2001). Segundo a ANVISA (2008) a ingestão mínima deve ser de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na recomendação diária do produto pronto para consumo (100 mL ou 100 g).

Os probióticos possuem funções promotoras de saúde como colonização do trato gastrointestinal, barreira contra adesão de bactérias patogênicas aos tecidos epiteliais do intestino, prevenção da intolerância à lactose, efeitos anticarcinogênicos, reversão dos sintomas de depressão e ansiedade (LEVIT *et al.*, 2020). Somado a isso, observa-se redução dos níveis de colesterol e aumento dos níveis de anticorpos (ILAVENIL *et al.*, 2016).

As espécies de BAL probióticas mais utilizadas pertencem à família Lactobacillaceae: *L. acidophilus*, *L. casei shirota*, *L. casei var. rhamnosus*, *L. casei var. defensis*, *L. paracasei* e *L. lactis*. As não lácticas são do gênero *Bifidobacterium*: *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium animalis* (YERLIKAYA *et al.*, 2021).

Os probióticos devem, necessariamente, resultar em efeitos benéficos mensuráveis sobre a saúde, substanciados por estudos *in vitro* e *in vivo*, sendo uma das etapas a persistência e viabilidade no trato gastrointestinal, que se inicia com a sobrevivência à ação do pH e enzimas salivares, devendo sobreviver as condições ácidas do estômago, os sais biliares e enzimas pancreáticas do

intestino e, ainda multiplicar e aderir-se às células da mucosa intestinal (MARTÍN *et al.*, 2015). A viabilidade dos probióticos no produto é muito importante, pois estes deverão apresentar habilidades para sobreviver às condições de processo, aos fatores intrínsecos do alimento e ao armazenamento do produto (PAPADOPOULOU *et al.*, 2018).

### 3.4 PRINCIPAIS CULTURAS PROBIÓTICAS

Os principais probióticos utilizados na fabricação de alimentos pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e são úteis no controle de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, devido às bacteriocinas e ácidos que produzem (MOKOEMA *et al.*, 2021).

*Lactobacillus* são micro-organismos Gram-positivos, apresentando forma de bastonetes, retos ou curvos. São catalase negativos, anaeróbios ou aerotolerantes ou microaerofílicos, não esporulados e mesofílicos. As condições ótimas para sua multiplicação são geralmente entre 35 °C e 40 °C, e produzem ácido láctico como principal produto da fermentação de carboidratos (GOLDSTEIN *et al.*, 2015), motivo pelo qual resistem em ambientes mais ácidos. O pH ótimo para o crescimento de *Lactobacillus* está entre 4,5 e 6,4, não crescendo em pH inferior a 3,6 (REN *et al.*, 2013).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são gram-positivas, não formadoras de esporos (SALGADO, 2017). Dentro desse gênero, a espécie mais utilizada em produtos lácteos é *B. animalis* subsp. *lactis* por apresentar boa tolerância aos produtos das bactérias, como ácidos que consequentemente reduzem o pH. Estas bactérias são consideradas anaeróbicas e, portanto, a presença de oxigênio influencia negativamente o crescimento e a viabilidade das mesmas (YERLIKAYA *et al.*, 2021). Os probióticos desse gênero podem absorver oligossacarídeos para o metabolismo fermentativo de hexoses e pentoses, produzindo lactato, acetato, bem como ácidos graxos de cadeia curta e propionato. Estes produtos finais são conhecidos por terem efeitos importantes na saúde humana (FLORINDO *et al.*, 2018).

### 3.5 CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS

Para classificar o micro-organismo como probiótico, o mesmo deve atender os seguintes critérios: o gênero ao qual pertence a bactéria ser de origem humana, a estabilidade frente ao ácido e à bile, a capacidade de aderir à mucosa intestinal, a capacidade de colonizar, ao menos temporariamente, o trato intestinal humano, a capacidade de produzir compostos antimicrobianos e ser metabolicamente ativo no intestino. Além de ser segura para uso humano, ou seja, histórico de não patogenicidade e não estar associado a doenças, além da ausência de genes determinantes da resistência aos antimicrobianos (COLLINS; THORNTON; SULLIVAN, 1998; LEE *et al.*, 1999). Para avaliação dos parâmetros de segurança microbiológica, entre os testes realizados, destacam-se: a atividade da enzima Dnase, onde verifica-se a presença da enzima Dnase, a qual degrada o ácido nucléico; a atividade hemolítica que verifica se os micro-organismos produzem hemolisina, com capacidade de lisar hemácias; a atividade da enzima gelatinase, com o intuito de verificar a produção da gelatinase, capaz de hidrolisar o colágeno e alguns peptídeos; e a susceptibilidade a antimicrobianos de uso clínico, com a finalidade de testar os isolados com diferentes antimicrobianos e analisar se estes são sensíveis ou resistentes (FUNCK *et al.*, 2019).

Segundo a ANVISA (2008), a quantidade mínima viável para probióticos deve ser de  $10^8$  a  $10^9$  UFC na recomendação diária do produto pronto para consumo (100 mL ou 100 g), ressaltando-se que valores menores têm sido aceitos, desde que comprovada sua eficácia.

Outras características interessantes que são potencialmente importantes para as BAL probióticas são a presença de fatores de fixação, como fímbrias e pili, e a produção de compostos antimicrobianos, como ácidos, peróxido de hidrogênio ou bacteriocinas, que podem aumentar a capacidade das bactérias de competir contra outros micro-organismos intestinais e podem potencialmente inibir patógenos (SANDERS *et al.*, 2019). Mais de 90% dos genomas de *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *L. helveticus* mostraram genes envolvidos na produção de bacteriocinas (DE FILIPPIS *et al.*, 2020).

### 3.6 MECANISMOS DE AÇÃO DOS PROBIÓTICOS

Os probióticos podem exercer seus efeitos benéficos no organismo a partir de vários mecanismos de ação que podem atuar independentemente ou associados, sendo estes os mais importantes: inibição de patógenos, síntese de substâncias antimicrobianas, modulação da resposta imune, restabelecimento da homeostase microbiana e proteção da barreira epitelial (OELSCHLAEGGER, 2010).

Uma das formas empregadas pelas bactérias probióticas para inibir a atividade das bactérias patogênicas no intestino é por meio da exclusão competitiva, na qual o probiótico compete com o patógeno pelos sítios de adesão na mucosa intestinal, impedindo sua ação transitória. A síntese de substâncias com atividade antimicrobiana é um outro modo de ação. Entre os compostos antimicrobianos produzidos por bactérias probióticas estão as bacteriocinas, ácidos orgânicos voláteis, peróxido de hidrogênio (nos ambientes em que oxigênio está presente), diacetil,  $\beta$ -hidroxipropionaldeído (produzido por *Lactobacillus reuteri*), além de peptídeos (ou proteínas) com atividade bacteriostática ou bactericida (SANDERS; KLAENHAMMER, 2001).

Estudos apontam que os probióticos influenciam na indução da resposta antitumoral mediada por células T e na ativação de macrófagos, assim como, na supressão da formação de tumores de cólon e na inibição de metástases pulmonares (KATO *et al.*, 1988; LOURENÇO *et al.*, 2013; COPPOLA; TURNER, 2004). Os probióticos podem atuar ainda sobre o metabolismo celular, reduzindo a concentração de amônia no organismo e liberando enzimas como a lactase (DE VRESE *et al.*, 2001).

### 3.7 BENEFÍCIOS DO CONSUMO DE PROBIÓTICOS

Dentre os benefícios conferidos à ingestão de probióticos, destacam-se: redução dos níveis de colesterol, pela produção de inibidores da síntese de colesterol e do uso do colesterol pela assimilação e precipitação com sais biliares desconjugados; imunomodulação, devido ao aumento na produção de macrófagos e estimulação ou produção de células supressoras e  $\gamma$ -interferon; bloqueio da adesão de bactérias patogênicas ao epitélio intestinal, atuação na

prevenção e alívio dos sintomas de doenças inflamatórias e câncer intestinal, na modulação de reações alérgicas, na redução de sintomas da intolerância à lactose (GOMES; MALCATA, 1999; KOPP-HOOLIHAN, 2001; PEREIRA; GIBSON, 2002; DE FILIPPIS *et al.*, 2020).

Segundo Vandenplas *et al.* (2015), apesar de o trato gastrointestinal ser o alvo mais importante para o uso de probióticos, para outras áreas do corpo, como a boca, o trato urogenital na prevenção das infecções urinárias, o trato reprodutivo na prevenção das infecções no sistema reprodutivo e na prevenção de doenças dermatológicas em geral.

### 3.8 LEITE FERMENTADO

Os leites fermentados apresentam um elevado potencial no desenvolvimento de novos produtos, principalmente por estar relacionado com a saúde e com a praticidade no consumo. As indústrias de alimentos têm explorado essa matriz devido a suas características, que permite a viabilidade funcional dos ingredientes adicionados, a aceitabilidade dos produtos lácteos, e a relação que os consumidores fazem com o aspecto de saudabilidade (COSTA *et al.*, 2013).

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, definido pela Instrução Normativa Nº 46, estes produtos são resultantes da fermentação realizada com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e/ou outras bactérias ácido-lácticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2007).

Conforme a Instrução Normativa Nº 46 (BRASIL, 2007), os leites fermentados se classificam de acordo com o conteúdo de matéria gorda em:

- a) Com creme: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 6,0g/100g.
- b) Integrais: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda mínima de 3,0g/100g.
- c) Parcialmente desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máxima de 2,9g/100g.

d) Desnatados: aqueles cuja base láctea tenha um conteúdo de matéria gorda máxima de 0,5g/100g.

São obrigatórios na composição dos leites fermentados: leite e/ou leite reconstituído em seu conteúdo de gordura; cultivo de bactérias lácticas e/ou cultivo de bactérias lácticas específicas, correspondendo ao produto desejado (BRASIL, 2007). São opcionais: (I) leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou butteroil, leite em pó, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos, concentrados de soros lácteos; (II) frutas em forma de pedaços, polpa(s), suco(s) e outros preparados à base de frutas; (III) malto dextrinas;(IV) outras substâncias alimentícias tais como: mel, coco, cereais, vegetais, frutas secas, chocolate, especiarias, café, outras, sós ou combinadas; (V) açúcares e/ou glicídios (exceto polialcoóis e polissacarídeos); (VI) cultivos de bactérias lácticas subsidiárias; (VII) amidos ou amidos modificados em uma proporção máxima de 1% (m/m) do produto final. Os ingredientes opcionais não lácteos, sós ou combinados deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) no produto final (BRASIL, 2007). As características físico-químicas dos leites fermentados estão representadas na Tabela 1.

Os leites fermentados devem possuir a consistência firme, pastosa, semisólida ou líquida. A coloração deve ser branca, ou ainda, pode variar de acordo com as substâncias alimentícias e/ou corantes adicionados. O odor e o sabor são característicos, ou também de acordo, com as substâncias alimentícias e/ou substâncias aromatizantes/saborizantes adicionadas. Além disso, as bactérias lácticas devem estar viáveis, ativas e abundantes no produto durante o período de vida útil (BRASIL, 2007). Os leites fermentados deverão cumprir os requisitos considerados na Tabela 2 durante o seu período de validade (BRASIL, 2007).



**Tabela 1** – Requisitos físico-químicos de leites fermentados.

Produto	Matéria gorda láctea (g/100g)*	Acidez (g ácido lático/100g)	Proteínas lácteas (g/100g)*
Com creme	Mín. 6,0	0,6 a 2,0	Mín. 2,9
Integral	3,0 a 5,9	0,6 a 2,0	Mín. 2,9
Parcialmente desnatado	0,6 a 2,9	0,6 a 2,0	Mín. 2,9
Desnatado	Máx.0,5	0,6 a 2,0	Mín. 2,9

Fonte: BRASIL, 2007. \* Os leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados poderão ter conteúdo de matéria gorda e proteínas inferiores, não devendo reduzir-se a uma proporção maior do que a porcentagem de substâncias alimentícias não lácteas, açúcares acompanhados de glicídios (exceto polissacarídeos e polialcoóis) e/ou amidos modificados e/ou maltodextrina e/ou aromatizante / saborizante adicionados.

**Tabela 2** – Contagem de micro-organismos em leites fermentados.

Produto	Contagem de bactérias lácticas totais (UFC/g)	Contagem de leveduras específicas (UFC/g)
logurte	Mín. $10^7$ (*)	-
Leite fermentado	Mín. $10^6$ (*)	-
Leite acidófilo	Mín. $10^7$	-
Kefir	Mín. $10^7$	Mín. $10^7$ (*)
Kumys	Mín. $10^7$	Mín. $10^7$ (*)
Coalhada	Mín. $10^6$	-

Fonte: BRASIL, 2007. (\*) No caso em que se mencione o uso de bifidobactérias, a contagem será de no mínimo  $10^6$  UFC de bifidobactérias/g.

### 3.8.1 Fluxograma de produção de leites fermentados

A principal matéria-prima na elaboração de produtos fermentados é o leite. Este deve ser de alta qualidade, pois influencia diretamente nas características finais desejáveis do produto e na sua vida útil (MARTIN, 2002). Mesmo com o avanço da tecnologia empregada no processo, não é possível fabricar um produto de boa qualidade a partir de uma matéria-prima deficiente (RITTER, 2004). Por tanto, o leite deve ser higienicamente produzido e

manipulado, de composição físico-química adequada, isento de antimicrobianos e preservativos e não deve ser utilizado congelado, para que não altere a textura do produto (REDETEC, 2008).

Alguns defeitos do leite podem impedir seu uso na fabricação de leites fermentados, como por exemplo, a acidez elevada causada pela multiplicação de micro-organismos e conservação inadequada, os quais levam a precipitação do leite no aquecimento. A estocagem por período superior a 24 horas pode deixá-lo com sabor amargo, causado por bactérias psicotróficas. Esse sabor persiste ao tratamento térmico, prejudicando o sabor do produto final. O teor lipídico pode gerar sabor de ranço e tem a mesma característica de se manter pós-tratamento térmico (RITTER, 2004).

As fases de fabricação consistem em preparação preliminar da base de leite, homogeneização, tratamento térmico, fermentação, refrigeração, adição opcional de frutas, envase e armazenagem (TAMINE, 2011). Durante a homogeneização, o leite passa através de um pequeno orifício a elevada pressão no homogeneizador, com o intuito de reduzir o tamanho dos glóbulos de gordura e impedir a coalescência e formação da linha de nata (ORDOÑEZ *et al.* 2007). O tratamento térmico pode variar de 75 °C por 15 segundos, até o tratamento UHT a 133 °C por um segundo. No entanto, as condições ótimas descritas na literatura são de 80 a 85 °C por 30 minutos em sistema descontínuo e de 90 a 95 °C durante cinco minutos em sistemas de fluxo contínuo (ORDOÑEZ *et al.* 2007).

Após a pasteurização do leite, deve-se resfriá-lo à temperatura específica para cada cultura iniciadora. Quando o objetivo é fabricar iogurte, a temperatura deve ser ajustada entre 40 a 45 °C, mas quando se pretende o desenvolvimento de *Bifidobacterium* spp. ou outras bactérias probióticas, a temperatura deve ser de 37 °C (ORDOÑEZ *et al.* 2007).

Quando o leite atinge a temperatura ideal, adiciona-se a cultura iniciadora preparada previamente. Após a adição da cultura iniciadora no leite, o conjunto deve ser novamente homogeneizado, por cerca de dois minutos e o leite deve permanecer em completo repouso por aproximadamente quatro horas (MUNDIM, 2008; REDETEC, 2008). Após esta etapa, podem ser adicionados ingredientes ao leite fermentado, como polpas de frutas, aromatizantes, agentes adoçantes e espessantes, desde que se siga as normas estabelecidas pela

legislação vigente. A adição pode ser feita por processo em batelada ou contínuo, sempre promovendo agitação suficiente para homogeneização de todo o volume fermentado (TAMINE, 2006).

Após a fermentação, os leites fermentados não deverão ser submetidos a qualquer tipo de tratamento térmico, pois o objetivo é que os micro-organismos dos cultivos utilizados permaneçam viáveis, ativos e em concentração igual ou superior à definida pela legislação (no produto final e durante seu prazo de validade) (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Com a finalidade de frear a fermentação, o leite fermentado deve ser submetido a refrigeração a uma temperatura de no máximo 5 °C. O baixo pH e a temperatura de refrigeração são fundamentais para manter o produto por um período de 15 a 20 dias. A temperatura de armazenamento e comercialização deve ser de 2 a 5 °C e, estes produtos devem ser envasados em materiais adequados que não sofram alterações a esta temperatura, de forma a conferir ao produto uma proteção adequada (CARNEIRO *et al.*, 2012). A legislação brasileira obriga que todo leite ou produto lácteo obtido a partir de um leite que não seja o bovino, tenha em seu rótulo a espécie animal que o produziu (CRUZ *et al.*, 2016).

### 3.9 AMORA-PRETA

A amora-preta é uma fruta altamente nutritiva, contendo 85% de água, 10% de carboidratos, com elevado conteúdo de minerais, destacando-se o cálcio e o potássio, e vitaminas A, B e C, é apontada como tônico muscular em atividades esportivas e na prevenção da osteoporose (RASEIRA; ANTUNES, 2004). Uma série de funções e constituintes químicos são relacionados às qualidades da amora-preta, entre estes, o ácido elágico. Esse ácido tem função antimutagênica, anticancerígena e um potente inibidor da indução química do câncer (RASEIRA; ANTUNES, 2004). O principal flavonóide encontrado nos frutos da amoreira-preta são as antocianinas que atuam no organismo como antioxidantes (DA SILVA *et al.*, 2019). São atribuídas às frutas de amoreira-preta propriedades como, o controle de hemorragias em animais e seres humanos, controle da pressão arterial e efeito sedativo, função antioxidante, entre outras (BRAGA *et al.*, 2019).

Os frutos do gênero *Rubus* sp. possuem um sabor mais acentuado para ácido, tornando seu consumo favorecido através das formas processadas ou em adição em produtos lácteos como iogurtes e leites fermentados (SILVA *et al.*, 2019), visto que neste último, pode-se adicionar ingredientes lácteos e também é permitida a adição de substâncias alimentícias, como polpa e suco de frutas, no limite de 30% do produto final (BRASIL, 2007).

## 4 MANUSCRITO

### TÍTULO: LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO COM ADIÇÃO DE AMORA-PRETA

Bibiana Bittencourt Bicca, Khadija Bezerra Massaut, Elisa dos Santos Pereira, Márcia Vizzoto Foster, Wladimir Padilha da Silva, Ângela Maria Fiorentini, Graciela Volz Lopes

#### RESUMO

O leite caprino é considerado um alimento com elevado valor nutricional e grande importância na alimentação pelas suas características de hipoalergenicidade e melhor digestibilidade, quando comparado ao leite bovino. O leite caprino pode ser utilizado para a fabricação de uma grande variedade de produtos lácteos, sendo os queijos os produtos mais comumente comercializados. Objetivou-se neste estudo produzir um leite caprino fermentado com características funcionais pela adição dos probióticos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12/*Lactobacillus acidophilus* LA-5, e adicionado de polpa de amora-preta. Dois leites fermentados a partir de leite caprino foram preparados, diferenciando-se quanto a presença ou não de cultura probiótica. O tratamento LFA consistiu em leite caprino fermentado com adição de culturas iniciadoras (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e polpa de amora-preta; e o tratamento LFPA consistiu em leite caprino fermentado com adição da combinação de cultura iniciadora e culturas probióticas (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5) e polpa de amora-preta. Para a polpa de amora-preta, o valor de pH foi de 3,311 e a acidez em percentual de ácido cítrico foi de 1,26%. Com relação a antocianinas, observou-se 1614,98 mg para cada 100 g de cianidina-3-glicosídeo e 40252,19 µg do equivalente trolox para cada 100 g de amostra seca para atividade antioxidante. O pH, acidez do produto e viabilidade das culturas iniciadoras e probióticas foram avaliados para LFA e LFPA nos dias 0, 7, 14, 21 e 35. No produto final, foram realizadas as análises físico-químicas de gordura, proteínas, carboidratos, umidade e cinzas, bem como a análise sensorial com avaliadores não treinados. Com relação aos valores de pH, observou-se uma diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre LFA e LFPA apenas no dia 14 de armazenamento, porém a acidez foi superior para LFPA nos dias 7, 14, 21 e 35. As concentrações de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, mantiveram-se em contagens elevadas ( $> 6$  Log

UFC.g<sup>-1</sup>), durante os 35 dias de armazenamento. Na análise sensorial do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA), a cor foi o atributo que recebeu maior pontuação, seguido da textura, aspecto global, aroma e sabor, apresentando um índice de aceitabilidade de 85,5%. Com relação à intenção de compra, 97,5% dos consumidores comprariam o produto, indicando potencial para comercialização. Diante do exposto, comprova-se que é possível produzir um leite caprino fermentado probiótico de amora-preta, o qual mantém suas características funcionais preservadas durante o armazenamento por 35 dias e tem boa aceitação sensorial.

**Palavras-chave:** alimento funcional, antioxidante, bactérias ácido-láticas, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

O leite caprino é considerado um alimento com elevado valor nutricional por apresentar uma composição química com proteínas de alto valor biológico e ácidos graxos benéficos ao organismo, além de seu conteúdo de minerais e vitaminas. Apresenta grande importância na alimentação infantil pelas suas características de hipoalergenicidade e digestibilidade elevada devido aos glóbulos de gordura diminuídos e ácidos graxos de cadeia médias e curtas (JUNIOR *et al.*, 2020; SONG *et al.*, 2020).

O fornecimento do leite caprino aos consumidores, além de sua forma fluida, pode ser feito através da elaboração de produtos lácteos, dentre eles o leite fermentado. Conforme a portaria Nº 46 (BRASIL, 2007) que dispõe sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTQI) de Leites Fermentados, estes derivados lácteos, são produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de micro-organismos específicos, os quais devem manter-se viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2007).

Os probióticos são micro-organismos vivos que, quando ingeridos em quantidades suficientes, conferem benefícios à saúde do consumidor (FAO/WHO, 2001; HILL *et al.*, 2014), podendo ser consumidos incorporados aos alimentos fermentados ou como suplementos alimentares. As bactérias mais comuns que têm sido empregados como probióticas e estão disponíveis para as indústrias de alimentos são *Lactobacillus acidophilus* e várias espécies do gênero *Bifidobacterium*, como *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*,

*Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve* e *Bifidobacterium infantis* (RICCI *et al.*, 2017), as quais fazem parte da microbiota intestinal do homem. Estes gêneros são os mais utilizados devido à sua segurança e eficácia comprovada, porém o emprego de *Saccharomyces*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Roseburia*, *Akkermansia* e *Propionibacterium*, também é relatado (AMIGO *et al.*, 2022). Para que haja um impacto benéfico na saúde, os probióticos devem ser capazes de sobreviver em condições adversas do trato gastrointestinal de humanos, incluindo a capacidade de sobreviver à passagem pelas enzimas salivares e ao pH, resistir ao suco gástrico, sais biliares e enzimas pancreáticas do intestino, multiplicando-se e colonizando o intestino (WAN *et al.*, 2018).

Alimentos que contêm micro-organismos probióticos estão incluídos na categoria de alimentos funcionais (FAO/WHO, 2001) e o consumo regular de leites fermentados probióticos pode trazer benefícios aos consumidores. Em relação ao trato gastrointestinal, as bactérias probióticas influenciam a produção de mucina, que atuam na lubrificação e proteção epitelial, reduzindo então a colonização por patógenos. Regulam também a expressão das junções intercelulares entéricas, o que interfere na permeabilidade celular e a integridade da barreira epitelial (AMIGO *et al.*, 2022). Outros benefícios à saúde humana, retratados pelo uso de probióticos são contribuições para o tratamento de doenças respiratórias, atópicas, urogenitais, combate a hipertensão e hipercolesterolemia, controle de doenças inflamatórias intestinais e alergias alimentares, osteoporose, assim como proteção contra o câncer de cólon e bexiga (RANADHEERA *et al.*, 2010).



Além da adição de bactérias probióticas, os leites fermentados também podem ter a adição opcional de diferentes frutas (pedaços, polpa) (BRASIL, 2007), as quais podem fornecer características sensoriais e nutricionais ao produto lácteo (PRESTES *et al.*, 2021). A amora-preta (*Rubus sp.*) apresenta elevado valor nutritivo, contendo carboidratos, minerais (cálcio e potássio), fibras alimentares e um grande número de vitamina essenciais. Além de ser fonte de compostos funcionais, como compostos fenólicos (principalmente antocianinas) (HAYTOWITZ; PEHRSSON, 2018). As antocianinas são pigmentos naturais, responsáveis pelas cores de muitas frutas e vegetais, que apresentam atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas e também desempenham um papel essencial na prevenção de diabetes, câncer, doenças neuronais e cardiovasculares (PEÑA-SANHUEZA *et al.*, 2017). O consumo de amoras tem sido associado a efeitos neuroprotetores, hipoglicêmicos, hipolipidêmicos, antioxidantes, anti-inflamatórios, anticancerígenos e cardioprotetores (CHAVES *et al.*, 2020). Desta forma, além do fruto *in natura* ainda pode-se consumir a amora na forma de sucos, doces, bem como pode ser incorporada na composição em leites fermentados, tornando-os ainda mais nutritivos.

Diante do exposto, no presente estudo objetivou-se produzir leite caprino fermentado com características funcionais pela adição de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12/*Lactobacillus acidophilus* LA-5 e polpa de amora-preta.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1 Local do estudo e origem da matéria-prima

Como matéria-prima para a elaboração dos leites fermentados foi utilizado o leite caprino beneficiado em um laticínio localizado no município de Alegrete, registrado no Serviço de Inspeção Municipal (SIM) de Alegrete. A agroindústria beneficia, em média, 900 litros por dia, provenientes de cerca de 150 cabras em lactação, principalmente da raça Sannen, produzindo queijos, iogurtes, sorvetes e leite pasteurizado. A produção do leite caprino fermentado e as análises foram realizadas no Laboratório de Processamento de Produtos de Origem Animal (LPOA) e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM), na Universidade Federal de Pelotas (UFPeI).

### 4.2.2 Polpa de amora-preta liofilizada

A amora-preta do gênero *Rubus* sp. (cultivar Tupy) utilizada no presente estudo foi cultivada no campo experimental da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS), sem tratamento fitossanitário prévio. Os frutos inteiros foram congelados e liofilizados em Liofilizador Liobras®. Após, a amostra foi triturada em moinho de bolas (Marconi – MA 350) e armazenada em ultra freezer a -80 °C. A caracterização da polpa de amora-preta foi realizada através de: determinação de pH (AOAC, 1995), acidez total titulável (AOAC, 1995), sólidos solúveis totais (AOAC, 1995), compostos fenólicos totais (SWAIN; HILLIS, 1995), antocianinas (FULEKI; FRANCIS, 1968) e atividade antioxidante (VINHOLES *et al.*, 2011; VINHOLES *et al.*, 2014 com adaptações).

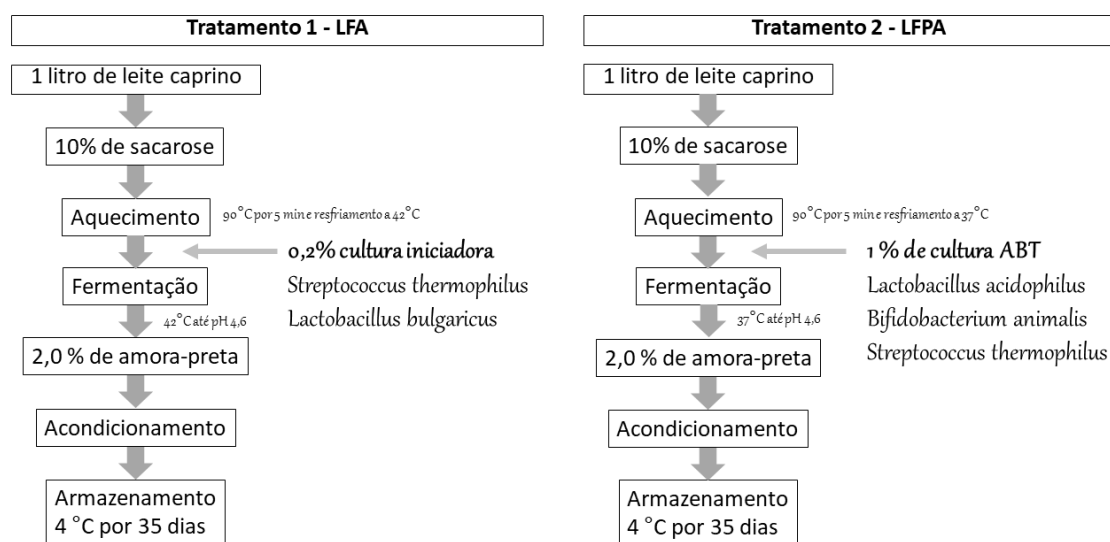
### 4.2.3 Produção de leite caprino fermentado

Foram produzidos dois tratamentos de leite fermentado a partir do leite caprino, sendo:

- **Tratamento 01 - LFA:** leite caprino fermentado a partir de culturas iniciadoras (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e adição de polpa de amora-preta.
- **Tratamento 2 - LFPA:** leite caprino fermentado a partir da combinação de cultura iniciadora (*Streptococcus thermophilus*) e culturas probióticas (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12/ *Lactobacillus acidophilus* LA-5) e adição de polpa de amora-preta.

A elaboração do leite caprino fermentado (LFA), consistiu em 1 L de leite caprino integral pasteurizado, 10% de sacarose, 2,0 % de amora-preta liofilizada e 0,2 % de culturas iniciadoras (Figura 1). Foram utilizadas as culturas iniciadoras comerciais *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Chr. Hansen®). Primeiramente, o leite adicionado de sacarose foi tratado termicamente a 95 °C/5 minutos. Após, resfriou-se a 42 °C para adição das culturas iniciadoras. Em seguida, a formulação foi incubada em iogurteira (FunKitchen®), para ocorrer a fermentação. A cada duas horas foi retirada uma alíquota de 10 mL da amostra e verificado o pH e acidez titulável, durante todo o período de fermentação, até atingir pH 4,6. A fermentação foi interrompida pelo resfriamento rápido do produto em banho de água gelada e armazenado em refrigeração. Depois de resfriado, adicionou-se a amora-preta liofilizada. O leite caprino fermentado de amora-preta foi envasado e mantido em refrigeração a 4 °C por 35 dias para a realização das análises.

Na elaboração do leite caprino fermentado probiótico (LFPA), foi utilizado 1 L de leite caprino integral pasteurizado, 10% de sacarose, 2,0% de amora-preta liofilizada e 1% de culturas iniciadoras e probióticas (Figura 1). Foi utilizada uma combinação de culturas de *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, adquiridas comercialmente (Chr. Hansen®). O leite adicionado de sacarose foi tratado termicamente a 95 °C/5 minutos. Após, resfriou-se a 37 °C para adição das culturas bacterianas. As próximas etapas seguiram conforme o tratamento LFA. Foram realizadas duas repetições para cada tratamento.



**Figura 1** – Fluxograma de fabricação do leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).

#### 4.2.4 Análise de pH e acidez

A determinação do valor de pH foi realizada utilizando pHmetro digital AK151 (AKSO®). Foi realizada a titulometria para determinar a acidez do produto utilizando-se NaOH 0,1 N e fenofaleína como indicador de viragem. Os

resultados foram expressos em percentual de ácido láctico em 100 g de amostra. As análises foram realizadas em duplicata, durante o monitoramento do processo fermentativo e nos tempos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de armazenamento do leite fermentado.

#### **4.2.5 Viabilidade das culturas iniciadoras e culturas probióticas no leite caprino fermentado**

A determinação da viabilidade das culturas iniciadoras e probióticas foi realizada através da contagem de células viáveis nas amostras de leite fermentado, realizada nos dias 0, 7, 14 e 21 e 35 de armazenamento do produto, em duplicata com duas repetições. Para a determinação da contagem de células viáveis, 10 g de amostra foram homogeneizadas em 90 mL de Água Peptonada 0,1%, seguida de diluições decimais seriadas (até  $10^{-10}$ ). Para contagem das culturas iniciadoras do LFA, alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  e  $10^{-7}$  foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar MRS, as quais foram incubadas a 37 °C por 72 h, em condições anaeróbicas. Para contagem das culturas iniciadoras e probióticas de LFPA, alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  e  $10^{-10}$  foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar MRS suplementado com 0,02% de bile bovina para contagem de *Lactobacillus acidophilus*. As placas foram incubadas a 37 °C durante 72 h em condições aeróbicas. Alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  e  $10^{-10}$  foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar MRS-LP cisteína para contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12. As placas foram incubadas a 37 °C durante 72 h em condições anaeróbicas. Por fim, alíquotas de 0,1 mL das diluições  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  e  $10^{-8}$  foram inoculadas em placas de Petri contendo ágar *Streptococcus thermophilus* (ST) para contagem de *Streptococcus*

*thermophilus*. As placas foram incubadas a 30 °C durante 48 h em condições aeróbicas. Os resultados foram expressos em Log UFC.g<sup>-1</sup>.

#### **4.2.6 Caracterização do leite caprino fermentado probiótico (LFPA)**

Foi realizada a caracterização do leite caprino fermentado probiótico no 14º dia de armazenamento refrigerado, avaliando-se gordura, proteínas, carboidratos, umidade e cinzas.

##### **4.2.6.1 Gordura**

O percentual de gordura foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando o hexano como solvente (AOAC, 1995).

##### **4.2.6.2 Proteínas e Carboidratos**

A análise de proteínas foi realizada através da determinação do teor de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl e convertido em proteína bruta pelo fator 6,38 (AOAC, 1995). Já a análise de carboidratos foi realizada por diferença entre 100 e a soma das porcentagens de umidade, cinzas, gordura e proteínas expressos em g.100<sup>-1</sup> (AOAC, 1995).

##### **4.2.6.3 Umidade e Cinzas**

O percentual de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa a 105°C e o percentual de cinzas foi determinado pelo método de incineração em forno mufla a 550°C (AOAC, 1995).

#### **4.2.7 Análises microbiológicas**

Quanto ao aspecto de segurança microbiológica do produto, o leite caprino fermentado probiótico foi analisado aos 14 dias de armazenamento sob

refrigeração, quanto a presença de bolores e leveduras, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp., segundo o método descrito por APHA (2002). Os resultados foram interpretados de acordo com o preconizado pela IN 60 de 2019 (BRASIL, 2019).

Para pesquisa de *Salmonella*, 25 g do produto foram adicionados à 225 mL de Água Peptonada Tamponada (APT), a qual foi incubada a 37 °C por 24 h. Após incubação, alíquotas de 0,1 mL foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) e alíquotas de 1,0 mL para tubos contendo 10 mL de caldo Tetracionato (TT), os quais foram incubados em banho-maria a 42 °C por 24 h e em estufa a 37 °C por 24 h, respectivamente. Alíquotas dos caldos RV e TT foram semeadas em placas de Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Hektoen Entérico (HE) pela técnica de esgotamento, as quais foram incubadas a 37 °C por 24 h. As placas foram examinadas e as colônias características foram submetidas à confirmação bioquímica. Para a enumeração de *Escherichia coli*, diluições decimais seriadas (até 10<sup>-6</sup>) foram preparadas a partir da APT e alíquotas de 0,1 mL das diluições foram adicionadas a placas de Petri estéreis com posterior adição do ágar cromogênico TBX. As placas foram homogeneizadas e incubadas a 44 °C por 24 h e, após a incubação, as colônias típicas β-glucuronidase positivas foram contadas. Para a enumeração de bolores e leveduras, diluições decimais seriadas (até 10<sup>-6</sup>) foram preparadas a partir da APT e alíquotas de 0,1 mL das diluições foram adicionadas a superfície do ágar batata dextrose (BDA), acidificado com ácido tartárico a 10 % até pH 4,0. O inóculo foi espalhado com alça de drigalski e as placas incubadas a 25 °C por 3 a 5 dias, sem inverter. As colônias foram contadas e o resultado expresso em UFC/g.

#### **4.2.8 Análise sensorial**

A análise sensorial do leite caprino fermentado probiótico foi realizada com 79 avaliadores não treinados, escolhidos conforme disponibilidade, no Campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Cada avaliador recebeu cerca de 15 mL do produto em copo plástico descartável, bem como o TCLE (Termo de Consentimento Livre e Esclarecido) e as fichas de avaliação. Através do teste de aceitação foram avaliados os atributos de sabor, aroma, cor, textura e aspecto global, utilizando-se uma escala hedônica estruturada de 9 pontos, com variação de desgostei muitíssimo (1 ponto) a gostei muitíssimo (9 pontos) (ISO, 2014). Paralelamente, a intenção de compra também foi avaliada, através de uma escala de 7 pontos, com variação de compraria sempre (7) para nunca compraria (1). Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, aprovado e registrado na Plataforma Brasil/CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação de Ética), sob registro número 60912222.7.0000.5317.

#### **4.2.9 Análise estatística**

Os dados foram avaliados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade da variância pelo teste de Hartley. Após, os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA e, no caso de diferença significativa, foram comparados pelo teste T ( $p \leq 0,05$ ) ou pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). Para a realização das análises estatísticas, o software JAMOVI versão 2.3.13 foi utilizado.



## 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.3.1 Caracterização físico-química da polpa de amora-preta

A caracterização físico-química da polpa de amora-preta está representada na Tabela 3. O valor de pH foi de 3,311 e a acidez em percentual de ácido cítrico foi de 1,26%. Para sólidos solúveis totais (SST), foi observado valor de 10,2 °Brix. Na análise de antocianinas totais, através da quantificação de cianidina-3-glicosídeo, observou-se 1614,98 mg para cada 100 g de peso seco. Os compostos fenólicos foram expressos em mg do equivalente ácido clorogênico e observou-se 1617,98 mg para cada 100 g de amostra seca. Com relação à atividade antioxidante, foi analisado o equivalente trolox e observou-se 40252,19 µg para cada 100 g de amostra seca.

**Tabela 3** – Caracterização físico-química da polpa de amora-preta liofilizada.

Análises	Resultados
pH	3,311
Acidez (%) <sup>1</sup>	1,26
SST (°Brix) <sup>2</sup>	10,2
Antocianinas <sup>3</sup>	1617,98
Compostos fenólicos <sup>4</sup>	3301,49
Atividade antioxidante <sup>5</sup>	40252,19

<sup>1</sup>Expresso em % de ácido cítrico;

<sup>2</sup>SST: Sólidos solúveis totais;

<sup>3</sup>Antocianinas totais expressa em mg equivalente cianidina-3-glicosídeo/100g de peso seco;

<sup>4</sup>Compostos fenólicos totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100mg de amostra seca;

<sup>5</sup>Atividade antioxidante expressa em µg equivalente trolox/g de amostra seca.

O valor de pH encontrado no presente estudo para a polpa de amora-preta, está conforme relatado por Mota (2006) para as cultivares 'Guarani', 'Tupy' e 'Cherokee', obtidos do banco de germoplasma da Estação Experimental da EPAMIG em Caldas, Minas Gerais, que se apresentaram entre 3,2 e 3,4. Valor superior foi encontrado por Chim *et al.* (2020), que relataram pH de 3,28 para amora-preta. Chim *et al.* (2020) encontraram valor menor de SST que o presente estudo (8,5 °Brix), assim como Hassimotto *et al.* (2008) que encontraram valores de SST levemente menores do que os valores encontrados neste estudo para as cultivares 'Tupy' e 'Guarani' (6,9 e 9,2°Brix), que pode estar relacionado a diferenças nas características climáticas da região de cultivo (Caldas, MG).

Na análise de antocianinas, observou-se um valor elevado quando comparado a outros estudos. Para a cultivar brasileira Tupy, Hassimotto *et al.* (2008) encontraram o valor de  $116,0 \pm 2,0$  mg cianidina-3-glucosídeo/100 g de fruto. Já Chim *et al.* (2020) relataram valores de 137,59 mg cianidina-3-glucosídeo/100g de fruto. No presente estudo foi encontrado 1617,98mg cianidina-3-glicosídeo/100g. Esta ampla variação nos teores de antocianinas de amoras deve-se a possíveis efeitos das condições climáticas da região cultivada, estágio de maturação, espécie e cultivar.

Com relação à compostos fenólicos totais encontrados na polpa de amora-preta, Hassimotto *et al.* (2008) observaram valores na faixa de 192,8 a 499,0 mg equivalentes do ácido gálico (GAE)/100 g e Chim *et al.* (2020) encontraram 569,89 mg/100 g. No presente estudo, o valor dos compostos fenólicos foi 3301,49 mg do equivalente ácido clorogênico/100 mg de amostra seca. Os compostos fenólicos são divididos em dois grupos que se relacionam com sua estrutura química: ácidos fenólicos e flavonóides (antocianinas,

flavonóis, entre outros) (STASZOWSKA-KARKUT; MATERSKA, 2020). Estes compostos trazem benefícios à saúde no metabolismo e crescimento da microbiota, neutralizam os radicais livres, regulam as atividades de enzimas antioxidantes, reduzem o estresse oxidativo, aumentam a atividade do sistema imunológico, entre outros benefícios (PÉREZ-TORRES *et al.*, 2021). Dentre os ácidos fenólicos encontrados na amora-preta, destacam-se os ácidos hidroxibenzoicos e os hidroxicinâmicos (SCHULZ *et al.*, 2019).

O potencial antioxidante da amora-preta difere entre as cultivares e se correlacionam positivamente com o conteúdo total de compostos fenólicos. (SARIBURUN *et al.*, 2010). O valor encontrado de atividade antioxidante da amostra no presente estudo que foi de 40252,19 µg equivalente trolox/g de amostra seca, valor esse bem superior ao encontrado por Vizzoto e Pereira (2011), que foi de 9059 µg equivalente trolox/g de amostra seca. Os antioxidantes desempenham um papel essencial na manutenção da saúde humana, prevenção e tratamento de doenças, devido à sua capacidade de reduzir o estresse oxidativo. Medir a atividade/capacidade antioxidante de alimentos e amostras biológicas é, portanto, essencial não apenas para garantir a qualidade dos alimentos funcionais, mas principalmente para estudar a eficiência dos antioxidantes alimentares na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (MUNTEANU; APETREI, 2021).

### 4.3.2 Leite caprino fermentado

No presente estudo, foram elaborados o leite caprino fermentado, considerado como tratamento LFA, e o leite caprino fermentado probiótico, considerado tratamento LFPA. Foram monitorados o pH e a acidez titulável durante todo o período de fermentação, para ambos (LFA e LFPA) e apresentaram tempo de fermentação de aproximadamente 4 horas.

O pH e a acidez dos leites fermentados também foram avaliados durante os 35 dias de armazenamento sob refrigeração, sendo retiradas alíquotas nos tempos 0, 7, 14, 21 e 35. Com relação aos valores de pH, observa-se uma diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre LFA e LFPA, apenas no dia 14 (Tabela 4). Quanto à acidez, é possível observar que LFPA apresentou acidez superior nos dias 7, 14, 21 e 35 (Tabela 4), possivelmente devido à presença de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 na formulação.

**Tabela 4** – Valores de pH e acidez nas duas formulações de leite caprino fermentado ao longo do armazenamento refrigerado.

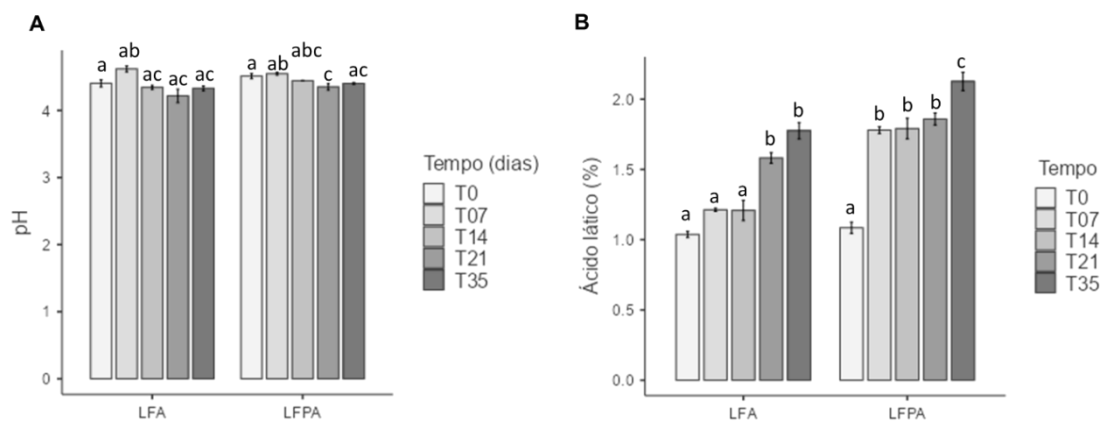
Tempo (dias)	Leite caprino fermentado de amora-preta (LFA)	Leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA)	Valor de p
	pH		
0	4,41 ± 0,10 <sup>a</sup>	4,51 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,150
7	4,62 ± 0,09 <sup>a</sup>	4,55 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,189
14	4,34 ± 0,06 <sup>a</sup>	4,44 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,017
21	4,22 ± 0,20 <sup>a</sup>	4,35 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,269
35	4,33 ± 0,07 <sup>a</sup>	4,40 ± 0,02 <sup>a</sup>	0,113
	Acidez		
0	1,04 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,08 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,339
7	1,21 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,78 ± 0,05 <sup>b</sup>	<0,001
14	1,21 ± 0,14 <sup>a</sup>	1,79 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,001
21	1,58 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,86 ± 0,08 <sup>b</sup>	0,003
35	1,78 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,13 ± 0,13 <sup>b</sup>	0,007

Médias ± desvio padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo Teste T ( $p \leq 0,05$ ) na comparação entre LFA e LFPA.

A Figura 2, mostra a influência do tempo sobre os resultados de pH e acidez. É possível observar que o valor de pH de LFA teve um discreto aumento no dia 7 e depois uma redução significativa no dia 14. A partir do dia 14, não houve diferença significativa até o dia 35. Para LFPA não houve diferença significativa do pH nos tempos 0, 7 e 14, mas observou-se uma redução significativa no dia 21, permanecendo assim no dia 35. No que diz respeito à acidez, observa-se um aumento significativo a partir do dia 21 para LFA, permanecendo assim no dia 35. Para LFPA, é possível observar um aumento

significativo no dia 7, permanecendo no dia 14 e 21 e aumentando de forma significativa novamente no dia 35.



**Figura 2** - Valores de pH (A) e acidez (B) em leite caprino fermentado de amara-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amara-preta (LFPA) armazenados durante 35 dias sob refrigeração. Letras diferentes no mesmo tratamento indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A redução do pH e o consequente aumento da acidez ocorrem pela formação de ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, a partir da fermentação da lactose pelas bactérias ácido lácticas. Quando se utiliza a combinação de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*, *S. thermophilus* inicia o processo fermentativo, entra em seguida na fase de crescimento exponencial, e produz ácido lático diminuindo o pH do meio e proporcionando assim, um ambiente ideal para a multiplicação de *L. bulgaricus* (CAMPOS, 2017; PACHECO, 2019). Esses micro-organismos atuam em cooperação durante a fermentação, não existindo dependência um do outro para sobreviver. O resultado do crescimento conjunto é que se acelera o metabolismo e consegue-se a mesma concentração de ácido lático em menos tempo, do que se crescessem separadamente (THAMER; PENNA 2005).

A cultura *Lactobacillus bulgaricus*, utilizada no presente experimento, é citada na literatura como responsável pelo fenômeno denominado pós-acidificação, que favorece o aumento de acidez durante o armazenamento sob refrigeração (CAMPOS, 2017). Essa acidificação é benéfica ao leite fermentado, pois impede o desenvolvimento de bactérias nocivas à qualidade do produto final e à saúde humana (FARIA *et al.*, 2006).

Moreno-Montoro *et al.* (2018), encontraram valores médios de pH de 4,19 na produção de leite caprino fermentado com *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Lactobacillus plantarum*. De Santis *et al.* (2019), utilizaram *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* na produção de leite fermentado e observaram pH de 4,33 aos 14 dias de armazenamento, estando de acordo com o encontrado nesse estudo para LFA, no mesmo tempo avaliado que foi de 4,34.

Quando se trata de leite fermentado probiótico, Machado *et al.* (2017) observaram valor de pH de 4,53 aos 14 dias de armazenamento para leite caprino fermentado probiótico, produzido com *Lactobacillus acidophilus*. De Santis *et al.* (2019), encontraram valor de pH de 4,53 aos 14 dias de armazenamento no leite caprino fermentado probiótico com *Lactobacillus lactis*, valores que condizem com o encontrado no LFPA desse estudo que foi de 4,44 aos 14 dias de armazenamento.

### 4.3.3 Viabilidade das culturas iniciadoras

A viabilidade das culturas iniciadoras foi avaliada no leite caprino fermentado LFA (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*) e no leite caprino fermentado probiótico LFPA (*Streptococcus thermophilus*) ao longo do tempo, com determinações nos tempos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de armazenamento. A comparação das contagens entre LFA e LFPA pode ser observada na Tabela 5. Observa-se que não houve diferença significativa entre LFA e LFPA no dia 0 ( $p > 0,05$ ), mas nos dias 7, 14, 21 e 35 as contagens de *Streptococcus thermophilus* em LFPA foram significativamente maiores ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 5** – Viabilidade das culturas iniciadoras em leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) ao longo do armazenamento refrigerado.

Tempo (dias)	LFA	LFPA
	<i>S. thermophilus</i> e <i>L. bulgaricus</i> (Log UFC.g <sup>-1</sup> )	<i>S. thermophilus</i> (Log UFC.g <sup>-1</sup> )
0	8,08 ± 0,07 <sup>aA</sup>	8,24 ± 0,17 <sup>aA</sup>
7	7,72 ± 0,12 <sup>aB</sup>	8,08 ± 0,03 <sup>bA</sup>
14	7,35 ± 0,11 <sup>aC</sup>	7,68 ± 0,16 <sup>bB</sup>
21	6,90 ± 0,15 <sup>aD</sup>	7,73 ± 0,19 <sup>bB</sup>
35	6,17 ± 0,09 <sup>aE</sup>	7,53 ± 0,08 <sup>bB</sup>

Médias ± desvio padrão

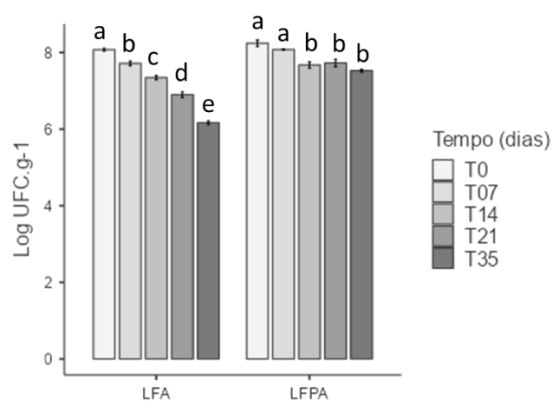
Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo Teste T ( $p \leq 0,05$ ).

Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A influência do tempo na viabilidade das culturas iniciadoras pode ser observada na Tabela 5 e Figura 3. Com relação à LFA, houve uma maior



redução do dia 21 para o dia 35, de 0,73 Log UFC.g<sup>-1</sup>. No entanto, em todos os tempos a redução foi significativa ( $p \leq 0,05$ ). Para *Streptococcus thermophilus* em LFPA, a redução foi significativa ( $p \leq 0,05$ ) no dia 14, e depois permaneceu em torno de 7,7-7,5 Log UFC.g<sup>-1</sup>. Destaca-se que para LFA a redução da viabilidade das culturas iniciadoras foi cerca de 2 Log UFC.g<sup>-1</sup> e para LFPA menos de 1 Log UFC.g<sup>-1</sup>, durante o armazenamento de 35 dias.



**Figura 3** -Viabilidade ao longo do tempo das culturas iniciadoras em leite caprino fermentado de amora-preta (LFA) e em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA). Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Moreno-Montoro *et al.* (2018) produziram diferentes tipos de leites caprinos fermentados, inoculados com as bactérias iniciadoras *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* mais *Lactobacillus plantarum* C4 (probiótica). A viabilidade dos microrganismos presentes na cultura iniciadora foi semelhante quando utilizada sozinha ou em combinação com a cepa probiótica. A concentração média de bactérias viáveis foi de 8,72 Log UFC.mL<sup>-1</sup> para a cultura iniciadora, após seis semanas de armazenamento refrigerado, valor superior ao encontrado para LFA e LFPA aos 35 dias de armazenamento.

Na fabricação de leite fermentado de origem bovina e caprina, *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* foram utilizados por Costa *et al.* (2014). As contagens bacterianas do leite bovino fermentado foram de 9,27 e 8,25 Log UFC.g<sup>-1</sup>, enquanto o leite caprino fermentado apresentou 9,31 e 8,20 Log UFC.g<sup>-1</sup> para *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, respectivamente (COSTA *et al.*, 2014). As mesmas culturas iniciadoras foram utilizadas na fabricação de leite fermentado ovino. Os autores observaram contagens de 9 a 11 Log UFC.mL<sup>-1</sup> para *S. thermophilus* e 8 a 9 Log UFC.mL<sup>-1</sup> para *L. bulgaricus* no dia da produção, diminuindo no final do armazenamento (28 dias) para valores de 8 a 9 Log UFC.mL<sup>-1</sup> e 6 a 7 Log UFC.mL<sup>-1</sup> para *S. thermophilus* e *L. bulgaricus*, respectivamente (BALTHAZAR *et al.*, 2016).

#### 4.3.4 Viabilidade das culturas probióticas

A viabilidade das culturas probióticas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 foi avaliada ao longo do tempo, com determinações nos tempos 0, 7, 14, 21 e 35 dias de armazenamento. A comparação das contagens entre os micro-organismos probióticos pode ser observada na Tabela 6.

**Tabela 6** – Viabilidade das culturas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) ao longo do armazenamento refrigerado.

Tempo (dias)	<i>Bifidobacterium</i> Bb-12 (Log UFC.g <sup>-1</sup> )	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 (Log UFC.g <sup>-1</sup> )
0	11,00 ± 0,11 <sup>aA</sup>	10,21 ± 0,25 <sup>bA</sup>
7	10,40 ± 0,30 <sup>aB</sup>	9,45 ± 0,16 <sup>bB</sup>
14	8,25 ± 0,10 <sup>aC</sup>	8,60 ± 0,14 <sup>aC</sup>
21	7,84 ± 0,14 <sup>aD</sup>	8,13 ± 0,09 <sup>aD</sup>
35	6,27 ± 0,06 <sup>aE</sup>	7,48 ± 0,16 <sup>bE</sup>

Médias ± desvio padrão

Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa pelo Teste T ( $p \leq 0,05$ ).

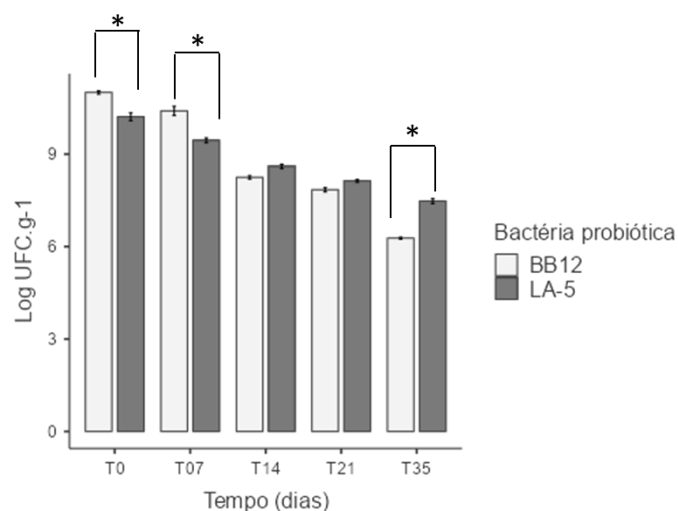
Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Observa-se na Tabela 6, que as concentrações dos isolados de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 mantiveram-se em contagens elevadas ( $> 6$  Log UFC.g<sup>-1</sup>) durante os 35 dias de armazenamento, comprovando o potencial probiótico das culturas no leite caprino fermentado elaborado neste estudo. Na comparação entre os micro-organismos probióticos, observa-se que *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 apresentou uma população maior no dia 0 e 7 ( $p \leq 0,05$ ), porém não diferiu

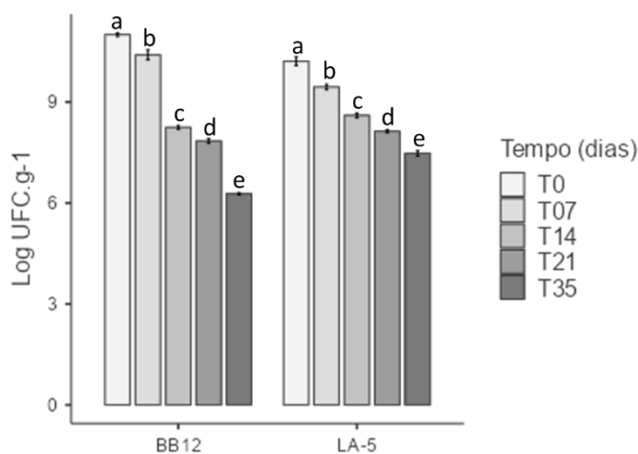
de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 nos dias 14 e 21 ( $p > 0,05$ ). No dia 35, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 apresentou maior contagem de células viáveis que *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 4).

Vários fatores podem afetar a viabilidade de *Bifidobacterium* Bb-12 como acidez, valor de pH, temperatura de armazenamento do produto e teor de oxigênio na embalagem (HOLKEN *et al.*, 2016). Como *Bifidobacterium* é microorganismos anaeróbio estrito, de modo geral, costuma ser mais sensível ao oxigênio quando comparado à *L. acidophilus*, demandando o uso de embalagens apropriadas (FIORENTINI *et al.*, 2011). Diversos estudos apontam que a elevada acidez é a principal causa para a baixa sobrevivência de *Bifidobacterium* em produtos fermentados com valores de pH muito baixos (KONGO *et al.*, 2006; FIORENTINI *et al.*, 2011).

A influência do tempo na viabilidade das culturas probióticas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 pode ser observada na Figura 5. Com relação à *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12, houve uma maior redução nos dias 14 e 35, de 2,15 Log UFC.g<sup>-1</sup> e 1,57 Log UFC.g<sup>-1</sup>, respectivamente. No entanto, em todos os tempos a redução foi significativa ( $p \leq 0,05$ ). Para *Lactobacillus acidophilus* LA-5, a maior redução na concentração bacteriana foi observada aos 14 dias, de 0,85 Log UFC.g<sup>-1</sup>, com reduções significativas ( $p \leq 0,05$ ) em todos os tempos avaliados. Destaca-se que, mesmo havendo reduções nas contagens, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 apresentou viabilidade acima de 7,4 Log UFC.g<sup>-1</sup> aos 35 dias.



**Figura 4** -Comparação da viabilidade de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) armazenados durante 35 dias sob refrigeração. O asterisco no mesmo tempo indica diferença significativa de acordo com o Teste T ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 5** -Viabilidade ao longo do tempo de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 em leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA). Letras diferentes no mesmo grupo indicam diferença significativa de acordo com o Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Machado *et al.* (2017) produziram leite caprino fermentado com *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* e cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus*, adoçado com mel. A contagem de *L. acidophilus* no dia 14 de armazenamento foi de 7,3 Log UFC.mL<sup>-1</sup>, inferior ao observado no presente estudo, no qual a contagem de *L. acidophilus* foi de 8,6 Log UFC.mL<sup>-1</sup>

no mesmo tempo avaliado. Ao produzir leite caprino fermentado com *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, Kongo *et al.* (2006) encontraram 7,8 e 8,9 Log UFC.mL<sup>-1</sup> de *Bifidobacterium* e *L. acidophilus* após a fermentação. No dia da produção, LFPA apresentou valores superiores equivalentes a 11 e 10,21 Log UFC.mL<sup>-1</sup> de *Bifidobacterium* e *L. acidophilus*, respectivamente. Costa *et al.* (2014) observaram contagens de 9,49 Log UFC.mL<sup>-1</sup> para *L. acidophilus* em leite caprino fermentado probiótico após a fermentação.

No estudo desenvolvido por Campos (2017), leites fermentados probióticos com leite UHT e adição de polpa de açaí e polpa de camu-camu nas concentrações de 5, 10, 15 e 20% foram avaliados. *Bifidobacterium* Bb-12 não cresceu e a contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, aos 14 dias de armazenamento refrigerado, foi maior que 6,0 Log UFC.g<sup>-1</sup> em todas as concentrações de polpa testadas, com exceção do leite fermentado com 20% de polpa de camu-camu.

#### **4.3.5 Análises físico-químicas do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA)**

A composição físico-química do leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) demonstrou umidade de 74,12 %, sendo os sólidos totais de 25,88 %. Foi possível observar 4,15 ± 0,06 % de gordura, 3,54 ± 0,05 % de proteínas, 18,07 ± 0,18 % de carboidratos e 0,12 ± 0,01 % de minerais. Machado *et al.* (2017) encontraram 17,47 g/100g de sólidos totais, 3,75 de proteínas e 0,79 g/100g de minerais aos 14 dias de armazenamento. O leite fermentado analisado por De Santis *et al.* (2019), apresentou aos 14 dias de armazenamento, 88,74 % de umidade, 2,49 % de proteína e 11,26 % de sólidos totais. Em relação à gordura do presente estudo, o valor foi superior ao que De

Santis *et al.* (2019) encontraram de 3,65% e ao que Machado *et al.* (2017) encontraram de 3 g/100g.

#### **4.3.6 Análises de segurança microbiológica**

As análises microbiológicas de *Salmonella* spp., contagem de bolores e leveduras e *Escherichia coli* indicam que o leite caprino fermentado probiótico (LFPA) apresentou resultados em concordância com os padrões estabelecidos pela IN 60 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 2019, estando apto para avaliação sensorial.

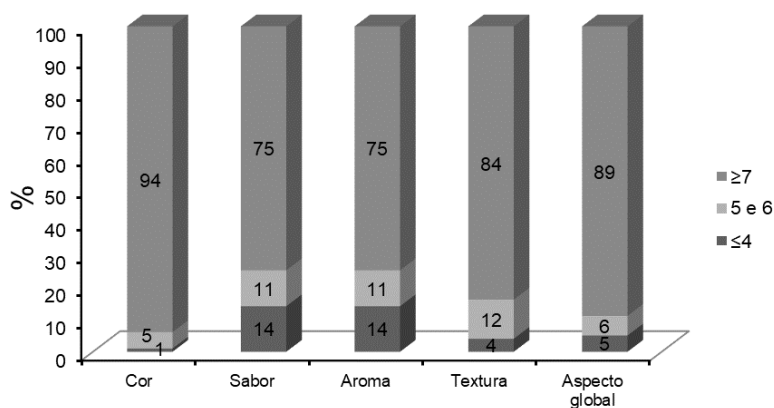
#### **4.3.7 Análise sensorial**

A avaliação sensorial demonstrou que a maioria dos consumidores atribuiu notas de 7 a 9 para os atributos avaliados no teste de aceitação, ao utilizar a escala hedônica de 9 pontos onde 1 é desgostei muitíssimo e 9 é gostei muitíssimo (Figura 6). Os valores médios para cada atributo avaliado correspondem a gostei regularmente/gostei muito/gostei muitíssimo, sendo a cor o atributo sensorial com maior média (8,3), seguido da textura (7,8), aspecto global (7,7), aroma (7,1) e sabor (7,0). O leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA) apresentou um índice de aceitabilidade de 85,5%.

A análise de cor é importante por influenciar de forma significativa a aceitação e qualidade do produto (WADHWANI; McMAHON, 2012). A avaliação do aroma é importante quando se trata de derivados do leite caprino, em razão do seu odor característico (MORGAN; GABORIT, 2001). Contudo, o fato de o leite caprino ser utilizado na elaboração do leite fermentado parece não ter afetado seu aroma, já que 59 pessoas, das 79 que avaliaram o produto, o classificaram como “gostei muitíssimo e gostei regularmente”. O sabor do leite

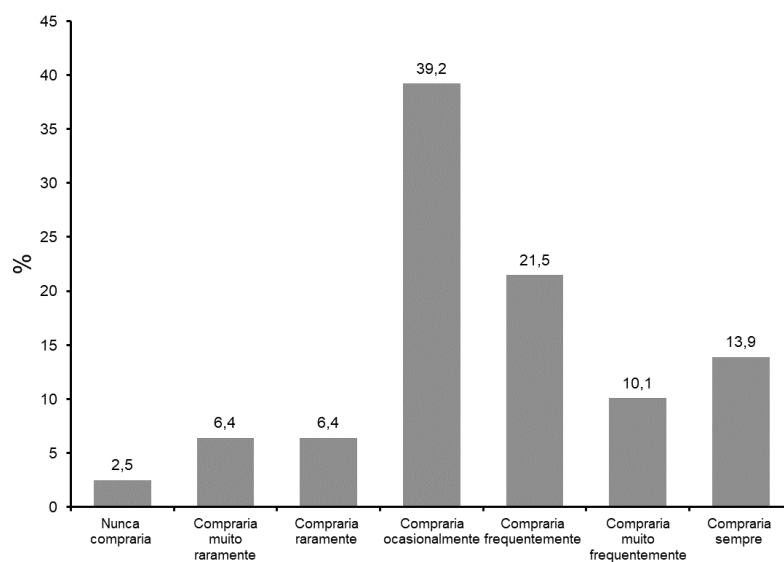
caprino é bastante característico, oriundo da presença dos ácidos graxos de cadeia curta (capróico, caprílico e cáprico) (MORGAN; GABORIT, 2001). Entretanto, é relatado que o processamento do leite caprino reduz esse sabor desagradável, como pode ser confirmado neste estudo, pois 74% dos avaliadores atribuíram notas entre “gostei muitíssimo” e “gostei regularmente”.

Com relação à intenção de compra, 97,5% dos consumidores comprariam o produto, sendo que 39,2% comprariam ocasionalmente, 21,5% comprariam frequentemente, 23,9% comprariam muito frequentemente ou sempre. Apenas 2,5% dos consumidores nunca comprariam o produto, indicando potencial para comercialização (Figura 7).



**Figura 6** – Classificação dos escores hedônicos (1 a 9) em percentual para leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).





**Figura 7** – Percentuais de intenção de compra de leite caprino fermentado probiótico de amora-preta (LFPA).

#### 4.4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o leite caprino fermentado probiótico com polpa de amora-preta manteve a viabilidade das culturas *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 durante os 35 dias de armazenamento em refrigeração, o que propiciará benefícios à saúde do consumidor se ingerido com frequência e quantidades adequadas. A adição da polpa de amora-preta, devido aos seus teores de antocianinas e compostos fenólicos, conferiu a característica de um alimento antioxidante, contribuiu para uma boa avaliação nos atributos cor e aspecto global do produto, durante a análise sensorial, e amenizou o sabor da gordura do leite caprino que foi imperceptível pelos avaliadores. Por fim, o índice de aceitabilidade do produto foi de 85,5% e 97,5% dos consumidores comprariam o produto, demonstrando o potencial do uso de novas tecnologias no processamento do leite caprino e produtos lácteos caprinos, bem como no desenvolvimento de produtos funcionais.

## REFERÊNCIAS

AMIGO, L. *et al.* List of contributors. In: CAZARIN, C.B.B., *et al.* **Bioactive Food Components Activity in Mechanist Approach**. Academic Press. 2022.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16ª edição, 1995.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington. 2002.

BALTHAZAR, C.F.; CONTE JUNIOR, C.A.; MORAES, J.; COSTA, M.P.; RAICES, R.S.L.; FRANCO, R.M.; CRUZ, A.G.; SILVA, A.C.O. Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. **Journal of Dairy Science**, v. 99. n. 6, p. 4160-4168, jun. 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-10072

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados**. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília. 2007.

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília. 2019.

CAMPOS, Daniela C. dos Santos. **Compostos bioativos em produtos lácteos adicionados de polpa de açaí e camu-camu suplementados com bactérias probióticas**. 117p. Tese de doutorado. Universidade Federal de Roraima. Boa Vista, 2017.

CHAVES V.C.; SOARES, M.S.P.; SPOHR, L.; TEIXEIRA, F.; VIEIRA, A.; CONSTANTINO, L.S.; PIZZOL, F.D.; LENCINA, C.L.; SPANEVELLO, R.M.; FREITAS, M.P.; SIMÕES, C.M.O.; RAGINATTO, F.H.; STEFANELLO, F.M. Blackberry extract

improves behavioral and neurochemical dysfunctions in a ketamine-induced rat model of mania. **Neuroscience Letters**, v. 714, p. 134566, jan. 2020. DOI: 10.1016/j.neulet.2019.134566

CHIM, J.F.; RODRIGUES, R.S.; ZAMBIAZI, R. **Caracterização Físico- Química, fitoquímica e atividade antioxidante de cultivares de amora-preta da Região Sul do Rio Grande do Sul**. 7º Simpósio de Segurança Alimentar. Anais, 2020.

COSTA, M.P.; BALTHAZAR, C.F.; FRANCO, E.T.; CRUZ, A.G.; CONTE JUNIOR, C.A. Changes on expected taste perception of probiotic and conventional yogurts made from goat milk after rapidly repeated exposure. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2610-2618, may. 2014. DOI: 10.31168/JDS.2013-7617

DE SANTIS, D.; GIACINTI, G.; CHEMELLO, G.; FRANGIPANE, M.T. Improvement of the Sensory Characteristics of Goat Milk Yogurt. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 8, p. 2289-2296, aug. 2019. DOI: 10.1111/1750-3841.14692

FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of United Nations; World Health Organization (2001). **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina.

FARIA, C.P.; BENEDET, H.D.; GUERROUE, J.L. Análise de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei* e suplementado com Bifidobacterium longum. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 3, jul./set. 2006. DOI: 10.5433/1679-0359.2006v27n3p407

FIORENTINI, A.M.; BALLUS, C.A.; OLIVEIRA, M.L.; CUNHA, M.F.; KLAJN, V.M. The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract refrigerated storage. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 597-607, jul./sept. 2011. DOI: 10.1590/S0101-20612011000300008

FULEKI, T.; FRANCIS, F.J. Quantitative Methods for Anthocyanins 1. Extraction and Determination of Total Anthocyanins in Cranberries. **Journal of Food Science**, v. 33, n. 1, p. 72-77, jan. 1968. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1968.tb00887.x

HASSIMOTTO, N.M.A.; MOTA, R.V.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 3, p. 702-708, sept. 2008. DOI: 10.1590/S0101-20612008000300029

HAYTOWITZ, D.B.; PEHRSSON, P.R. USDA's National Food and Nutrient Analysis Program (NFNAP) produces high-quality data for USDA food composition databases: Two decades of collaboration. **Food Chemistry**, v. 238, p. 134-138, jan. 2018. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.11.082

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, p. 506–514, aug. 2014. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66

HOLKEM, A.T.; RADDATZ, G.C.; NUNES, G.L.; CICHOSKI, A.J.; JACOB-LOPES, E.; GROSSO, C.R.F.; MENEZES, C.R. Development and characterization of alginate microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. **LWT**, v. 71, p. 302-308, sep. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.012>

ISO. Sensory analysis: **Methodology-General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area**. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization. 2014

JUNIOR, I.J.D.; SIQUEIRA, K.B.; STOCK, L.A. **Produção, composição e processamento de leite de cabra no Brasil**. EMBRAPA - Circular Técnica 122, Juiz de Fora - Minas Gerais, Agosto de 2020. Disponível

em:<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/218969/1/CT-122-Leite-de-Cabra.pdf>

KONGO, J.M.; GOMES, A.M.; MALCATA, F.X. Manufacturing of fermented goat milk with a mixed starter culture of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* in a controlled bioreactor. **Letters in Applied Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 595-599, jun. 2006. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2006.01882.x

MACHADO, T.A.D.G.; OLIVEIRA, M.E.G.; CAMPOS, M.I.F.; ASSIS, P.O.A.; SOUZA, E.L.; MADRUGA, M.S.; PACHECO, M.T.B.; PINTADO, M.M.E., QUEIROGA, R.C.R.E. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*, **LWT**, v. 80, p. 221-229, July 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.013>

MORENO-MONTORO, M.; NAVARRO-ALARCÓN, M.; BERGILLOS-MECA, T.; GIMÉNEZ-MARTÍNEZ, R.; SÁNCHEZ-HERNÁNDEZ, S.; OLALLA-HERRERA, M. Physicochemical, Nutritional, and Organoleptic Characterization of a Skimmed Goat Milk Fermented with the Probiotic Strain *Lactobacillus plantarum* C4. **Nutrients**, v. 10, n. 5, p. 633, may. 2018. DOI: 10.3390/nu10050633

MORGAN, F.; GABORIT, P. The typical flavour of goat milk products: technological aspects. **International Journal of Dairy Technology**, v. 54, n.1, p. 38-40, jun. 2001. DOI: 10.1046/j.1471-0307.2001.00006.x

MOTA, R.V. Physico and chemical characterisation of blackberry jam. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 3, p. 539-543, jul./set. 2006.

MUNTEANU, I.G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, mar. 2021. DOI: 10.3390/ijms22073380

PACHECO, Déborah Lucena. **Avaliação do desenvolvimento de probióticos de leite fermentado em diferentes tempos de armazenamento. 2019. 17f.** Trabalho

de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, 2019.

PEÑA-SANHUEZA D.; INOSTROZA-BLANCHETEAU, C.; RIBERA-FONSECA, A.; REYES-DÍAZ, M. **Anthocyanins in berries and their potential use in human health.** In: **Shiomi N., Waisundara V., editors. Superfood and Functional Food—The Development of Superfoods and Their Roles as Medicine.** IntechOpen; Temuco, Chile: 2017

PÉREZ-TORRES, I.; CASTREJÓN-TÉLLEZ, V.; SOTO, M.E.; RUBIO-RUIZ, M.E.; MANZANO-PECH, L.; GUARNER-LANS, V. Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1786, feb. 2021. DOI: 10.3390/ijms22041786

PRESTES, A.A.; VERRUCK, S.; VARGAS, M.O.; CANELLA, M.H.M.; SILVA, C.C.; BARROS, E.L.S.; DANTAS, A.; OLIVEIRA, L.V.A.; MARAN, B.M.; MATOS, M.; HELM, C.V.; PRUDENCIO, E.S. Influence of guabiroba pulp (*campomanesia xanthocarpa* o. berg) added to fermented milk on probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 141, p. 110-135, mar. 2021. DOI: 10.1016/j.foodres.2021.110135

RANADHEERA, R.D.C.S.; BAINES, S.K.; ADAMS, M.C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 1-7, jan. 2010. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.009

RICCI, A.; ALLENDE, A.; BOLTON, D.; CHEMALY, M.; DAVIES, R.; GIRONES, R.; KOUTSOUMANIS, K.; LINDQVIST, R.; NØRRUNG, B.; ROBERTSON, L.; *et al.* Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 6: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 1, p. e05131, jan. 2018. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5131

SARIBURUN, E.; SAHIN, S.; DEMIR, C.; TÜRK BEN, C.; UYLASER, V. Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivar. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 4, p. C328-335, may. 2010. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01571.x

SCHULZ, M.; SERAGLIO, S.K.T.; BETTA, F.D.; NEHRING, P.; VALESE, A.C.; DAGUER, H.; GONZAGA, L.V.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. **Food Research International**, v. 122, p. 627-634, aug. 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.034

SONG, N.; CHEN, Y.; LUO, J.; HUANG, L.; TIAN, H.; LI, C.; LOOR, J.L. Negative regulation of  $\alpha$ S1-casein (CSN1S1) improves  $\beta$ -casein content and reduces allergy potential in goat milk. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 10, p. 9561-9572, oct. 2020. DOI: 10.3168/jds.2020-18595

STASZOWSKA-KARKUT, M.; MATERSKA, M. Phenolic Composition, Mineral Content, and Beneficial Bioactivities of Leaf Extracts from Black Currant (*Ribes nigrum* L.), Raspberry (*Rubus idaeus*), and Aronia (*Aronia melanocarpa*). **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 463, feb. 2020. DOI: 10.3390/nu1202463

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The Phenolic Constituents of *Prunus Domestica*. I. the Quantitative Analysis of Phenolic Constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, n. 1, p. 63-68, jan. 1959. DOI: 10.1002/jsfa.2740100110

THAMER, K.G.; PENNA, A.L.B. Efeito do teor de soro, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias lácticas probióticas em bebidas fermentadas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 3, p. 393-400, set. 2005. DOI: 10.1590/S1516-93322005000300013

VIEITEZ, I.; IRIGARAY, B.; CALLEJAS, N.; GONZÁLEZ, V.; GIMENEZ, S.; ARECHAVALETA, A.; GROMPONE, M.; GÁMBARO, A. Composition of fatty acids and triglycerides in goat cheeses and study of the triglyceride composition of goat milk and cow milk blends. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 95-101, may. 2016. DOI: 10.1016/j.jfca.2016.02.010

VINHOLES, J.; GONÇALVES, P.; MARTEL, F.; COIMBRA, M.A.; ROCHA, S.M. Assessment of the antioxidant and antiproliferative effects of sesquiterpenic



compounds in in vitro Caco-2 cell models. **Food Chemistry**, v. 156, p. 204-211, aug. 2014. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.106

VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P.B.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P.G.; FERRERES, F. In vitro studies to assess the antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 454-462, nov. 2011. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.04.098

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, C.M. Amora-preta (*Rubus* sp.): Otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 4, dez. 2011. DOI: 10.1590/S0100-29452011000400020

WADHWANI, R.; McMAHON, D.J. Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2336-2346, may. 2012. DOI: 10.3168/jds.2011-5142

WAN, M.L.; FORSYTHE, S.J.; EL-NEZAMI, H. Probiotics interaction with foodborne pathogens: a potential alternative to antibiotics and future challenges. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 20, p. 3320-3333, sep. 2018. DOI: 10.1080/10408398.2018.1490885

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O leite caprino fermentado probiótico com polpa de amora-preta manteve a viabilidade das culturas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5 durante os 35 dias de armazenamento em refrigeração, com contagens acima de 6 Log UFC.g<sup>-1</sup>.
- A adição da polpa de amora-preta, devido aos seus teores de antocianinas e compostos fenólicos, conferiu a característica de um alimento antioxidante e contribuiu para uma boa avaliação nos atributos cor e aspecto global do produto, durante a análise sensorial.
- O leite caprino fermentado probiótico de amora-preta foi aceito sensorialmente, indicando ser um produto com potencial para comercialização.
- O leite caprino demonstrou potencial como matéria-prima para elaboração de produtos lácteos caprinos, bem como no desenvolvimento de produtos funcionais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, Z.; OZCAN, T. Functional properties of fermented milk produced with plant proteins. **LWT - Food Science and Technology**, v.86, p.25-30, 2017. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.07.025

ALBAYRAK, Ç.B.; DURAN, M. Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 150, p. 53-112, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112053

ANTUNES, A. E. C.; SILVA, E. R. A.; MARASCA, E. T. G.; MORENO, I.; LERAYER, A. L. S. Probióticos: agentes promotores de saúde. **Journal Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 32, p. 103-122, 2007.

BACHTARZI, N.; KHARROUB, K.; RUAS-MADIEDO, P. Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian dairy products and their application for skim-milk fermentations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 107, p. 117-124, 2019. DOI: 10.3390/microorganisms8081101

BRAGA, M. B.; VEGGI, P. C.; CODOLO, M. C.; GIACONIA, M. A.; RODRIGUES, C. 557 L.; BRAGA, A. R. C. Evaluation of freeze-dried milk-blackberry pulp mixture: Influence of adjuvants over the physical properties of the powder, anthocyanin content and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 125, p. 108-557, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108557

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa Nº 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília.

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de leites fermentados. **Diário oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, 1999.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho de 2008.

CARNEIRO, C.S.; CUNHA, F.L.; de CARVALHO, L.R.; CARRIJO, K.F. Leites fermentados: histórico, composição, características físicoquímicas, tecnologia de processamento e defeitos. **PUBVET**, Londrina, V. 6, N. 27, Ed. 214, Art. 1424, 2012.

CLARK S., Mora García MB. A 100-Year Review: Advances in goat milk research. **Journal of Dairy Science**, 100(12):10026-10044, 2017. DOI: 10.3168/jds.2017-13287

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. DOI: 10.1016/S0958-6946(98)00073-9

COPPOLA, M. M.; TURNER, C. G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1297-1303, 2004. DOI: 10.1590/S0103-84782004000400056

COSTA, M. P.; BALTHAZAR, C. F.; PINTO, R. V. DE B., CRUZ, A. G., & CONTE JÚNIOR, C. A. Leite fermentado: potencial alimento funcional. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, 2013.

COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.B.; Alimentos Funcionais: Componentes bioativos e efeitos fisiológicos. Rio de Janeiro: Rubio, 2016.

CRUZ, A. G.; ZACARCHENCO, P.B.; OLIVEIRA, C.A.F; CORASSIN, C.H. Química, bioquímica, análise sensorial e nutrição no processamento de leite e derivados. **Elsevier**, Rio de Janeiro, 2016.

DA COSTA, E.F.; PORTO, A.L.F.; CAVALCANTI, M.T.H. Queijos artesanais: fonte de bactérias ácido lácticas selvagens para formulação de fermentos tradicionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2016. DOI: 10.18067/jbfs.v3i4.111

DA SILVA, L. P.; PEREIRA, E.; PIRES, T. C.; ALVES, M. J.; PEREIRA, O. R.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. Rubus ulmifolius Schott fruits: A detailed study of its nutritional, Chemical and bioactive properties. **Food Research International**, v. 119, p. 34-43, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.01.052

DE FILIPPIS, F., PASOLLI, E., ERCOLINI, D. The food-gut axis: lactic acid bacteria and their link to food, the gut microbiome and human health. **FEMS Microbiology Reviews**, 2020. DOI: 10.1093/femsre/fuaa015

DE MELO PEREIRA, G.V., DE OLIVEIRA COELHO, B., JÚNIOR, A.I.M., THOMAZ-SOCCOL, V.; SOCCOL, C.R. Howtoselect a probiotic? A review and update of methods and criteria. **Biotechnology Advances**, v. 36, p. 2060-2076, 2018. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2018.09.003

DE VRESE, M.; STEGELMANN, A.; RICHTER, B.; FENSELAU, S.; LAUE, C.; SCHREZENMEIR, J. Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 2, p. 421S-429S, 2001. DOI: 10.1093/ajcn/73.2.421s

DOS SANTOS CRUXEN, C.E., FUNCK, G.D., HAUBERT, L., DA SILVA DANNENBERG, G., DE LIMA MARQUES, J., CHAVES, F.C., DA SILVA, W.P.; FIORENTINI, ã.M.M. Selection of native bacterial starter culture in the production of fermented meat sausages: application potential, safety aspects, and emerging technologies. **Food Research International**, v. 122, p. 371-382, 2019. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.04.018

FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of United Nations; World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina, 2001.

FLORINDO, R. N., SOUZA, V. P., MANZINE, L. R., CAMILO, C. M., MARANA, S. R., POLIKARPOV, I.; NASCIMENTO, A. S. Structural and biochemical characterization of a GH3  $\beta$ -glucosidase from the probiotic bacteria *Bifidobacterium adolescentis*. **Biochimie**, v. 148, p. 107-115, 2018. DOI: 10.1016/j.biochi.2018.03.007

FUNCK, G. D.; MARQUES, J. D. L.; CRUXEN, C. E. D. S.; SEHN, C. P.; HAUBERT, L.; DANNENBERG, G. D. S.; KLANJ, V.M.; DA SILVA, W.P.; FIORENTINI, A. M. Probiotic potential of *Lactobacillus curvatus* P99 and viability in fermented oat dairy beverage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 43, n. 12, p. 86-142, 2019. DOI: 10.1111/jfpp.14286

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B. da; FRIAS; J. R. G. Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações. São Paulo: **Nobel**, 2008. 511p.

GOLDSTEIN, E. J. C.; TYRRELL, K. L.; CITRON, D. M. *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. **Clinical Infectious Diseases**, 60, S98-S107. 2015. DOI: 10.1093/cid/civ072

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 & Technology**, v. 10, p. 4-5, 1999.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA) - PPM Pesquisa da Pecuária Municipal. Tabela 3939: Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho. Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>. Acesso em: 29 abril. 2022.

ILAVENIL, S.; VIJAYAKUMAR, M.; KIM, D. H.; VALAN ARASU, M.; PARK, H. S.; RAVIKUMAR, S.; CHOI, K. C. Assessment of probiotic, antifungal and cholesterol lowering properties of *Pediococcus pentosaceus* KCC-23 isolated from Italian ryegrass. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 2, p. 593-601, 2016. DOI: 10.1002/jsfa.7128

KATO, I.; YOKOKURA, T.; MUTAI, M. Correlation between increase in Ia-bearing macrophages and induction of T cell dependent antitumor activity by *Lactobacillus casei* in mice. **Cancer Immunology Immunotherapy**, v. 26, n. 3, p. 215-221, 1988.

KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 101, p. 229-241, 2001. DOI: 10.1016/S0002-8223(01)00060-8

LEE, Y.K.; NOMOTO, K.; SALMINEN, S.; GORBACH, S.L. Handbook of probiotics. **New York: Wiley**, 1999. 211p.

LEVIT, R.; SAVOY DE GIORI, G.; DE MORENO DE LEBLANC, A.; LEBLANC, J. G. Recent update on lactic acid bacteria producing riboflavin and folates: application for food fortification and treatment of intestinal inflammation. **Journal of Applied Microbiology**, v. 130, n. 5, p. 1412-1424, 2021. DOI: 10.1111/jam.14854

LOURENÇO, M. C.; KURITZA, L. N.; WESTPHAL, P.; MIGLINO, L. B.; PICKLER, L. KRAIESKI, A. L.; SANTIN, E. Uso de probiótico sobre a ativação de células T e controle de *Salmonella* Minnesota em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 11-14, 2013. DOI: 10.1590/S0100-736X2013000100003

MARTIN, A.F. Armazenamento do iogurte comercial e o efeito na proporção das bactérias lácteas. 62 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MARTÍN, M. J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M. A.; MORALES, M. E. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 27, p. 15-25, 2015. DOI: 10.1016/j.ifset.2014.09.010

MOHAMMED, S.; ÇON, A.H. Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. **LWT**, v. 152, p. 112319, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112319

MOKOENA M.P., OMATOLA C.A., OLANIRAN A.O. Applications of Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins against Food Spoilage Microorganisms and Foodborne Pathogens. **Molecules**, 2021. DOI: 10.3390/molecules26227055

MOKOENA M.P.; MUTANDA T.; OLANIRAN A.O. Perspectives on the probiotic potential of lactic acid bacteria from African traditional fermented foods and beverages. **Food & Nutrition Research**, 2016. DOI: 10.3402/fnr.v60.29630

MUDIM, S. A. P. Elaboração de logurte Funcional com Leite de Cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina. Rio de Janeiro, 2008.

OELSCHLAEGGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions –a review. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 300, p. 57-62, 2010. DOI: 10.1016/j.ijmm.2009.08.005

ORDÓÑEZ, J. A. P. Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal. Porto Alegre: **Artmed**, v.2, 2007. 279p.

OSZMIAŃSKI, J.; NOWICKA, P.; TELESZKO, M.; WOJDYŁO, A.; CEBULAK, T.; OKLEJEWICZ, K. Analysis of phenolic compounds and antioxidant activity in wild blackberry fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 14540–14553, 2015. DOI: 10.3390/ijms160714540

PAPADOPOULOU, O. S. ARGYRI, A. A.; VARZAKIS, E. E.; TASSOU, C. C.; CHORIANOPOULOS, N. G. Greek functional Feta cheese: Enhancing quality and safety using a *Lactobacillus plantarum* strain with probiotic potential. **Food Microbiology**, v. 74, p. 21-33, 2018. DOI: 10.1016/j.fm.2018.02.005

PEREIRA, D.I.A.; GIBSON, G.R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, v. 37, n. 4, p. 259-281, 2002. DOI: 10.1080/10409230290771519

RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C. Aspectos técnicos da cultura da amora-preta. EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, v. 54, 2004.



REDETEC. Dossiê técnico: Fabricação de iogurtes. Rio de Janeiro, 2008. 32p.

REN, D. Y.; LI, C.; QIN, Y. Q.; YIN, R. L.; DU, S. W.; YE, F.; TIAN, M. Y. Lactobacillus reduce chemokine IL-8 production in response to TNF- $\alpha$  and Salmonella challenge of Caco-2 cells. **BioMed Research International**, 2013. DOI: 10.1155/2013/925219

RITTER, Conservas S.A. **Manual para fabricação de leites fermentados: iogurtes e bebidas lácteas**. Cachoeirinha, 2004.

SALGADO, J. **Alimentos funcionais**. São Paulo: Oficinas de Texto, 2017.

SANDERS, M.E.; KLAENHAMMER, T.R. The scientific basis of Lactobacillus acidophilus NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 2, p. 319-331, 2001. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74481-5

SANDERS, M.E.; MERENSTEIN, D.J.; REID, G.; GIBSON, G.R.; RASTALL R.A. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, 2019; 16:605–16. DOI: 10.1038/s41575-019-0173-3

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5ªed., São Paulo: Varela, 2017.

SONG CHEN Y.; LUO J.; HUANG L.; TIAN H.; LI C.; LOOR, J.J.J.; SONG, N. Negative regulation of  $\alpha$ S1-casein (CSN1S1) improves  $\beta$ -casein content and reduces allergy potential in goat milk. **Journal of Dairy Science**, 2020. DOI: 10.3168/jds.2020-18595

TAMINE, A. Y. Fermented Milks. 1ª ed. Inglaterra: **Blackwell Publishing**. 2006, 262p.

TAMINE, A.Y.; WSZOLEK, M.; BOZANIC, R.; OZER, B. Popular ovine and caprine fermented milks. **Small Ruminant Research**, v. 101, p. 2-16, 2011. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2011.09.021

VANDERPLAS, Y; HUYS, G; DAUBE, G. Probióticos: Informações atualizadas. **Jornal de Pediatria**, v. 91, n. 1, p. 6-21, 2015. DOI: 10.1016/j.jpmed.2014.08.005

VIVEK, N., HAZEENA, S.H., RAJESH, R.O., GODAN, T.K., ANJALI, K.B., NAIR, L.M., MOHAN, B., NAIR, S.C. Genomics of lactic acid bacteria for glycerol dissimilation. **Molecular Biotechnology**, v. 61, p. 562-578, 2019. DOI: 10.1007/s12033-019-00186-2

YERLIKAYA, O.; SAYGILI, D.; AKPINAR, A. An application of selected enterococci using *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in set-style probiotic yoghurt-like products. **Food Bioscience**, v. 41, p. 96-101, 2021. DOI: 10.1016/j.fbio.2021.101096

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E.; FRANZ, C. M.; HARRIS, H.; MATTARELLI, P.; TOOLE, P.W.O.; POT, B.; VANDAMME, P.; WALTER, J.; WATANABE, K.; WUYTS, S.; FELIS, G.E.; GANZLE, M. G.; LABEER, S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, p. 2782-2858, 2020. DOI: 10.1099/ijsem.0.004107

## APÊNDICES

**APÊNDICE A**

## FICHA DA ANÁLISE SENSORIAL.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

NOME: \_\_\_\_\_ DATA: \_\_\_\_\_

1 - Teste de escala hedônica – Instruções: Avalie cuidadosamente a amostra e utilize a escala para descrever o quanto você gostou ou desgostou da amostra em relação aos atributos informados no quadro abaixo:

1 = desgostei muitíssimo

2 = desgostei muito

3 = desgostei regularmente

4 = desgostei ligeiramente

5 = indiferente

6 = gostei ligeiramente

7 = gostei regularmente

8 = gostei muito

9 = gostei muitíssimo

Cor: \_\_\_\_\_

Aroma: \_\_\_\_\_

Sabor: \_\_\_\_\_

Textura: \_\_\_\_\_

Aspecto global: \_\_\_\_\_

Comentário adicional: \_\_\_\_\_

2 - Teste de intenção de compra – Instruções: Avalie a amostra segundo a sua intenção de consumo, utilizando a escala abaixo. Marque com um X sua avaliação.

7 = Compraria sempre

6 = Compraria muito frequentemente

5 = Compraria frequentemente

4 = Compraria ocasionalmente

3 = Compraria raramente

2 = Compraria muito raramente

1 = Nunca compraria

Comentário adicional: \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B

FRUTOS DE AMORA-PRETA (*RUBUS* sp.).



Fonte: EMBRAPA Clima Temperado Pelotas/RS.

## APÊNDICE C

LEITE CAPRINO FERMENTADO PROBIÓTICO ADICIONADO DE POLPA DE AMORA-PRETA.



Fonte: O autor.