

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

TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO *PETIT SUISSE* CAPRINO
SIMBIÓTICO SABOR MARACUJÁ

JOÃO PESSOA-PB

2019

TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO *PETIT SUISSE* CAPRINO
SIMBIÓTICO SABOR MARACUJÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira

JOÃO PESSOA – PB

2019

TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

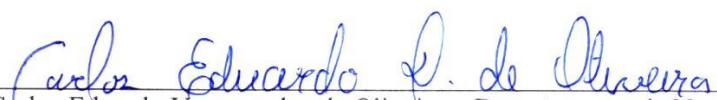
**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO *PETIT SUISSE* CAPRINO SIMBIÓTICO
SABOR MARACUJÁ**

Dissertação aprovada em 27 de dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA


Prof.^a Dra. Maria Elfeidy Gomes de Oliveira - PPGCTA/CCS/UFPB
Coordenadora da Banca Examinadora


Prof.^a Dra. Rita de Cássia Ramos do E. Queiroga - PPGCTA/CCS/UFPB
Examinadora Interna


Prof. Dr. Carlos Eduardo Vasconcelos de Oliveira – Departamento de Nutrição/CCS/UFPB
Examinador Externo

*Dedico este trabalho a Deus, pois sem Ele, nada seria possível.
A todos que me ajudaram na realização deste sonho, de forma direta ou
indireta. Em especial aos meus pais e noivo.*

AGRADECIMENTOS

A Deus sempre, acima de tudo e em primeiro lugar.

Dedicação, carinho, orgulho, compreensão e confiança são alguns sentimentos que a vocês me refiro. Como agradecer? O que dizer? Não há como agradecer amor de pai e mãe. A certeza de ser amado, ou ainda a certeza de ser compreendido, é assim que me sinto com relação a vocês. Quantas vezes quis estar perto fisicamente para algo, passear nos tios, ou simplesmente para sentar e olhar as pessoas que vão e vem na rua, ou comer pipoca com dindin? Perdi a conta, mas certamente foram muitas. Não tenho como agradecer tudo o que fizeram, fazem e continuarão fazendo por mim. Devo sim pedir desculpas por todas as vezes que estive ausente, pois estava absorta em análises, leituras de artigos de outros pesquisadores e tentando escrever esta dissertação. Amo vocês, vocês são **TUDO** para mim!

Ao meu amor, amigo, companheiro, meu MUITO obrigada por TUDO. Sem suas palavras de força e apoio, e suas mãos para me erguerem quando mais precisei. Pela paciência, confiança e dedicação a minha formação profissional. Pelas inúmeras vezes que disposto ou não, abdicou de suas coisas para ouvir meus lamentos, minhas dúvidas. Pelo suporte emocional e financeiro. Pelo amor que nos une e sempre é força sem medida para desbravar novos caminhos. Não encontro palavras mais adequadas para dizer obrigado, além daquelas que ouço e digo diariamente: *Te amo*.

À toda minha família, por entenderem as tantas ausências e mesmo assim, apoiarem e torcerem por mim.

À minha ori, prof.^a Maria Elieidy, muito obrigada por me acolher, além de aluna, como amiga. Sinto-me honrada em ter sido sua aluna e poder ter convivido com uma pessoa de tão bom coração. Levarei para a vida todos os ensinamentos e experiências vividas. Orientar: mérito de tantos, merecimento de tão poucos. Orientar, na minha opinião é um dom, é uma arte, que você ori, faz com muito requinte. Orgulho de tê-la como orientadora durante a execução deste trabalho, além de todos os agradecimentos possíveis, deixo registrada minha profunda admiração, respeito e amizade. Te amo, ori!

A professora Rita Queiroga, pela oportunidade de fazer parte também de seu grupo de pesquisa, pela confiança depositada e principalmente pela amizade valiosa.

Às amigas-parceiras do labinho, e as que não são do mesmo grupo de pesquisa (Jéssica e Belly), por acreditarem em mim, quando eu mesma duvidei. Obrigada, por todo apoio físico e emocional.

À equipe dos Laboratórios de Técnica Dietética, em especial Cecília, Laboratório de Bromatologia (Eduardo e Guilherme) (*Campus I*), Microbiologia (Prof.^a Lúcia e Sônia), pela paciência e disponibilidade em ajudar sempre que precisei.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, suporte financeiro que permitiu o desenvolvimento desta dissertação.

A EMBRAPA, em especial à Karina Santos Olbrich, pela concessão da cepa em estudo.

Ao Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade e aprendizado. Especialmente a secretária Fernanda, por não medir esforços, nem distância para ajudar sempre.

Aos professores ministrantes das disciplinas do Programa de Mestrado e Doutorado em Ciência de Alimentos pelas informações que aprimoraram meus conhecimentos.

Enfim, a todos que contribuíram para a execução deste trabalho.

RESUMO

A utilização do leite de cabra na formulação de derivados lácteos vem crescendo, por rico em proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais. Afim de agregar valor aos aspectos funcionais do leite caprino, produtos lácteos probióticos e simbióticos vêm sendo desenvolvidos, com a finalidade de potencializar os efeitos benéficos à saúde. O presente estudo foi realizado com o objetivo de desenvolver e caracterizar os aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, antioxidantes, microbiológicos e sensoriais de queijos *petit suisse* caprinos funcionais adicionados de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeos. O efeito da adição da bactéria probiótica e o frutooligossacarídeo sobre as características de qualidade dos queijos *petit suisse* foi avaliado com 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado, considerando os seguintes tratamentos: QC (queijo *petit suisse* - controle); QL, contendo o micro-organismo probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC007; QF, composto pelo frutooligossacarídeo (FOS) e QLF, contendo a cepa probiótica em associação com o FOS. Todos os queijos *petit suisse* testados não sofreram sinerese, apresentando estabilidade e restando mais água na matriz. As amostras acidificaram relativamente durante a vida de prateleira. De um modo geral, observou-se que a adição da cepa probiótica e/ou FOS na elaboração dos queijos *petit suisse* não influenciou nas características físicas e físico-químicas dos mesmos ($p>0,05$), com exceção do teor de umidade que aumentou ao longo do armazenamento refrigerado. A cepa probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 apresentou viabilidade até o final da vida de prateleira nas amostras QL e QLF, com contagens que variaram de 8,76 a 11,57 e 11,35 a 10,24 log UFC/g, respectivamente. No ensaio de simulação do trato gastrointestinal, viu-se que o efeito protetor da matriz sobre a cepa estudada foi maior quando ela estava associada ao prebiótico (QLF), cujo *L. mucosae* CNPC007 chegou ao íleo com contagens de 7,22 log UFC/g. Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos, as amostras QL e QLF, apresentaram valores superiores em relação as demais, sendo este de 85,15 e 92,76 mg/100 g, respectivamente, no final da sua vida de prateleira. Assim, constatou-se que a elaboração de um queijo *petit suisse* caprino adicionado de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e/ou frutooligossacarídeos apresenta-se como um produto com potencial funcional, cujas qualidades tecnológicas, microbiológicas, nutricionais e sensoriais podem vir a atender a exigência do mercado consumidor de produtos lácteos com funcionalidades.

Palavras-chave: Leite de cabra, alimentos funcionais, simbiótico, simulação *in vitro*

ABSTRACT

The use of goat milk in the formulation of its derivatives has been growing, growing in proteins of high biological value, essential fatty acids, vitamins and minerals. Affinity to add value to the dimensions of goat milk, probiotic and symbiotic dairy products to be developed, with a goal of enhancing the beneficial effects on health. The aim of this study was to develop and characterize the technological, physical, physicochemical, antioxidant, microbiological and sensory aspects of petit suisse consecutive cheeses of passion fruit, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 and fructooligosaccharides. The quality of the probiotic bacterium and the fructooligosaccharide that the quality of petit suisse cheese was terminal with 1, 14 and 28d days refrigerated refrigerated, considering the following treatment: QC (petit suisse - control cheese); QL, containing the probiotic microorganism *Lactobacillus mucosae* CNPC007; QF, composed of fructooligosaccharide (FOS) and QLF, containing a probiotic strain in association with FOS. All those who submit are tested and do not suffer synesters, presenting stability and retention in water. How the samples acidified during shelf life. In general, it is observed that the addition of the probiotic and / or FOS in the cheese production is not influenced on their physical and physical-chemical characteristics ($p > 0.05$), except for the moisture content along of refrigerated storage. The probiotic strain of *Lactobacillus mucosae* CNPC007 showed viability until the end of the guard life in the QL and QLF samples, with counts ranging from 8.76 to 11.57 and 11 CFU / g⁻¹.35 to 10.24 log, respectively. In the process of flag of gastrointestinal, seen-of-effect monitoring of the matrix on the studied strain the largest when may associated with prebiotic (QLF), and other *L. mucosae* CNPC007 reached the ileum with 7.22 log CFU / g⁻¹ counts. Regarding the phenolic benefit code, such as the QL and QLF samples, the higher levels compared to the others, being 85.15 and 92.76 mg / 100 g⁻¹, respectively, were not used in their shelf life. Thus, when the preparation of a goat petit suisse is made, the preparation of passion fruit, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 and / or fructooligosaccharides is presented as a product with functional potential, under which technologies, microbiological, nutritional and sensory can come to meet. the consumer market demand for functional dairy products.

Keywords: Goat milk, functional foods, symbiotic, in vitro simulation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Códigos e tratamentos dos queijos <i>petit suisse</i> caprino controle e experimentais.....	40
---	----

LISTA DE TABELAS DO ARTIGO

Tabela 1 - Valores médios das variáveis físico-químicas do leite caprino.....	66
Tabela 2 - Valores médios das variáveis de sinerese e cor dos queijos <i>petit suisse</i> caprinos com potencial funcional adicionados de preparado de maracujá durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	67
Tabela 3 - Valores médios das variáveis físicas e físico-químicas dos queijos <i>petit suisse</i> caprinos sabor maracujá durante 28 dias armazenamento refrigerado.....	71
Tabela 4 - Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nos queijos <i>petit suisse</i> caprinos ao longo do armazenamento	72
Tabela 5 - Escores médios dos testes de aceitação sensorial e de intenção de compra realizados com queijos <i>petit suisse</i> caprinos sabor maracujá durante armazenamento refrigerado.....	78
Tabela 6 - Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=60) na análise sensorial de queijos <i>petit suisse</i> sabor maracujá após 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado.....	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Resumo dos principais agentes dos efeitos benéficos do leite de cabra.....	16
Figura 2 - Etapas para elaboração do preparado de maracujá.....	29
Figura 3 - Fluxograma de processamento dos queijos <i>petit suisse</i> caprino sabor maracujá.....	31
Figura 4 - Delineamento experimental.....	32

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

Figura 1 - Valores médios de acidez (a) e açúcares totais (b) dos queijos petit suisse caprinos adicionados de preparado maracujá durante armazenamento.....	67
Figura 2 - Viabilidade do <i>Lactobacillus mucosae</i> CNCP007 nos queijos petit suisse caprinos adicionados de preparado de maracujá durante armazenamento refrigerado.....	74
Figura 3 - Número de células viáveis (média $\pm$ desvio padrão) de <i>Lactobacillus mucosae</i> CNCP007 no queijo petit suisse caprino na ausência de FOS (QL), quando expostos (■) e não expostos (×) e na presença de FOS (QLF), quando expostos (◇) e não exposto (●) às condições simuladas do trato gastrointestinal em diferentes tempos de incubação. Os valores de pH que o micro-organismo foi exposto estão indicados no canto superior esquerdo do gráfico.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aa	Atividade de Água
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemist Methods
°C	Graus Celsius
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
EPS	Exopolissacarídeos
EST	Extrato seco total
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Grama
QC	Queijo <i>petit suisse</i> controle
QL	Queijo <i>petit suisse</i> com probiótico <i>Lactobacillus mucosae</i>
QF	Queijo <i>petit suisse</i> com prebiótico frutooligossacarídeo
QLF	Queijo <i>petit suisse</i> com probiótico <i>Lactobacillus mucosae</i> e o frutooligossacarídeo
FOS	Frutooligossacarídeo
n°	Número
NMP	Número mais provável
min	Minuto
mg	Miligrama
mL	Mililitro
PIQ	Padrões de Identidade e Qualidade
ppm	Partes por milhão
RMF	Resíduo Mineral Fixo
UFC	Unidade formadora de colônia
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato gastrointestinal

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
2.1 LEITE DE CABRA.....	16
2.2 QUEIJO <i>PETIT SUISSE</i> E ADIÇÃO DE FRUTAS E SEUS DERIVADOS.....	18
2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	20
2.3.1 <i>Probióticos</i>	22
2.3.2 <i>Prebióticos</i>	24
2.3.3 <i>Simbiótico</i>	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 MATÉRIAS-PRIMAS.....	30
3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	30
3.3 ELABORAÇÃO DO PREPARADO DE MARACUJÁ E DO QUEIJO <i>PETIT SUISSE</i> CAPRINO.....	31
3.3.1 <i>Elaboração do preparado de maracujá</i>	31
3.3.2 <i>Processamentos dos queijos petit suisse caprino com potencial funcional</i>	32
3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE E CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS <i>PETIT SUISSE</i> CAPRINOS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO.....	34
3.4.1 <i>Avaliação das propriedades tecnológicas</i>	34
3.4.2 <i>Análises físicas e físico-químicas</i>	35
3.4.3 <i>Determinação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante in vitro</i>	35
3.4.3.1 <i>Obtenção do Extrato</i>	36
3.4.3.2 <i>Determinação de Compostos Fenólicos Totais (CFT)</i>	36
3.4.3.3 <i>Atividade Antioxidante in vitro - Método FRAP</i>	36
3.4.3.4 <i>Atividade Antioxidante in vitro - Método ABTS</i>	37
3.4.4 <i>Avaliação da qualidade microbiológica</i>	37
3.4.5 <i>Análises sensoriais</i>	38
3.5 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DA BACTÉRIA PROBIÓTICA EM CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS.....	39
3.5.1 <i>Inoculação das matrizes de queijos petit suisse</i>	39
3.7 ANÁLISE DOS DADOS.....	42

REFERÊNCIAS.....	43
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO – ARTIGO ORIGINAL.....	51
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
APÊNDICES	92
ANEXOS	96

1 INTRODUÇÃO

Os benefícios nutricionais oferecidos pelo leite de cabra e seus derivados têm despertado um crescente interesse do consumidor, sendo um alimento completo para a nutrição humana, rico em proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais, assim como, vitaminas e minerais (MACEDO JUNIOR et al., 2015; CLARK; GARCIA, 2017). Esta composição química e propriedades contribuem para a sua funcionalidade e, também, ajudam no processamento e comercialização de produtos lácteos caprinos (PARK et al., 2012; MORAES, 2018a).

Com o objetivo de agregar valor aos aspectos funcionais do leite caprino, produtos lácteos probióticos vêm sendo desenvolvidos, dentre eles os queijos, que podem ser suplementados com culturas probióticas, sendo estas culturas de uma só espécie ou de várias de micro-organismos que, quando utilizadas por animais ou pelo homem, trazem benefícios à saúde, promovendo melhora nas características da microbiota intestinal queijos (SANTOS et al., 2011; HOMAYOUNI, 2014) KARIMI et al., 2015; MORAES, 2018b). Dentre os micro-organismos probióticos utilizados na produção de derivados lácteos, os mais comuns são o *Lactobacillus* spp. e o *Bifidobacterium* spp., por manterem a viabilidade ao longo da vida de prateleira e proporcionarem melhores características a esses produtos (CASTRO et al., 2015a).

Em estudo recente, cepas de *Lactobacillus mucosae* foram isoladas de amostras de leite de cabra. Dentre as cepas desta espécie isoladas, a cepa de *Lactobacillus mucosae* CNPC007, apresentou grande potencial probiótico em teste *in vitro* (MORAES et al., 2017), despertando a atenção da comunidade científica em virtude do seu grande potencial probiótico e interesse na aplicação em novos produtos lácteos.

As matrizes lácteas ainda podem ser suplementadas por prebióticos, que foram definidos pela primeira vez por Gibson e Roberfroid (1995) como ingredientes alimentares não digeríveis, a exemplo da inulina e diversos oligossacarídeos, que trazem benefícios ao hospedeiro por proporcionarem o incitamento seletivo da multiplicação e/ou atividade de um número restrito de bactérias benéficas presentes no cólon (GIBSON, 2004; YOUNIS; AHMAD; JAHAN, 2015). Os prebióticos são complementares e sinérgicos aos probióticos, apresentando um fator multiplicador em suas ações isoladas. A potencial sinergia entre probióticos e prebióticos foi considerada eficiente devido à melhoria da sobrevivência e implantação de probióticos no sistema gastrointestinal (FLESCH et al., 2014; SHAFI et al., 2014); KINIK et al., 2017).

Essas suplementações vêm apresentando relevância com a produção de queijos com características probióticas, prebióticas e/ou simbióticas (ARAÚJO et al., 2010; ESMERINO et al., 2013; BARBOSA et al., 2016), e entre os queijos frescos com potencial simbiótico, tem-se o queijo *petit suisse* (CARDARELLI et al., 2008).

Tem-se observado o surgimento crescente de novos produtos no mercado, cujos fabricantes preocupam-se em substituir aromas artificiais por extratos de frutas e/ou frutas preparadas de uma ou mais espécies. O Brasil é rico em frutas de sabores característicos, destacando-se a Região Nordeste como grande produtora de frutas tropicais. Estas frutas são especialmente desejadas por sua impressão aromática específica e valor nutricional, podendo ser uma alternativa de adição na fabricação dos produtos lácteos (DELLA MODESTA et al., 2005; QUEIROGA et al., 2011).

A adição de frutas ou derivados de frutas, a exemplo de preparados, em produtos fermentados, incluindo aqueles feitos com leite caprino, vem sendo testada pela comunidade científica, visando melhoria principalmente do valor nutricional, funcional, e de suas características sensoriais (RANADHEERA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Estudos recentes mostraram que a polpa de maracujá apresenta propriedades antioxidantes, antimicrobiana, antidiabéticas e efeitos neuroprotetores (SEPTEMBRE-MALATERRE et al., 2016; SUCHET et al., 2016), com efeitos benéficos derivados da presença de compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos (CORRÊA et al., 2016; SEPTEMBRE-MALATERRE et al., 2016).

Os compostos fenólicos podem modular, principalmente a composição das comunidades microbianas do intestino por meio da inibição de bactérias patogênicas e estimulação de bactérias benéficas. Neste último caso, estes compostos bioativos podem exercer uma função prebiótica e aumentar a população de bactérias benéficas, incluindo probióticos, sugerindo uma relação mútua entre eles (SUCCI et al. 2017; OLIVEIRA; AMARO; PINTADO, 2018).

Considerando os aspectos supracitados, o presente estudo teve como objetivo desenvolver queijos *petit suisse* caprinos funcionais adicionados de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeos, e caracterizar seus aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, microbiológicos, antioxidantes e sensoriais ao longo do armazenamento.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 LEITE DE CABRA

O leite de cabra desempenha um papel importante na nutrição e no bem-estar socioeconômico nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, fazendo parte da nutrição básica e de subsistência de populações rurais. Mas, por outro lado, os derivados lácteos caprinos fazem parte de um ramo da indústria de laticínios composta por mercado consumidor com gosto sofisticado (PARK, 2012).

Uma parte importante da economia nacional em muitos países é constituída da produção de leite de cabra, especialmente na região do Mediterrâneo e no Oriente Médio. É sobretudo importante na França, na Itália, na Espanha e na Grécia, onde o leite caprino e os produtos lácteos representam uma atividade tradicional de grande importância social, cultural e ambiental (GARCÍA, 2014).

No caso do Brasil, a maior produção de leite de cabra é na Paraíba. A constatação é do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), de acordo com os dados divulgados na pesquisa Censo Agro 2017. Naquele período, o estado produziu 5,6 milhões de litros de leite de cabra, o que corresponde a 17% a mais que o segundo colocado no ranking do país, a Bahia, cuja produção foi de 4,6 milhões de litros (CENSO, 2017).

Para desenvolver ainda mais as indústrias de cabras leiteiras, muitas prioridades estratégicas foram levadas em consideração, incluindo o desenvolvimento de produtos à base deste tipo leite. Na China, a produção do leite caprino tem aumentado consideravelmente, sendo responsável por quase 2% do leite de cabra do mundo (PULINA et al., 2018). O governo chinês também deu especial atenção à pesquisa inovadora sobre leite de cabra para melhorar a eficiência das indústrias de cabras leiteiras. No entanto, este tipo de leite transmite um sabor desagradável característico derivado dos ácidos caprílico, cáprico e capróico, restringindo a sua aceitação por muitos consumidores e o desenvolvimento de produtos lácteos caprinos (RANADHEERA et al., 2018). A maior parte do leite resulta na geração de produtos fermentados, visto que durante os processos fermentativos, perde um pouco do seu sabor característico (HODGKINSON et al., 2018).

A comparação das propriedades de diferentes leites, mostrou que o leite de cabra, além do valor nutricional, é distinguido por propriedades como digestibilidade, alcalinidade, alta capacidade de tamponamento e tem sido considerado de valor terapêutico em medicina e

nutrição humana. Essas características bioativas específicas formam uma matriz perfeita para o desenvolvimento de novos produtos promotores da saúde (SILANIKOVE et al., 2010; SATIR; GÜZEL-SEYDIM, 2015).

O leite de caprino pode ser usado para produzir uma ampla variedade de produtos, como bebidas, produtos fermentados (queijo, iogurte), sorvetes, manteiga, produtos condensados/secos e doces, utilizando-se de processos simples e acessíveis aos pequenos produtores, sendo uma alternativa para agregação de valor e para o aumento no consumo de produtos de origem caprina (BOMFIM et al., 2013; KALYANKAR; KHEDKAR; PATIL, 2016; ARYANA; OLSON, 2017; FAZILAH et al., 2018).

Seus derivados dispõem propriedades benéficas à saúde amplamente reconhecidas pela comunidade científica, tais como, elevada digestibilidade e alto valor biológico das suas proteínas (GARCÍA et al., 2014). Também possui compostos promotores de saúde, como peptídeos bioativos, ácidos linoleicos conjugados e oligossacarídeos (ABEIJÓN MUKDSI et al., 2013; ASSIS et al., 2016; SALVA et al., 2011). Contém muitos fatores de crescimento ativos, como o fator de crescimento epidérmico, fatores de crescimento semelhantes à insulina (DEHNHARD et al., 2000), fator de crescimento de fibroblastos (HE et al., 2016), fator de crescimento de transferência, bem como superóxido dismutase (SHARIFI et al., 2017).

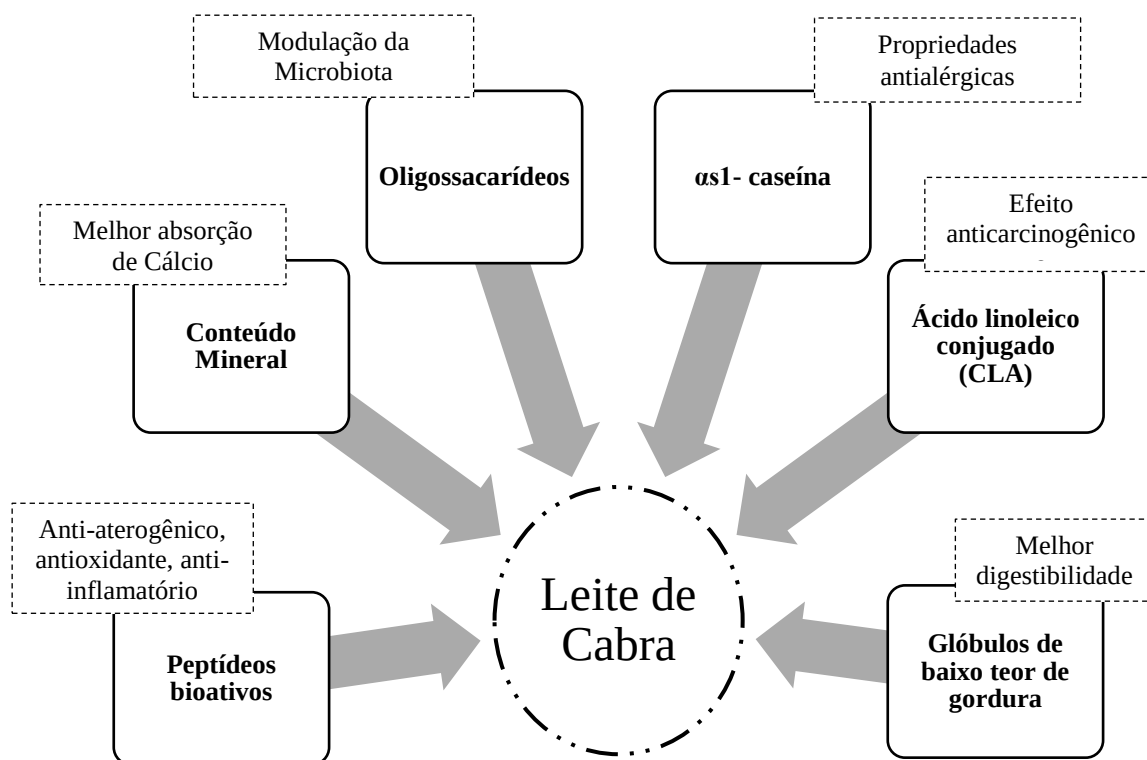
Mesmo similar ao leite de vaca em composição, o leite de cabra carece de beta-caroteno e aglutinina e contém diferentes tipos de caseína e, portanto, é considerado menos alergênico do que o leite de vaca (BRANDAO et al., 2017). Com referência a este aspecto, o leite caprino se sobressai ao leite de vaca, e suas principais diferenças estão associadas às variações na proporção das diferentes frações de caseína (α_1 -caseína, α_2 -caseína, k-caseína, β -caseína), na estrutura, tamanho dos glóbulos de gordura e nas micelas protéicas (GOMES, 2013).

O seu teor lipídico apresenta um perfil de ácidos graxos que se caracteriza pela alta proporção de ácidos graxos de cadeia curta e média, como os ácidos capríco (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0), que facilitam sua digestão e absorção (BOMFIM et al., 2013b). Estes ácidos também são responsáveis pelo odor característico do leite de cabra e pela característica de produzir derivados de textura mais suave em relação ao leite bovino (SILANIKOVE et al., 2010).

O conteúdo proteico desta matriz láctea ganha cada vez mais atenção em estudos, especialmente de seus peptídeos bioativos liberados da quebra proteica no processo digestivo. Especificamente, o interesse em bioativos do leite de cabra está sendo intensificado devido à sua reduzida alergenicidade em relação ao leite bovino (AHMED et al., 2015). Dentre os

diversos agentes de efeitos benéficos do leite caprino, alguns têm-se destacado devido ao seu potencial funcional (Figura 1).

Figura 1 - Resumo dos principais agentes dos efeitos benéficos do leite de cabra



Fonte: Adaptado de Verruck et al. (2019)

2.2 QUEIJO *PETIT SUISSE* E ADIÇÃO DE FRUTAS E SEUS DERIVADOS

Segundo Van Dender (2010), o queijo tipo “quark”, que dá origem ao queijo tipo *petit suisse*, faz parte do grupo de queijos de massa fresca, que consiste de produtos lácticos acidificados, não maturados, consumidos logo após a fabricação e conservados obrigatoriamente sob refrigeração. As condições de produção e de conservação destes produtos devem ser estritamente higiênicas e muito bem controladas. Na Europa, onde são de grande importância comercial e fabricados com tecnologia avançada, os queijos tipo “quark” e similares, além de consumidos ao natural, são comercializados em vários sabores com adição de frutas ou de misturas balanceadas de condimentos. Também pode ser transformado

em produto aerado pela mistura com creme de leite batido, açúcar, aromatizantes e estabilizantes, chamado queijo *petit suisse*.

O queijo *petit suisse* tem um alto teor de umidade e uma consistência cremosa. É produzido a partir de uma massa (queijo tipo “quark”) obtida usando um processo de coagulação mista, e pode ser adicionado a condimentos doces e salgados para serem consumidos frescos (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1996). Em diversos estudos, o queijo *petit suisse* mostrou ser promissor como um alimento funcional devido a sua matriz densa e seu teor de matéria gorda relativamente alta, apresentando condições apropriadas para manter a viabilidade de micro-organismos probióticos durante o armazenamento até o consumo, revelando-se uma matriz alimentar adequada para a adição dessas bactérias (CARDERELLI et al., 2008; CRUZ et al., 2010; ESMERINO et al., 2013).

Este tipo de queijo é consumido como uma sobremesa, frequentemente combinado com frutas, e é desenvolvido para atingir crianças como consumidores, embora seja bem aceito por todas as faixas etárias (CARDERELLI et al., 2008; MATIAS et al., 2014).

A adição de sabores e aromas usando frutas e / ou seus derivados pode aumentar seu valor nutricional e mascarar o sabor principalmente de produtos lácteos caprinos (MACHADO et al., 2017). Além dos potenciais benefícios para a saúde, os consumidores tendem a escolher o sabor como o fator chave nos critérios alimentares para aceitação, assim, a adição de diferentes frutas e seus derivados em produtos lácteos para melhorar seu sabor foi tentada progressivamente (NDABIKUNZE et al., 2017). Vários estudos demonstraram que adicionar frutas ou seus derivados, podem aumentar o sabor atraente dos produtos lácteos e melhorar a sua qualidade, particularmente suas propriedades nutricionais (HOSSAIN et al., 2012; ÇAKMAKÇI et al., 2012). Os frutos são considerados uma excelente fonte de antioxidantes, fibras prebióticas e polifenóis. O consumo de derivados de frutas e produtos lácteos em combinação, tem um potencial para fornecer valor nutricional-fisiológico extra que envolvem um efeito sinérgico sobre a saúde (FERNANDEZ; MARETTE, 2017). A indústria alimentícia tem uma longa tradição no uso de compostos antioxidantes, no entanto, a crescente preocupação dos consumidores por produtos naturais e mais saudáveis tem acarretado um aumento no uso de antioxidantes naturais (VANDEN et al., 2011).

A formulação de novos produtos alimentícios com subprodutos de frutas ricas em propriedades funcionais tem aumentado nos últimos anos, sendo conveniente a sua associação com bactérias probióticas para a promoção da saúde intestinal, uma vez que podem ser usadas como veículos por essas bactérias, por serem ricos em minerais, vitaminas, fibras alimentares,

antioxidantes e não contêm alérgenos lácteos (LAMSAL; FAUBION, 2009; SENDRA et al., 2008; PAKBIN et al., 2014).

A maioria dos polifenóis da dieta é transformada no cólon pela microbiota. As bactérias do intestino podem hidrolisar glicosídeos, glucuronídeos, sulfatos, amidas, ésteres e lactonas. Essa conversão pode influenciar a absorção e modular a atividade biológica desses compostos (Selma, Espin, & Tomas-Barberan, 2009). Por outro lado, compostos fenólicos não absorvidos permanecem no lúmen modulando a população microbiana no trato gastrointestinal e afetando a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) por fermentação bacteriana. À sua maneira, os compostos fenólicos podem desempenhar um papel na saúde intestinal (Lee, Jenner, Low, & Lee, 2006). Atualmente, a busca por fontes naturais de antioxidantes é uma tendência forte (Ferrerres et al., 2007). A causa do estresse oxidativo é um desequilíbrio entre os sistemas protetores e a produção de radicais livres (McCord, 2000). O excesso de espécies reativas danifica os lipídios celulares, proteínas e DNA por ação oxidativa, o que pode resultar em perda de função e até mesmo morte celular (Habib & Ibrahim, 2011), que ligou o estresse oxidativo a algumas doenças (Durackova, 2010). defensivos antioxidantes endógenos e exógenos protegem contra danos de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. São classificados em enzimáticos: catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD); e sistemas não enzimáticos: tiol reduzido (GSH), vitaminas, minerais e polifenóis (Rezaie, Parker, & Abdollahi, 2007).

Devido ao seu alto valor nutricional e teores de flavonóides, as investigações para avaliar o potencial do maracujá como alimento funcional ou fonte de compostos ativos para fins antioxidantes ou antiinflamatórios são muito importantes. Além disso, embora os subprodutos agroindustriais talvez sejam fontes ricas de compostos bioativos (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006), Estudos recentes têm mostrado o potencial do maracujá e sua casca por vários anos. efeitos, como o efeito anti-hipertensivo da casca da fruta paixão atribuída parcialmente ao efeito vasodilatador de polifenóis, especialmente o flavonóide luteolina (Ichimura et al., 2006). No entanto, a atividade biológica da polpa que tem sido a mais estudada em termos de textura é sua atividade antioxidante, usando vários métodos, como DPPH, FRAP, ABTS e DMPD (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005; Vasco, Ruales, & Kamal-El-din, 2008).

2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Alimento funcional é definido pela Secretaria de Vigilância Sanitária, do Ministério da Saúde, tal como "aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutritivas básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produza efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica" (RDC nº 18/99) (BRASIL, 1999a).

Atualmente, alimentos funcionais são definidos como alimentos naturais ou processados que contêm compostos bioativos conhecidos ou desconhecidos que, em definição, em quantidades atóxicas, promovam benefício clinicamente comprovado à saúde, prevenindo, gerindo ou tratando doenças crônicas (MARTIROSYAN; SINGH, 2015).

Esses alimentos fazem parte de uma emergente área da alimentação e da Ciência da Nutrição e representam uma das tendências mais recentes para o mercado de alimentos, visto a exigência cada vez maior dos consumidores por alimentos que tragam, além do benefício da nutrição básica, sabor agradável e a capacidade de trazer outros benefícios à saúde, como a redução de risco de doenças crônicas e de intolerâncias alimentares (HENRY, 2010).

Os alimentos funcionais não estão distribuídos de forma homogênea por todos os segmentos do mercado de alimentos e bebidas. Preocupações com a saúde do consumidor e as preferências do produto podem variar entre os mercados. Em resposta ao crescente número de consumidores interessados em melhorar sua saúde, a indústria de alimentos oferece uma grande variedade de novos produtos dessa categoria (HSIEH, 2007; RANADHEERA et al., 2016).

Para desenvolver ainda mais as indústrias de cabras leiteiras, muitas prioridades estratégicas foram levadas em consideração, incluindo o desenvolvimento de produtos de leite de cabra de valor agregado. (PULINA et al., 2018). Nos últimos anos, o mercado de alimentos funcionais tem aumentado com o crescente interesse do consumidor em adotar uma dieta saudável e a busca por produtos alimentícios diversificados. A indústria alimentícia tem interesse em explorar novos produtos alimentícios com boa aceitação, melhores valores nutricionais e benefícios para a promoção da saúde (ARYANA; OLSON, 2017)

Os alimentos funcionais são atualmente parte do novo nicho de mercado e a indústria continua a expandir-se com ingredientes naturais como os impulsionadores mais influentes (BALTHAZAR et al., 2017; DA GRANATO et al., 2017).

A evolução da ciência e tecnologia de alimentos e o reconhecimento da estreita relação entre a alimentação e a saúde têm impulsionado os cientistas e profissionais de saúde para uma contínua busca de substâncias/alimentos que possam, efetivamente, desempenhar um papel benéfico na saúde humana (REYNOLDS; MARTIROSYAN, 2016).

Nesse sentido, os produtos lácteos de cabra com essas propriedades poderiam impulsionar o setor através do desenvolvimento de produtos inovadores e aumentar a demanda do consumidor (AGUILAR-TOALÁ et al., 2018). Segundo (FLOROWSKA et al., 2016) entre alimentos com alegações funcionais são aqueles adicionados com substâncias prebióticas ou micro-organismos probióticos.

Os micro-organismos probióticos têm sido largamente explorados pela indústria de laticínios como uma ferramenta para o desenvolvimento de novos produtos funcionais (VASILJEVIC; SHAH, 2008; BALDISSERA et al., 2011), principalmente, no que se refere a respeito a caracterização de cepas probióticas específicas e a matriz de alimentos; e da interação do teor nutricional dos componentes alimentares com as cepas probióticas mais eficientes (ISOLAURI, 2007).

Os queijos são alimentos apresentam-se como excelentes carreadores de probióticos em relação a outros laticínios, mas, ao mesmo tempo, representam um grande desafio tecnológico quanto à manutenção das suas características de qualidade e viabilidade das cepas (CASTRO et al., 2015b).

Queijos probióticos têm sido desenvolvidos com contagens de micro-organismos que se mantêm viáveis ao longo da vida de prateleira. É presumível que a quantidade de queijos probióticos desenvolvidos aumente significativamente em um futuro próximo, embora muitos destes não sejam comercializados se suas características sensoriais forem indesejáveis e se houver mudanças na textura e em outras características de qualidade (CASTRO et al., 2015c).

Quanto aos micro-organismos probióticos utilizados na produção dos queijos, os mais comuns são o *Lactobacillus* spp. e o *Bifidobacterium* spp., devido a sua fisiologia. Culturas *starters* também são utilizadas em uma ou mais etapas da produção de queijos, promovendo atividade metabólica desejável durante a fermentação ou maturação e conferindo características, tais como sabor, aroma, cor, textura, conservação, valor nutricional e possivelmente benefícios à saúde (CASTRO et al., 2015d).

2.3.1 Probióticos

Os probióticos são definidos como "micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício para a saúde do hospedeiro" (HILL et al., 2014), e as bactérias lácticas com características benéficas têm sido cada vez mais utilizadas como iniciadores probióticos para fermentação de alimentos para favorecer a função imunológica e prevenir infecções gastrointestinais (HIGGINS et al., 2010).

As bactérias probióticas encontram no leite uma rica fonte de carboidratos que são rapidamente metabolizados e convertidos em outros metabólitos de ácido láctico. Devido a isso, muitos produtos usam principalmente probióticos e prebióticos para receber status “funcional”. O leite de cabra tem-se revelado um excelente portador de probiótico entre os produtos lácteos. Iogurte, leite fermentado, queijo e sorvete são os veículos lácteos de cabra mais comumente usados para culturas probióticas (RANADHEERA; NAUMOVSKI; AJLOUNI, 2018). Muitos estudos demonstraram essa viabilidade satisfatória de probióticos nos produtos lácteos de cabra ao longo do tempo de armazenamento, facilitando a sobrevivência a longo prazo dos probióticos, devido às suas propriedades físico-químicas, como pH adequado, boa capacidade tamponante e alto teor de nutrientes. Além disso, o leite de cabra cru, tem sido amplamente utilizado para isolar micro-organismos com características probióticas potenciais (MORAES et al., 2017; SHARMA, et al., 2017; YAZDI et al., 2017).

Os efeitos benéficos do probiótico através do seu consumo inclui o balanceamento da microbiota intestinal, melhorias para o processo digestivo, metabolização da lactose, reforço da resposta do sistema imunológico e propriedades anticarcinogênicas. Em produtos lácteos, o gênero *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são as culturas probiótica mais utilizada (CHAMPAGNE et al., 2018). A dose diária mínima recomendada de probióticos é de cerca de 8–9 log de unidades formadoras de colônias (UFC/g), que podem ser através do consumo diário de pelo menos 100 g de um registro de 6 a 7 Unidades formadoras de colônias (UFC/g do produto) (BOYLSTON et al., 2004).

A viabilidade dos micro-organismos probióticos pode ser influenciado por diversos fatores durante a produção, processamento e armazenamento. Dentre esses fatores estão as propriedades da matriz alimentar onde foi inoculado (pH, acidez titulável, atividade de água, oxigênio molecular, presença de sal, açúcar, e produtos químicos), parâmetros de processamento (tratamento térmico, taxa de arrefecimento do produto, materiais de embalagem, temperatura de incubação e condições de armazenamento e escala de produção) e parâmetros microbiológicos (estirpes de probióticos, taxa e proporção de inoculação) (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Para que ocorra a produção dos efeitos benéficos no intestino, os probióticos devem ser capazes de sobreviver no trato gastrointestinal, incluindo o ambiente ácido extremo nas condições de estômago e sal de bile no intestino delgado, aderindo às células epiteliais intestinais. Ademais, a tolerância de cepas probióticas ao ácido gástrico e bile no trato gastrointestinal, podem ser melhoradas através da escolha de uma matriz alimentar

transportadora apropriada, que pode oferecer alguma proteção para os probióticos, limitando a sua exposição ao ambiente físico gastrointestinal severo (RANADHEERA et al., 2012, 2014).

Estudos informaram que o uso de produtos lácteos de cabra como matriz transportadora para probióticos pode afetar suas propriedades funcionais no trato gastrointestinal, podendo atuar como matriz protetora durante o processo de digestão. Assim, as cepas candidatas com características probióticas, são muito promissoras para a fermentação do leite, tais como leites fermentados, queijos, iogurtes, etc (BOTTA et al., 2014). Além disso, os probióticos demonstraram trazer um equilíbrio positivo na microbiota intestinal após um desequilíbrio causado pelo tratamento antibiótico ou infecções devido a agentes patogênicos e outros estresses (ZHANG et al., 2015). Isso envolve absorção de nutrientes, imunidade resposta e resistência de colonização a agentes patogênicos (CHEN et al., 2014).

Estudo tem revelado que cepas de bactérias probióticas podem apoiar o tratamento ou até prevenir algumas doenças, principalmente devido à sua capacidade de modular a microbiota intestinal (BUTEL, 2014). Novas aplicações de probióticos fora do trato gastrointestinal também estão se tornando cada vez mais relevantes (HOMAYOUNI et al., 2013).

Alguns parâmetros da produção e fabricação de alimentos podem efetivamente confinar os probióticos. Estes incluem pH, atividade de água, concentrações de açúcar e sal, acidez titulável, conservantes e componentes químicos (peróxido de hidrogênio, aromatizante artificial e agentes corantes), níveis de oxigênio (incluindo oxigênio molecular), temperatura de incubação, tratamento de temperatura, materiais de embalagem e condições de armazenamento (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Uma cepa específica, que exibe uma potencial propriedade probiótica, não pode simplesmente ser introduzida em qualquer produto comercializado. Para que um micro-organismo probiótico seja incorporado a um produto alimentício, ele deve satisfazer os seguintes critérios básicos: ser especificado (pelo gênero e cepa, como mencionado anteriormente), ser seguro para o uso pretendido, ser vivaz no produto e ser entregue em dose adequada para efetuar uma resposta no final de sua vida útil em estudos humanos controlados (HILL et al., 2014).

2.3.2 Prebióticos

A mais recente definição de prebiótico considera-o um substrato usado seletivamente por micro-organismos hospedeiros que conferem benefícios para a saúde. Esta nova definição

não difere muito da anterior, no entanto, os autores esclarecem que os prebióticos também poderiam ser administrados diretamente a outros locais do corpo colonizados por microorganismos, não necessariamente sendo administrados por via oral. Essa nova definição também considera que os efeitos sobre a saúde dos prebióticos estão evoluindo e, embora a maioria dos prebióticos conhecidos sejam carboidratos, outras substâncias, como polifenóis e ácidos graxos poliinsaturados, podem ser incluídas na definição atual (GIBSON et al., 2017).

O uso de prebióticos, como ingrediente funcional para estimular a produção de folato por micro-organismos para alimentos bioenergéticos, são investigados (ALBUQUERQUE et al., 2017; VIEIRA et al., 2017). Os prebióticos mais populares estudados até agora incluem inulina, frutooligossacarídeos (FOS), oligofrutose (OF), galactooligossacarídeos (GOS), oligossacarídeos de soja (SOS), xiloligossacarídeos (XOS), pirodextrinas, isomaltooligossacarídeos (IMO) e lactulose. Além do já mencionado, existem vários componentes alimentares que podem ser considerados como prebióticos (VERRUCK et al., 2019).

Para ser classificado como um prebiótico, um ingrediente alimentar deve atender a três critérios: primeiramente deve ser resistente à digestão em todo o trato gastrointestinal, chegando ao cólon intacto. Isso envolve ser resistente à hidrólise por ácidos gástricos, bordas em escova intestinal e enzimas pancreáticas. Em segundo lugar, não deve ser absorvido por nenhum segmento do trato gastrointestinal e em terceiro deve ser fermentado seletivamente por bactérias específicas promotora da saúde (Bifidobactéria e Lactobacilos) (MINGUILLÓN; PERALES; CORTECERO, 2012).

O potencial de aplicação de um prebiótico como um ingrediente alimentar funcional só é possível se os requisitos tecnológicos relativos à sua estabilidade ao processamento de alimentos forem atendidos. Os requisitos mais importantes são a estabilidade química ao aquecimento, redução de pH e reação de Maillard (HUEBNER et al., 2008).

Para garantir um efeito contínuo, os prebióticos devem ser ingeridos diariamente. Para contribuir para o estímulo da multiplicação de bifidobactérias no cólon, doses diárias de 4 a 5 g de inulina e/ou FOS são eficientes. No Brasil, a recomendação da legislação toma como base na porção diária de FOS e inulina que devem ser ingeridos, sendo o mínimo estipulado para FOS e inulina de 3 g em alimentos sólidos e 1,5 g para alimentos líquidos (ANVISA, 2008).

O consumo excessivo de prebióticos, por sua vez, pode causar desconforto intestinal, flatulência ou até diarreia, como consequência da sua habilidade em transferir água para o intestino grosso (efeito osmótico) e como um resultado da produção e gás a partir do

metabolismo bacteriano. Prebióticos, ao serem incorporados nos alimentos, não devem afetar negativamente a qualidade dos alimentos, devem ser estáveis durante o seu processamento e distribuição. Alguns parâmetros tecnológicos, tais como altas temperaturas e baixos valores de pH, especialmente quando combinados com longos períodos de armazenamento, podem reduzir a atividade de alguns prebióticos com perdas de propriedades nutricionais e físico-químicas. Outra limitação tecnológica do partir do metabolismo bacteriano (LADIRAT et al., 2014).

Frutooligossacarídeos (FOS) e inulina são amplamente utilizados como prebióticos; eles são extraídos de alcachofra, chicória e dália de Jerusalém (RUBEL et al., 2014) e receberam o status GRAS (Generally Recognized As Safe) da Food and Drug Administration (IMPERIAL-SENSUS, 2002). Ambos reduzem o risco de muitas doenças, inibem o crescimento de bactérias patogênicas e a produção de metabólitos nocivos (KARIMI et al., 2015). No entanto, eles poderiam estimular seletivamente bifidobactérias e lactobacilos no intestino (ALTIERI et al., 2013; HUEBNER et al., 2007).

2.3.3 Simbióticos

A combinação de um ou mais probióticos com um ou mais prebióticos dá origem a produtos chamados simbióticos. Assim, os prebióticos são complementares e sinérgicos aos probióticos, apresentando um fator multiplicador em suas ações isoladas (FLESCHE; POZIOMYCK; DAMIN, 2014).

A sinergia potencial entre probióticos e prebióticos foi considerada eficiente devido à melhoria da sobrevivência e implantação de probióticos no sistema gastrointestinal. Um dos principais benefícios dos simbióticos é fornecer a maior persistência dos probióticos no trato gastrointestinal. A principal razão para a desvantagem é que, na ausência de prebióticos, os probióticos podem não sobreviver devido à intolerância ao oxigênio, baixo pH e temperatura desfavorável (SHAFI et al., 2014).

Por exemplo, a inulina e os frutooligossacarídeos têm um efeito bifidogênico, ou seja, estimulam o crescimento intestinal de bifidobactérias que, por efeito antagonista, suprimem a atividade de outras bactérias indesejáveis. O crescimento de bifidobactérias, estimuladas pelos frutooligossacarídeos, leva à redução do pH devido à produção de ácidos, afetando a redução do número de bactérias patogênicas ou nocivas, atenuando a formação de metabólitos tóxicos (GIBSON et al., 2017).

Em revisão, existem vários trabalhos envolvendo a produção de produtos lácteos de cabra simbiótica. Exemplos de aplicação de bactérias probióticas, associados a prebióticos em laticínios são em queijos, iogurte, bebidas lácteas, kefir e creme são as matrizes mais exploradas (VERRUCK et al., 2019).

Alimentos funcionais contendo prebióticos e probióticos têm atraído o interesse da indústria de laticínios, tanto por razões econômicas quanto por evidências científicas relacionadas aos seus benefícios positivos à saúde (BALTHAZAR et al., 2017a). O mercado prebiótico e probiótico está testemunhando um crescimento sem precedentes (SILVA et al., 2017). Assim, a combinação de leite de cabra e ingredientes funcionais é uma das áreas de pesquisa mais promissoras para a indústria moderna de laticínios caprinos.

Levando em consideração que o uso de prebióticos e probióticos é uma área emergente para o desenvolvimento de produtos lácteos de cabra, esta revisão visa mostrar um quadro completo do conhecimento atual sobre as características e vantagens do leite de cabra como um produto funcional potencial e seus benefícios saúde humana. Ele também fornece a base teórica necessária e alguns detalhes sobre o uso de prebióticos e / ou probióticos em produtos lácteos de cabra, enfrentando o moderno desenvolvimento de produtos lácteos em todo o mundo (VERRUCK et al., 2019). Nesse sentido, os produtos lácteos de cabra com essas propriedades poderiam impulsionar o setor através do desenvolvimento de produtos inovadores e aumentar a demanda do consumidor (AGUILAR-TOALÁ et al., 2018).

A interação entre um probiótico e um prebiótico pode ser favorecida por uma adaptação do probiótico ao substrato prebiótico anteriormente ao seu consumo, ou seja, quando ambos estão inseridos no alimento. Isso pode, em alguns casos, gerar uma vantagem competitiva para a cultura probiótica quando ingerida em combinação com o ingrediente prebiótico. O consumo de probióticos e prebióticos, selecionados apropriadamente, pode aumentar o efeito benéfico de cada um deles, uma vez que o estímulo das cepas probióticas conhecidas leva à escolha de pares simbióticos substrato-micro-organismo ideais (NAGPAL; KAUR, 2011).

Bifidobacterium e *Lactobacillus* são gêneros de micro-organismos probióticos alvos dos ingredientes prebióticos. Apesar do crescente interesse no desenvolvimento de novos alimentos funcionais simbióticos, necessita-se de maiores pesquisas devido às necessidades individuais do substrato de cada espécie e cepa de micro-organismo probiótico (LAMIKI, 2010). Existem, comercialmente, algumas combinações de simbióticos disponíveis. Há, no entanto, ainda poucos estudos sobre a efetividade da ação do prebiótico no aumento da sobrevivência e crescimento dos probióticos *in vivo* e *in vitro* (DUNCAN; FLINT, 2013).

Dentre os diversos alimentos lácteos, o queijo apresenta-se como importante e viável matriz alimentar para a incorporação simultânea de probióticos e prebióticos. Entretanto, é importante destacar que nem sempre isto é possível, uma vez que a adição de prebióticos, como a inulina, pode prejudicar a estrutura dos queijos sólidos, tornando-os quebradiços (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Isso ocorre principalmente por resultar em uma retenção excessiva de soro durante a dessoragem. Sendo assim, a adição desses ingredientes é recomendada na fabricação de queijos cremosos (BURITI, 2005). Assim, o desenvolvimento dos queijos funcionais implica, obrigatoriamente, no conhecimento de todas as suas etapas de processamento.

Além disso, o impacto sensorial dos ingredientes probióticos e prebióticos incorporados nos queijos também não foi muito estudado. No entanto, foi assumido que produtos contendo esses ingredientes têm diferentes perfis de sabor, quando comparados a produtos convencionais não funcionais (MATTILA-SANDHOLM et al., 1999).

Produtos simbióticos e uma combinação de pré e probióticos em um dado produto alimentício (HOLZAPFEL; SCHILLINGER, 2002), são um conceito mais recente; eles podem melhorar a promoção da saúde de uma forma sinérgica, tanto sobre probióticos ou prebióticos sozinhos, e são, portanto, já comercializados na Europa e no Japão, mas apenas como leite fermentado ou iogurte (MAUKONEN et al., 2008; ROY, 2005). Os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina estão entre os compostos prebióticos mais famosos (BURITI et al., 2007; CARDARELLI et al., 2007; GILLILAND, 2001; ROBERFROID, 2005).

Bebidas probióticas contendo prebióticos têm vantagens múltiplas desde que os prebióticos passam sem afetar o intestino delgado para o intestino grosso e se tornarem acessíveis para bactérias probióticas sem serem utilizados por outras bactérias intestinais (AL-SHERAJI et al., 2013).

Mais estudos também são necessários para investigar os efeitos da adição de micro-organismos probióticos e, especialmente, de componentes prebióticos em laticínios caprinos.

Embora novas substâncias funcionais estejam sendo avaliadas e as aplicações sejam feitas (Quadro 1), há uma falta de substâncias prebióticas empregadas nos produtos lácteos de cabra. Assim, esta é uma área que pode ser mais investigada e tem potencial para aumentar a gama de prebióticos produtos disponíveis no mercado. Além disso, sabe-se que a viabilidade dos probióticos não é um requisito essencial para exercer benefícios à saúde, o que representa uma oportunidade em potencial na área de produtos lácteos funcionais e uma área emergente para o desenvolvimento de produtos lácteos de cabra. Finalmente, alguns estudos *in vivo* mostraram que efeitos benéficos foram atribuídos à saúde de seus consumidores. No entanto, mais trabalhos *in vivo* ainda são necessários para fundamentar essas alegações, principalmente com outros tipos de produtos lácteos de cabra e outras bactérias probióticas e/ou substâncias prebióticas (BALTHAZAR et al., 2017b).

Quadro 1 - Cepas probióticas associadas a substâncias prebióticas utilizadas na fabricação de queijos caprinos

Produto	Cepa Probiótica	Prebiótico	Referência
Queijo Coalho	<i>Bifidobacterium longum</i> NRRL B 41409, <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> NRRL B-4560	Inulina e Oligofrutose	Kinik et al. (2017)
Queijo Petit suisse	<i>L. acidophilus</i> e <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	Inulina e Frutooligossacarídeos	Cardarelli Buriti; Castro; Saad (2008); Maruyama et al; (2006)
Requeijão	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-05, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12	Inulina	Barbosa et al. (2016)
Queijo Chevrotin	<i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i>	Inulina Mistura oligofrutose	Beltrao;Moura;Madruga; Andrade (2017);Lima et al. (2017)

Assim, a elaboração e caracterização de queijos simbióticos são um importante alternativa para a indústria de alimentos, já que a adição desses ingredientes resulta em efeitos positivos sobre os produtos como melhora da textura e maior viabilidade das bactérias probióticas ao longo da vida de prateleira.

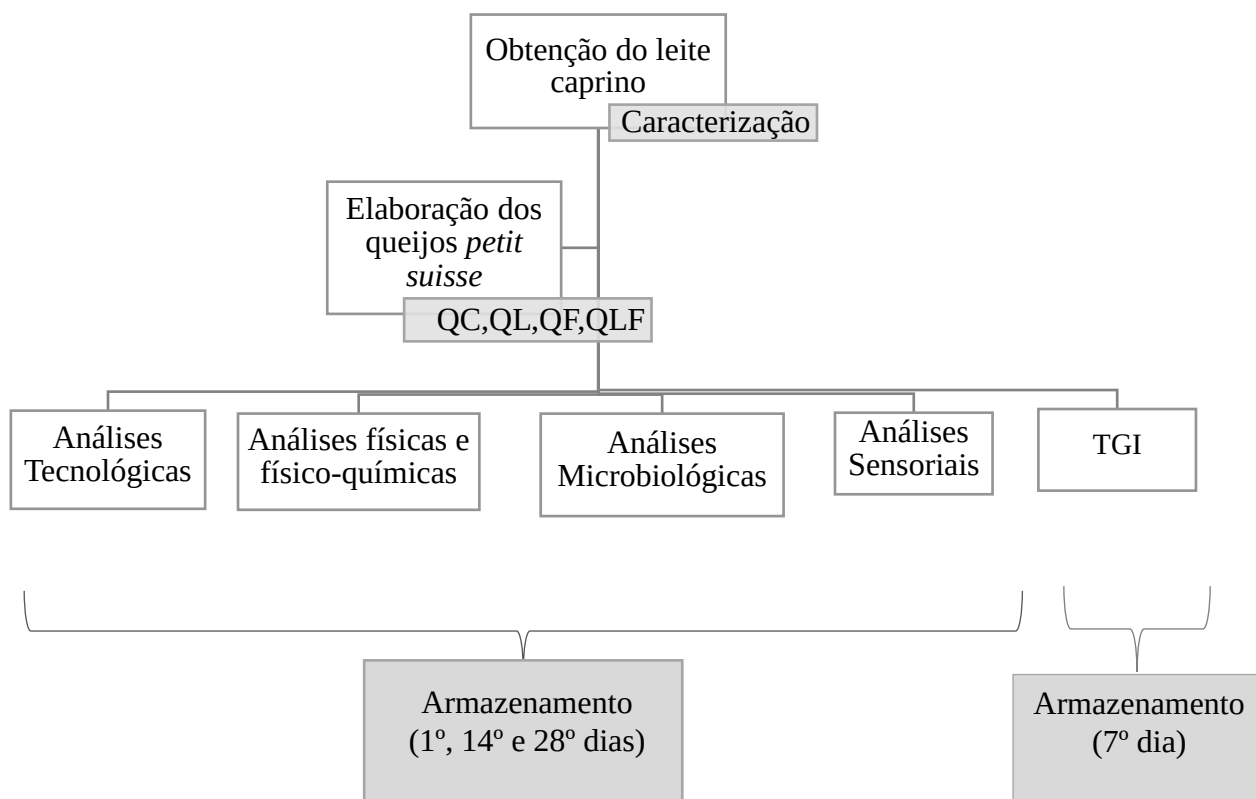
3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

O leite utilizado na elaboração dos queijos *petit suisse* foram obtidos da empresa Casa do Cariri[®], localizada na cidade de João Pessoa/PB. Após adquiridos, os leites foram transportados em caixas isotérmicas para o Laboratório de Técnica Dietética/UFPB, *Campus* I, e armazenados sob refrigeração (4 ± 1 °C por, no máximo, 1 dia), até o momento do processamento dos queijos. A cultura probiótica composta pela estirpe *Lactobacillus mucosae* CNPC007 foi obtida da "Coleção de Micro-organismos de Interesse para a Agroindústria Tropical" da Embrapa Agroindústria Tropical/Fortaleza, Ceará, Brasil; o prebiótico frutooligossacarídeos (FOS) foi disponibilizado pela SweetMix[®] (Sorocaba, São Paulo, Brasil). O coalho (coagulante líquido HA-LA) foi adquirido da empresa Christian Hansen[®] (Valinhos, São Paulo, Brasil); o ácido láctico e o cloreto de cálcio (CaCl_2) P.A da FMaia[®] Ltda (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). O creme de leite tradicional esterilizado (Nestlé do Brasil Ltda., Araçatuba, Brasil) e o açúcar cristal (União[®], Limeira, São Paulo, Brasil), foram obtidos em redes de supermercado da cidade de João Pessoa/PB, e os maracujás obtidos na forma “in natura” em feiras-livres da cidade de João Pessoa/PB.

3.2 LOCAL DE EXECUÇÃO E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O produto foi elaborado no Laboratório de Técnica Dietética pertencente ao Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. As análises tecnológicas, físicas, físico-químicas, sensoriais e microbiológicas foram conduzidas nos Laboratórios de Bromatologia, Técnica Dietética e Microbiologia de Alimentos, todos pertencentes ao Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. As análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *Campus* de Cuité/PB. Na Figura 2 é apresentado o delineamento experimental desta pesquisa.

Figura 2 - Delineamento experimental

Quatro diferentes tipos de queijos *petit suisse* caprinos foram produzidos, a citar: queijo *petit suisse* caprino controle – QC; queijo *petit suisse* caprino adicionado do micro-organismo probiótico *L. mucosae* CNPC007– QL; queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeos (FOS) – QF; e o queijo *petit suisse* caprino adicionado do micro-organismo probiótico *L. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeos associados – QLF.

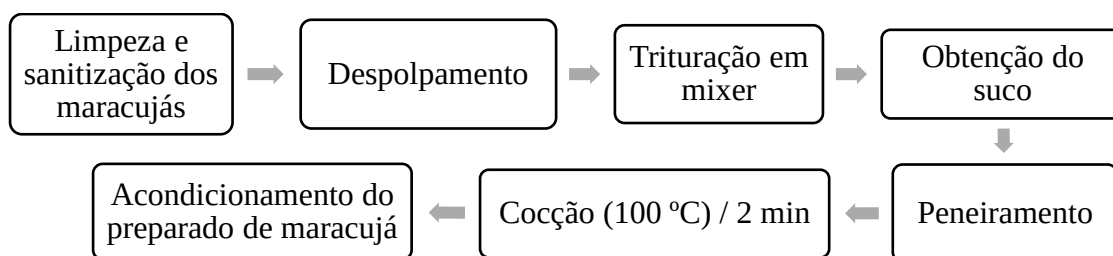
3.3 ELABORAÇÃO DO PREPARADO DE MARACUJÁ E DO QUEIJO *PETIT SUISE* CAPRINO

3.3.1 Elaboração do preparado de maracujá

Os maracujás foram lavados em água corrente e imergidos em solução sanitizante de água clorada por 15 minutos, na proporção de 100 ppm de hipoclorito de sódio, e, posteriormente, foram enxaguados. Em seguida, abriram-se os maracujás, e a polpa foi triturada rapidamente no mixer (Oster®, FPSTHB2615U-017, São Paulo), a fim de evitar a quebra completa das sementes. O suco foi peneirado com o auxílio de uma peneira de uso

doméstico e levado a cocção (100 °C/ 2 min), e posteriormente acondicionado em recipientes de plástico de poliestireno, sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C), até momento da elaboração do queijo *petit suisse*. O processo de elaboração do preparado de maracujá está descrito no fluxograma apresentado na Figura 3.

Figura 3 – Etapas para elaboração do preparado de maracujá



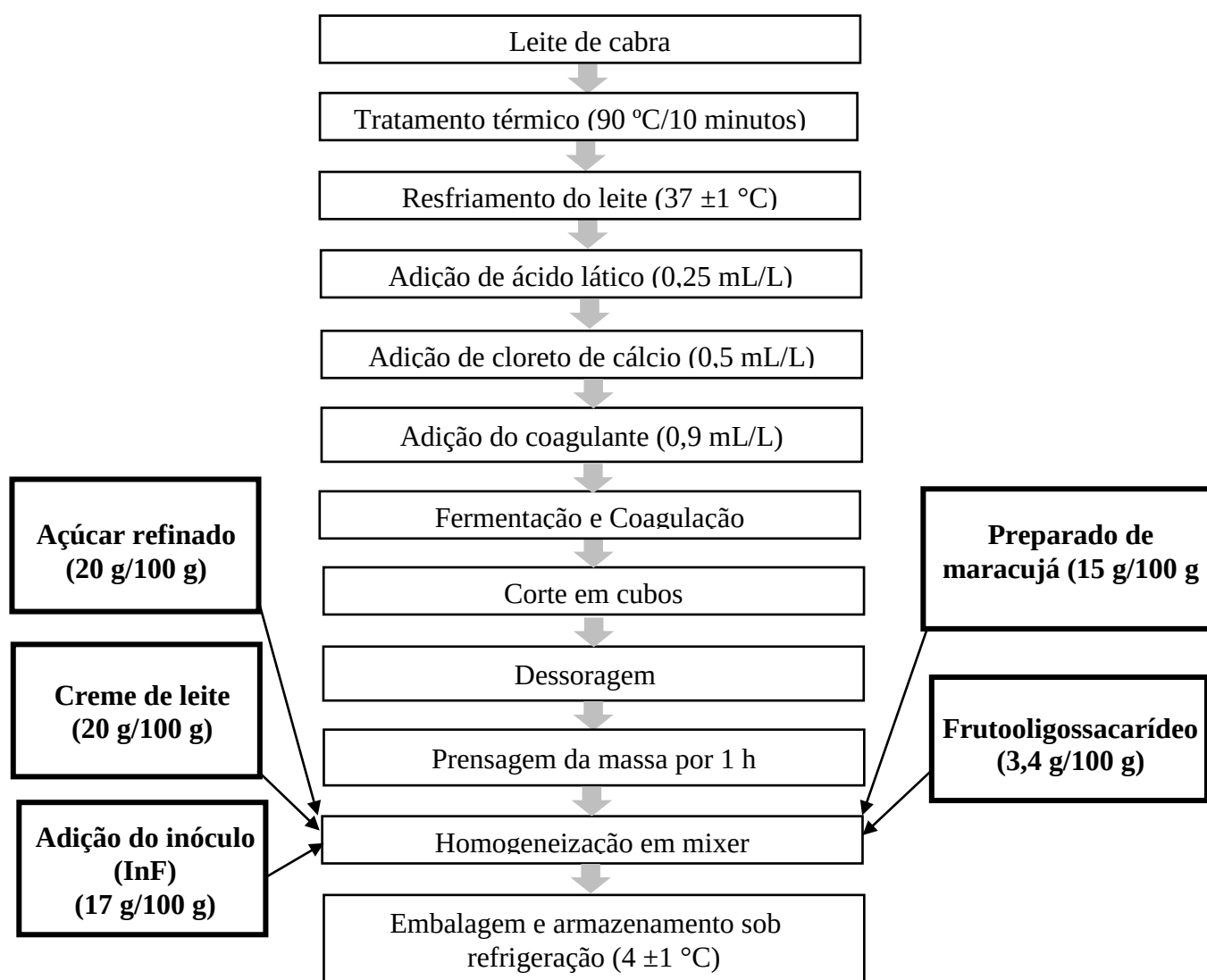
3.3.2 Processamentos dos queijos *petit suisse* caprino com potencial funcional

Inicialmente, antes do processamento dos queijos *petit suisse*, realizou-se a determinação da fase estacionária de *Lb. mucosae* CNPC007, que consistiu em diluir de 0,1 g da cepa liofilizada em 10 mL de água salina esterilizada (0,85%). Essa suspensão foi distribuída em cada poço de uma microplaca de 96 poços que foi incubada em leitor de microplacas/incubadora (EON, Biotek, EUA) a 37 °C, em condições de aerobiose, utilizando absorvância 600 nm, para avaliação do crescimento bacteriano em diferentes intervalos de tempo (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 h), sendo estabelecidos 22 h como tempo de alcance da fase estacionária para este micro-organismo. Paralelo a esse ensaio de ajuste da fase estacionária da cepa, inóculos com crescimento visível em água salina estéril (0,85%), preparados como descrito acima, sofreram ajuste para obter-se OD600 nm = 0,5 (absorvância), correspondente a cerca de 7 - 8 log UFC/g. Em seguida, realizou-se o preparo do inóculo da bactéria probiótica em leite, que foi adicionado aos tratamentos QL e QLF. Para tanto, o inóculo final (InF) utilizado foi previamente preparado dividindo-se em duas etapas. Primeiramente, o inóculo 1 (In1) foi preparado através da diluição de 0,1 g da cepa de *Lb. mucosae* liofilizada em 10 mL de leite de cabra em pó reconstituído (Caprilat[®]) em água estéril, o qual foi incubado por 22 horas (tempo de alcance da fase estacionária) a 37 °C; posteriormente, o inóculo 2 (In2) foi preparado através da proporção de 1/2 do In1 + 10 mL de leite de cabra em pó reconstituído em água estéril, incubado por 22 horas a 37 °C, resultando no inóculo final (InF), com cerca de 6 - 7 log UFC/g. Para confirmação dessas

contagens estabelecidas em OD600 nm, uma alíquota deste inóculo foi tomada e submetida a diluições seriadas decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Seguindo a técnica da microgota, despejou-se 10 μ L de diluições adequadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), acidificado a pH 5 (IDF, 1995). As placas foram incubadas em aerobiose a 37 °C durante 48 h. Os resultados foram expressos em log UFC/g.

Os queijos *petit suisse* caprinos foram elaborados da forma descrita no fluxograma apresentado na Figura 4, conforme metodologia padronizada em laboratório.

Figura 4 - Fluxograma de processamento dos queijos *petit suisse* caprino adicionado de maracujá.



A massa-base para produção de Queijo Quark (Qq) foi elaborada utilizando-se leite caprino submetido a tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 min), sendo em sequência resfriado a 37 ± 1 °C. A solução preparada de ácido láctico (85%) foi adicionada em uma proporção de 0,25 mL/L, seguida de homogeneização. Posteriormente, ocorreu a adição do cloreto de cálcio (0,5 mL/L) e do coalho (0,9 mL/L), que foi previamente diluído na mesma quantidade de água filtrada, e adicionado quando o leite atingiu pH entre 6,3 a 6,5, seguido de homogeneização. Após a coagulação da massa (pH entre 5,6 e 5,8), a coalhada foi cortada por uma lira, em cubos (1,5 a 2,0 cm). Em seguida, a massa foi transferida para uma forma de queijo contendo um dessorador para a realização da drenagem de soro por gravidade, por um período de 1 h.

O queijo *petit suisse* foi obtido a partir de homogeneização em mixer do Queijo Quark (Qq) com os seguintes ingredientes: 20% creme de leite, 15% de preparado de maracujá, 20% açúcar refinado, 3,4% de frutooligossacarídeos (apenas para os tratamentos QF e QLF) e 17% do (InF) (apenas para os tratamentos QL e QLF), sendo seus percentuais definidos com base no peso da massa do queijo quark.

Finalizada a homogeneização de todos os ingredientes citados acima, acondicionou-se o produto em um recipiente de plástico de poliestireno estéril com tampa, sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C), até o momento das análises.

3.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE E CARACTERIZAÇÃO DOS QUEIJOS *PETIT SUISSE* CAPRINOS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

O leite de cabra utilizado no processamento dos queijos *petit suisse* caprinos foram submetido, em triplicata, às análises físico-químicas (acidez em ácido láctico, extrato seco total, resíduo mineral fixo, proteínas, gordura e lactose), segundo metodologias da AOAC (2012), e as análises microbiológicas de *Salmonella* spp., coliformes totais e termotolerantes, de acordo com a APHA (2001).

Após o processamento, as amostras de queijos foram submetidas em triplicata às análises tecnológicas, físicas, físico-químicas (incluindo determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante), microbiológicas e sensoriais e avaliação do efeito protetor da matriz alimentar sobre a sobrevivência do micro-organismo probióticos em condições simuladas do trato gastrointestinal (TGI), segundo metodologias as serem descritas a seguir.

3.4.1 Avaliação das propriedades tecnológicas

A avaliação das propriedades tecnológicas foi baseada nos testes de sinerese e cor. A sinerese foi estabelecida pelo método de drenagem, onde 10 gramas da amostra foram distribuídas sobre um papel filtro na parte superior de um funil acoplado a um elermeyer de 100 mL, sendo calculado o índice de sinerese após 5 horas a 4 °C (RIENER et al., 2010), utilizando a equação:

(%) SINERESE: $[(\text{massa do soro de leite, após filtração} / \text{massa da amostra de leite fermentado}) \times 100]$.

A determinação da cor foi realizada em colorímetro Minolta®, modelo CR-300, utilizando o sistema CIELAB (CIE, 1996). No espaço colorimétrico CIELAB, definido por L*, a*, b*, a coordenada L* corresponde à luminosidade, a* e b* referem-se às coordenadas de cromaticidade verde (-)/vermelho(+) e azul(-)/amarelo(+), respectivamente. As medições foram realizadas com o aparelho previamente calibrado.

3.4.2 Análises físicas e físico-químicas

Os queijos *petit suisse* foram submetidos às análises de composição física e físico-química de acordo com as metodologias descritas pela Aqualab (2001), *Association of Official Analytical Chemist Methods* (AOAC, 2012) e Folch, Less e Stanley (1957). Realizaram-se os seguintes ensaios: a atividade de água, que foi determinada por meio do uso de aparelho Aqualab® (modelo CX-2 Water Activity System, Washington – USA), de acordo com instruções do fabricante (AQUALAB, 2001).

Para a determinação de pH utilizou-se potenciômetro digital modelo Q400 (Quimis®, Diadema, São Paulo, Brasil) previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do fabricante; acidez em ácido láctico por titulação; umidade e extrato seco total (EST), por secagem em estufa estabilizada a 105 °C até obtenção de massa constante; determinação de resíduo mineral fixo (RMF) por carbonização seguida de incineração em forno mufla a 550 °C; os açúcares totais pela redução de Fehling; para proteína foi utilizado o método Micro Kjeldahl, utilizando fator de 6,38 para conversão do nitrogênio total em proteína total (AOAC, 2012); e determinação de gordura pelo método de Folch, Less e Stanley (1957).

3.4.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro*

3.4.3.1 Obtenção do Extrato

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante *in vitro* (FRAP e ABTS), as diferentes formulações de *petit suisse* foram submetidas à extração dos constituintes bioativos, sendo realizada conforme metodologia descrita por Feng et al. (2019), com algumas modificações. Inicialmente, foram pesados 10 g de *petit suisse* em um erlenmeyer e adicionaram-se 30 mL de metanol a 80%. Em seguida, o frasco foi coberto com papel alumínio e na ausência da luz a mistura foi levada para agitação com barra magnética em chapa agitadora por 20 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Após, a mistura foi centrifugada (Centribio 80-2B) a 1252 g por 10 minutos e o sobrenadante recolhido e filtrado. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas.

3.4.3.2 Determinação de Compostos Fenólicos Totais (CFT)

Para determinar o teor de compostos fenólicos totais das formulações de *petit suisse* utilizou-se metodologia descrita por Liu et al. (2002), com algumas modificações. Resumidamente, 250 µL de cada extrato foram misturados em tubo de ensaio com 1250 µL do reagente Folin-Ciocalteu 10%. As soluções foram agitadas em vórtex e armazenadas em temperatura ambiente (23 °C) na ausência da luz por 6 minutos. Após, foram adicionados 1000 µL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi levada ao banho maria a uma temperatura de 50 °C, durante 5 min. Após, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Também foi realizado um branco com a ausência dos extratos para zerar o espectrofotômetro. O conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras foi determinado utilizando uma curva padrão preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cem gramas de *petit suisse* (mg EAG/100 g).

3.4.3.3 Atividade Antioxidante *in vitro* - Método FRAP

Para determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi utilizada metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Rockenbach et al. (2011). O reagente FRAP foi preparado somente no momento da análise, através da mistura de 11 mL de tampão acetato (0,3M, pH 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (10 mM em HCl a 40 mM) e

1,1 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM). Para a análise, 200 µL dos extratos foram adicionados a 1800 µL do reagente FRAP em um tubo de ensaio e levados ao banho maria a 37 °C por 30 minutos. Para cada extrato foi realizado um branco, sem adição do extrato. Após, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (BEL Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 593 nm. Para determinar a atividade antioxidante (FRAP) foi utilizada curva de calibração com Trolox e os resultados foram expressos em µmol de trolox/g de amostra.

3.4.3.4 Atividade Antioxidante *in vitro* - Método ABTS

O método ABTS foi realizado de acordo com a metodologia de Sariburun et al. (2010), com algumas modificações. Inicialmente, formou-se o radical ABTS através da reação da solução ABTS^{•+} a 7 mM com a solução de persulfato de potássio a 140 mM, sendo incubados a temperatura de 25 °C, no escuro, durante 12-16 horas. Uma vez formado o radical, o mesmo foi diluído em água destilada até obter o valor de absorbância de 0,800 (±0,020) a 734 nm. A partir de cada extrato, foram preparadas quatro diluições diferentes, em triplicatas. Em ambiente escuro foi transferido para um tubo de ensaio uma alíquota de 100 µL dos extratos e adicionado 500 µL do radical ABTS. Após isto, os tubos de ensaio foram mantidos na ausência de luz por 6 minutos. Em seguida, realizou-se a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Também foi feita uma solução “controle” que consistiu em uma alíquota de 100 µL do solvente extrator dos extratos adicionada de 500 µL do radical ABTS. A solução “branca” foi o solvente extrator de cada extrato, utilizada para zerar o espectrofotômetro. Como referência, foi utilizado o Trolox e os resultados expressos em µM trolox/g de amostra.

3.4.4 Avaliação da qualidade microbiológica

As análises microbiológicas compreenderam a avaliação da qualidade higiênico sanitária e de viabilidade do *L. mucosae* CNPC007 ao longo do armazenamento. No controle de qualidade foram realizados os seguintes ensaios: análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, de acordo com os métodos AOAC 991.14 e AOAC 997.02 (KNIGHT et al., 1997).

As contagens das células viáveis de *L. mucosae* CNPC007 adicionado ao queijo *petit suisse* caprino (QL e QLF) foram determinadas através da preparação de diluições seriadas

decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Seguindo a técnica da microgota, despejou-se 10 µL de diluições adequadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), acidificado a pH 5 (IDF, 1995). As placas foram incubadas em aerobiose a 45 °C durante 48 h (MORAES et al, 2018).

3.4.5 Análises sensoriais

Para realização das análises sensoriais, a pesquisa foi submetida à avaliação pelo Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Ciências da Saúde/UFPB (CEP/CCS), sob nº CAAE: 02157218.4.0000.5188, cuja execução foi aprovada em parecer consubstanciado do CEP/CCS nº 3.064.176 (Anexo A). As análises sensoriais foram conduzidas depois de obtidos os resultados das análises microbiológicas, com o objetivo de assegurar a qualidade do produto antes de ser oferecido aos provadores. Realizaram-se testes de aceitação sensorial, intenção de compra e preferência relativa entre as amostras, segundo Faria e Yotsuyanagi (2002). No teste de aceitação foram empregados os critérios estabelecidos por Amerine, Pangborn e Roessler (1967). Para tal, um painel não treinado constituído por 70 provadores (alunos, professores e funcionários da UFPB, selecionados com base nos hábitos e interesse em consumir queijo *petit suisse*, constituídos tanto pelo gênero masculino como feminino, cuja faixa etária podia variar de 18 a 45 anos de idade, não apresentando nenhum problema de saúde ou deficiência física que viesse comprometer a avaliação sensorial dos produtos, especificamente relacionado a três dos sentidos humano: olfato, paladar e visão), assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Apêndice A) e analisaram as amostras dos queijos *petit suisse* de acordo com o *Institut of Food Technologist* (IFT, 1981). Analisaram-se a aparência, cor, aroma, sabor, textura e aceitação global. Os provadores atribuíram valores as amostras, em uma escala hedonística estruturada com nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Os formulários destinados a este teste continham campos que possibilitaram aos provadores anotar descrições que julgassem importantes (Apêndice B). Os queijos *petit suisse* foram considerados aceitos quando obtiverem média $\geq 5,0$ (equivalente ao termo hedônico “gostei moderadamente”).

Paralelamente, também se avaliou a intenção de compra. Para tanto, foi empregada uma escala hedônica estruturada com cinco pontos (1 = jamais compraria; 3 = talvez comprasse/talvez não comprasse; 5 = compraria), conforme formulário em Apêndice B.

Da mesma forma, foi avaliada a preferência relativa entre as amostras de queijos *petit suisse*, com notas que variarão de 1 (amostra mais preferida) a 4 (amostra menos preferida)

(Apêndice C). Com a finalidade de se obter maiores informações sobre as características sensoriais de todos os produtos, os provadores foram instruídos a relatar os atributos sensoriais que contribuíram para a escolha das amostras “mais preferida” e “menos preferida”.

No decorrer dos testes, as amostras foram padronizadas e servidas de forma aleatória, em temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C), em copos plásticos de cor branca codificados com números aleatórios de 3 dígitos. As análises foram conduzidas em cabines individuais com temperatura e iluminação controlada, longe de ruídos e odores, em horários que não compreendiam uma hora antes e duas horas após o almoço. Juntamente com as amostras, foram oferecidos aos provadores bolacha água e sal e água e estes foram orientados a entre uma amostra e outra fazer o uso da bolacha e da água, para remoção do sabor residual, e a provarem estas da esquerda para direita.

3.5 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DA BACTÉRIA PROBIÓTICA EM CONDIÇÕES GASTROINTESTINAIS SIMULADAS

O teste de simulação do TGI consistiu na avaliação do efeito protetor dos queijos *petit suisse* caprino sobre a sobrevivência do *L. mucosae* CNPC007 adicionado aos mesmos (QL e QLF), quando expostas às condições simuladas do trato gastrointestinal (TGI).

Após processamento dos queijos *petit suisse*, conforme metodologia descrita em 3.3.2, e armazenamento por 7 dias sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C), procedeu-se a avaliação da sobrevivência da bactéria láctica durante a travessia do TGI da forma a seguir e de acordo com Oliveira et al. (2014) e Madureira et al. (2011).

3.5.1 Inoculação das matrizes de queijos *petit suisse*

Inicialmente, foram produzidos um conjunto de cinco amostras rotuladas como QC, QPS, QSS, QPN e QSN. O queijo *petit suisse* controle (QC) foi utilizado para realizar assepticamente os ajustamentos de pH nas etapas sequenciais da digestão simulada. Os queijos *petit suisse* (QPN e QSN, queijo adicionado de cultura probiótica e queijo adicionado de cultura probiótica e frutooligossacarídeos, respectivamente), não foram submetidos às condições simuladas gastrointestinais, sendo realizada a contagem da cepa presentes neles; as amostras QPS e QSS, que se refere ao queijo adicionado de cultura probiótica e ao queijo adicionado de cultura probiótica e frutooligossacarídeos, respectivamente, foram submetidos às condições simuladas gastrointestinais, com posterior contagem da cepa após a exposição a

cada etapa gastrointestinal. Todas as amostras acima mencionadas foram preparadas em frascos estéreis de 50 mL e distribuídas em quantidades de 25 g cada.

A via gastrointestinal utilizada é descrita na Tabela 1, incluindo as soluções, o tempo de exposição e as intensidades de agitação em todas as etapas, para simular os movimentos peristálticos.

Tabela 1 - Condições de processamento utilizado em cada etapa de digestão simulada

Etapa	Compartimento	Condições	Agitação (rpm)	pH final	Tempo de exposição (min)
1	Antes da boca	-	-	-	-
2	Boca	Soluções de saliva	200	6,9	2
3	Esôfago - estômago	Solução estomacal (pepsina)	130	5,5	10
4				4,6	10
5				3,8	10
6				2,8	20
7				2,3	20
8				2,0	20
9	Duodeno	Solução Intestinal (pancreatina + sais biliares)	45	5,0	30
10	Íleo		45	6,5	60

Fonte: Adaptado de Moraes (2017)

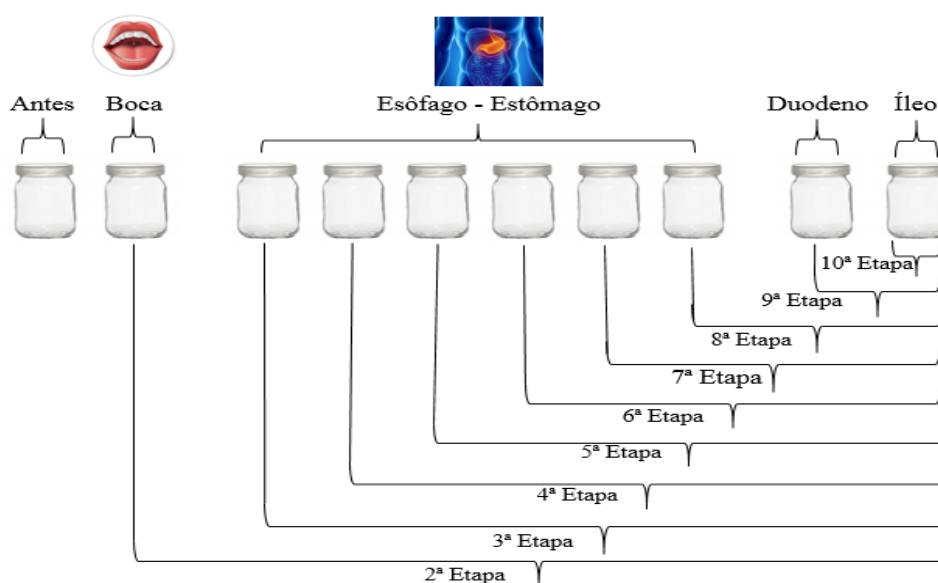
Inicialmente, as contagens do micro-organismo probiótico presente nos queijos QPS e QSS foram realizadas antes de sua ingestão, ou seja, antes da boca, correspondendo a etapa 1 do TGI. A mastigação (Etapa 2) foi simulada utilizando uma solução de saliva preparada com 100 U/mL de 1- α -amilase (Sigma, St. Louis MO, USA) diluída em solução de CaCl_2 a 1 mM, onde o pH foi ajustado para 6,9 utilizando solução de NaHCO_3 a 1 mM. Esta solução foi adicionada em 25 g das amostras a uma taxa de 0,6 mL/min, durante 2 minutos. Para simulação das condições do esôfago-estômago, adicionou-se solução de pepsina a uma taxa de 0,05 mL/g durante 90 minutos (Logo no início - Etapa 3). A solução de pepsina foi preparada em HCl a 0,1 N numa proporção de 25 mg/g. Neste compartimento, o pH foi reduzido de acordo com a Tabela 2 (Etapas 3-8), utilizando solução de HCl a 1 M (MAINVILLE et al., 2005). Para simulação das condições do duodeno, foi adicionada a solução que continha 2 g/L de pancreatina e 12 g/L sais biliares, diluídos em solução de NaHCO_3 a 0,1 M no início da etapa (Etapa 9), a uma taxa de 0,25 mL/g (LAURENT; BESANÇON; CAPORICCIO, 2007) e modulação do pH para 5, com solução de NaHCO_3 a

0,1 M. Finalmente, a etapa do íleo (Etapa 10) foi provocada por um aumento do pH para 6,5, utilizando solução de NaHCO_3 a 0,1 M, sendo a simulação contínua. Antes de serem utilizadas, todas as soluções das enzimas foram preparadas em frascos estéreis e esterilizadas por filtração, usando membrana filtrante de 0,22 μm (Milipore, Billerica MA, USA).

Após esterilização, todas as soluções foram mantidas em banho de gelo durante todo o período de simulação. Uma câmara de incubação (TECNAL[®], TE-424, Orbital Shaker Incubadora, São Paulo, SP, Brasil) a 37 °C e agitação mecânica, foi utilizada para simular a temperatura do corpo humano e os movimentos peristálticos, com intensidades semelhantes às atingidas em cada compartimento digestivo.

A Figura 5 representa um esquema referente à adição das substâncias de cada etapa nas amostras que foram submetidas às condições gastrointestinais simuladas.

Figura 5 - Representação esquemática da adição das substâncias de cada etapa nas amostras que foram submetidas às condições gastrointestinais simuladas



Fonte: Moraes (2017)

Após a simulação de cada etapa do TGI, as contagens das células viáveis de *L. mucosae* CNPC007 adicionado aos queijos *petit suisse* caprino foram determinadas através da preparação de diluições seriadas decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Seguindo a técnica da microgota, despejou-se 10 μL de diluições adequadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), acidificado a pH 5 (IDF, 1995).

As placas foram incubadas em aerobiose a 45 °C durante 48 h (MORAES et al, 2018). O mesmo procedimento também foi realizado para as amostras de queijos não submetidas a simulação do TGI.

3.6 ANÁLISE DOS DADOS

Para a avaliação dos resultados referentes às análises tecnológicas, físicas, físico-químicas, e sensoriais, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) para comparação das médias entre os tratamentos (formulações) e os tempos de armazenamento. Para o cálculo destes dados, utilizou-se o software SIGMASTAT, versão 3.5, Point Richmond (Califórnia): Comercial, 2006.

Os resultados dos testes sensoriais de ordenação-preferência foram analisados de acordo com o teste de Friedman, utilizando-se da Tabela de Newell Mac Farlane (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002).

REFERÊNCIAS

- ABEIJÓN MUKDSI, M. C.; HARO, C.; GONZÁLEZ, S. N.; MEDINA, R. B. Functional goat milk cheese with feruloyl esterase activity. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 801–809, 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **VIII - Lista das Alegações Aprovadas**. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm>. Acesso em: 20 jan. 2019.
- AGUILAR-TOALÁ, J. E.; GARCIA-VARELA, R.; GARCIA, H. S.; MATA-HARO, V.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CORDOBA, B.; HERNÁNDEZ MENDOZA, A. Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. **Trends in Food Science and Technology**, v. 7, n. 2, p. 105–114, 2018.
- ARAÚJO, A. E.; CARVALHO A. F.; LEANDRO E. S.; FURTADO, M. M.; MORAES, C.A. Development of a symbiotic cottage cheese added with *Lactobacillus delbrueckii* and inulin. **Journal of Functional Foods**, v. 2, p. 85-89, 2010.
- ARYANA, K. J.; OLSON, D. W. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9987–10013, 2017.
- ASSIS, P. O. A.; GUERRA, G. C. B.; ARAÚJO, D. F. S.; ARAÚJO JÚNIOR, R. F.; MACHADO, T. A. D. G.; ARAÚJO, A. A.; QUEIROGA, R. C. R. E. Intestinal antiinflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. **International Dairy Journal**, v. 56, p.45–54, 2016.
- BALDISSERA, A. C.; BETTA, F. D.; PENNA, A. L. B.; LINDNER, J. D. D. Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1497-1512, 2011.
- BALTHAZAR, C. F.; PIMENTEL, T. C.; FERRAO, L. L.; ALMADA, C. N.; SANTILLO, A.; ALBENZIO, M.; CRUZ, A. G. Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.16, n. 2, p.247–262, 2017.
- .BARBOSA, I.C.; *OLIVEIRA, M.E.G.; MADRUGA, M.S.; GULLÓN,B.; PACHECO,M.T.B.; GOMES, A.M.P.; BATISTA, A.S.M.; F PINTADO,M.M.M.; SOUZAG, E.L.; QUEIROGA, R.C.R.E. Influence of the addition of *Lactobacillus acidophilus* La-05, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and inulin on the technological, physicochemical, microbiological and sensory features of creamy goat cheese. **Food Function**., v. 7, 4356-4371, 2016.
- BOMFIM, M. A. D. Produção e qualidade do leite de cabra no Brasil. Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA,

Foz do Iguaçu. **Zootecnia do futuro: Produção Animal Sustentável**. Foz do Iguaçu: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, p. 4711-4718, 2013.

BRANDAO, M. P.; ANJOS, DE C.; BELL, M. J. V. Time resolved fluorescence of cow and goat milk powder. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.171, 193–199, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução Nº 5, 13/11/2000b. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**. Disponível em www.agricultura.gov.br/sislegis. Acesso em: 10 out 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº 5, 13/11/2000b. **Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados**. Disponível em: <www.agricultura.gov.br/sislegis>. Acesso em: 10 out 2018.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 18 de 30 de abril 1999. **Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/18_99.html. Acesso em: 14 set 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1996. Portaria nº 146, de 07/03/96. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1996.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; FILISETTI, T. M. C. C.; SAAD, S. M. I. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1605-1610, 2007.

BURITI F.C. A.; FREITAS, S. C.; EGITO, A. S.; DOS SANTOS, K. M. O. Effects of tropical fruit pulps and partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds on the dietary fibre content, probiotic viability, texture and sensory features of goat dairy beverages. **LWT – Food Science and Technology**. v. 59, p. 196–203, 2014.

BUTEL, M. J. Probiotics, gut microbiota and health. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, n. 44, p. 1-8, 2014.

CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic pettit-suisse cheese. **LWT- Food Science and Technology**, v. 41, p. 1037-1046, 2008.

ÇAKMAKÇI, S.; ÇETIN, B.; TURGUT, T.; GÜRSER, M.; ERDOĞAN, A. Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts. **Turkish Journal of Veterinary Animal Science**, v. 36, p. 231–237, 2012.

CASTRO, J. M.; TORNADIJO, M. E.; FRESNO, J. M.; SANDOVAL, H. Review Article Biocheese: A Food Probiotic Carrier, **BioMed Research International**, v. 72, p.11-19, 2015.

CHEN, X. Y. et al. Exopolysaccharides synthesized by *Lactobacillus reuteri* protect against enterotoxigenic *Escherichia coli* in piglets. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, p. 5752–5760, 2014.

CLARK, S.; GARCÍA, M. B. A 100-year review: Advances in goat milk research. **Journal of Dairy Science**, v.100, n. 12, p.10026–10044, 2017.

CRUZ, A. G.; BURITI, F. C. A.; SOUZA, C. H. B.; FARIA, J. A. F.; SAAD, S. M. I. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 8, 344–354, 2010.

DUNCAN, S. H., FLINT, H. J. Probiotics and prebiotics and health in ageing populations. **Maturitas**, v. 75, n. 1, p. 44–50, 2013.

ESMERINO, E. A.; CASTURA, J. C.; FERRAZ, J. P.; TAVARES FILHO, E. R.; SILVA, R.; CRUZ, A. G.; BOLINI, H. M. A. Dynamic profiling of different ready-to-drink fermented dairy products: A comparative study using Temporal Check-All-That-Apply (TCATA), Temporal Dominance of Sensations (TDS) and Progressive Profile (PP). **Food Research International**, v. 101, p. 249–258, 2017.

FAO, 2007. **The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture**. Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling, Rome.

FAZILAH, N. F.; ARIFF, A. B.; KHAYAT, M. E.; RIOS-SOLIS, L.; HALIM, M. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 387–399, 2018.

FERNANDEZ, M. A.; MARETTE, A. Potential health benefits of combining yogurt and fruits based on their probiotic and prebiotic properties. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 155-164, 2017.

FLESCHE, A. G. T.; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. D. C. The therapeutic use of synbiotics. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 27, n. 3, p. 206- 209, 2014.

FLOROWSKA, A.; KRYGIER, K.; FLOROWSKI, T.; DŁUŻEWSKA, E. Prebiotics as functional food ingredients preventing diet-related diseases. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2147–2155, 2016.

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

GARCÍA, J.R. Improvements in goat milk quality: A review. **Small Ruminant Research**, v. 121, n. 1, p. 51–57, 2014.

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

GIBSON, G. R. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). **Clinical Nutrition Supplements**, v. 1, p. 25-31, 2004.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

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

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; CRUZ, G.; FARIA, J. F.; SHAH, N. P. Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 5, p. 455 – 470, 2010.

HELLE, K. J.; W. BOCKELMANN, J.; SCHREZENMAIER, R.G.L; DEVERSE, M.. Cheese and its potential as a probiotic food. **Handbook of Fermented Functional Foods**. E. R. Farnworth, ed. CRC Press, Boca Raton, FL, p. 203–225, 2003.

HENRY, C. J. Functional foods. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64, p. 657 – 659, 2010.

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. 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, 2014.

HODGKINSON, A. J.; WALLACE, O. A. M.; BOGGS, I.; BROADHURST, M.; PROSSER, C. G. Gastric digestion of cow and goat milk: Impact of infant and young child in vitro digestion conditions. **Food Chemistry**, v. 245, p. 275–281, 2018.

HOMAYOUNI, R. A. Therapeutical Effects of Functional Probiotic, Prebiotic and Synbiotic Foods. First ed.; **Tabriz University Of Medical Science**: Tabriz, Iran, p. 3-35, 2014.

HOSSAIN, M. N.; FAKRUDDIN, M.; ISLAM, M. N. Development of fruit dahi (yoghurt) fortified with strawberry, orange and grapes juice. **American Journal of Food Technology**, v. 7, p. 562–570, 2012.

HSIEH, Y. H.; OFORI, J. A. Innovations in food technology for health. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 16, p. 65-73, 2007.

HUEBNER J.; WEHLING, R. L.; PARKHURST, A.; HUTKINS, R. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics, **International Dairy Journal**, v. 18, p. 287–293, 2008.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.- IBGE - < www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria.html > - Consulta realizada em 15 de fevereiro de 2019.

ISOLAURI, E. Probiotics in preterm infants: a controversial issue. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 45, n. 3, p. 188 – 189, 2007.

KALYANKAR, S. D.; KHEDKAR, C. D.; PATIL, A. M. Goat milk. In B. Caballero, P. M. Finglas, F. Toldrá (Eds.). **Encyclopedia of food and health**, p. 256–260, 2016.

KINIK, O.; KESENKAS, H.; ERGONUL, P. G.; AKAN, E.; KINIK, Ö.; KESENKAŞ, H.; AKAN, E. The effect of using pro and prebiotics on the aromatic compounds, textural and sensorial properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 221-229, 2017.

KARIMI R.; AZIZI M. H.; GHASEMLOU M.; VAZIRI M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 119, p. 85–100, 2015.

LADIRAT, S. E.; SCHOTERMA, M. H.; RAHAOUI, H.; MARS, M.; SCHUREN, F. H.; GRUPPEN, H.; NAUTA, A.; SCHOLS, H. A., Exploring the effects of galacto-oligosaccharides on the gut microbiota of healthy adults receiving amoxicillin treatment, **Journal of Nutrition**, v. 112, p. 536–546, 2014.

LLANO, D. G. I.; GIL-SANCHEZ, A.; ETEBANFERNANDEZ, A. M.; RAMOS, M.; FERNANDEZDIAZ, C.; CUEVA, M. V.; MORENOARRIBAS, B.; BARTOLOM, E. Reciprocal beneficial effects between wine polyphenols and probiotics: an exploratory study. **European Food Research and Technology**, v. 243, p. 531–538, 2017.

LAMIKI, P. J.; TSUCHIYA, S.; PATHAK, R.; OKURA, U.; SOLIMENE, S.; JAIN, S.; KAWAKITA, F.; MAROTTA, L. M. Probiotics in diverticular disease of the colon: an open label study. **Journal of Gastrointestinal Liver Disease**, v. 19, p. 31–36, 2010.

LAMSAL, B. P.; FAUBION, J. M. The beneficial use of cereal and cereal components in probiotic foods. **Food Reviews International**, v. 25, p. 103–114, 2009.

MACEDO JUNIOR, G. L. Efeito de diferentes fontes de energia sobre a produção e Qualidade do leite e do queijo de cabras. **Veterinária Notícias**, v. 21, n. 1, p. 54-62, 2015.

MACHADO, T. A. D. G.; OLIVEIRA, M. E. G. D.; CAMPOS, M. I. F.; ASSIS, P. O. A. D.; SOUZA, E. L. D.; MADRUGA, M. S. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 80, p. 221-229, 2017.

MARTIROSYAN D.M.; SINGH J. A. New Definition of Functional Food by FFC: What Makes a New Definition Unique. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 5, n. 6, p. 209–230, 2015.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *petit-suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de gomas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

MILORADOVIC, Z.; MIOCINOVIC, J.; KLJAJEVIC, N.; TOMASEVIC, I.; PUDJA P. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy

products development and its implications on human health. **Journal of Functional Foods** v. 52, p. 243–257, 2019.

MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S.; MIREMADI, F., SHAH, N. P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. **International Food Research Journal**, v. 19, p. 1337–1350, 2012.

MORAES, G. M. D.; ABREU, L. R.; EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; SILVA, L. M. F.; NERO, L. A.; SANTOS, K. M. O. Functional properties of *Lactobacillus mucosae* strains isolated S. **LWT - Food Science and Technology**, v. 9, n. 3, p. 235–245, 2017.

MORAES, G. M. D.; SANTOS, K. M.O.; BARCELOS, S. C.B.; LOPES, S. A.; EGITO, A. S. Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 94, n. 3, p. 57–63, 2018.

MORAIS, J.L. **Desenvolvimento de iogurte caprino com potencial probiótico: características tecnológicas e avaliação do efeito protetor da matriz alimentar.** Dissertação, (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, p. 38, 2017.

NAGPAL, R.; BEHARE P.; RANA, R.; KUMAR, A.; KUMAR, M.; ARORA, S.; MOROTTA F.; JAIN S.; YADAV, H. Bioactive peptides derived from milk proteins. **Food and Function**, v. 2, p. 18–27, 2011.

OLIVEIRA, A.; ALEXANDRE, E.M.C.; COELHO, M., LOPES, C.; ALMEIDA,D.P.F.,; PINTADO,M. Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins. **Food Chemistry**, V.171, p. 370–378, 2015.

OZDAL, T. D. A.; SELA, J.; XIAO, D.; BOYACIOGLU, F.; CHEN, E. The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. **Nutrients**, v. 8, p. 78-85, 2016.

PAKBIN, B.; RAZAVI, S. H.; MAHMOUDI, R.; GAJARBEYGI, P. Producing Probiotic. Peach Juice. **Biotechnology and Health Science**, v. 1, n. 3, p. 1-5, 2014.

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

PARK, Y. W. Goat milk and human nutrition. **The Food and Agricultural Organization of the United Nations**, p. 31–38, 2012.

PULINA, G.; MILÁN, M. J.; LAVÍN, M. P.; THEODORIDIS, A.; MORIN, E.; CAPOTE, J.; CAJA, G. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 8, p. 6715–6729, 2018.

- RANADHEERA, C. S. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, v. 49, p. 619-625, 2012.
- RANADHEERA, C. S. C. A.; EVANS, M. C.; ADAMS, S. K. Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. **Journal of Functional Foods**, v.8, p.18–25, 2014
- RANADHEERA, C. S.; NAUMOVSKI, N.; AJLOUNI, S. Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: Recent developments and innovations. **Food Science**, v.22, p.109–114, 2018.
- REYNOLDS, T.; MARTIROSYAN, D.M. Nutrition by design: a review of biotechnology in functional food of plant origin. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 6, n.2, p 110-120, 2016.
- SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTER, J.M.; BRESSOLLIER, P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**. v. 50, n. 1, p.1-16, 2013.
- SALVA, S.; NUNEZ, M.; VILLENA, J.; RAMON, A.; FONT, G.; ALVAREZ, S. Development of a fermented goats' milk containing *Lactobacillus rhamnosus*: *In vivo* study of health benefits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, n.13, p.2355–2362, 2011.
- SANTOS, B. M. Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 3, p. 302-310, 2011.
- SHAFI, A.; FAROOQ, U.; AKRAM, K.; HAYAT, Z.; MURTAZA, M. A. Prevention and control of diseases by use of pro and prebiotics (synbiotics). **Food Reviews International**, v.30, n. 4, p.291–316, 2014.
- SHARMA, K.; MAHAJAN, R.; ATTRI, S.; GOEL, G. Selection of indigenous *Lactobacillus paracasei* CD4 and *Lactobacillus gastricus* BTM 7 as probiotic: Assessment of traits combined with principal component analysis. **Journal of Applied Microbiology**, v.122, n. 5, p.1310–1320, 2017.
- SIGMASTAT (programa de computador). Versão 3.5. Point Richmond (Califórnia): Comercial; 2006.
- SILANIKOVE, N. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v.89, n. 2, p. 110-124, 2010.
- SILVA, H. L. A.; BALTHAZAR, C. F.; ESMERINO, E. A.; VIEIRA, A. H.; CAPPATO, L. P.; NETO, R. P. C.; CRUZ, A. Effect of sodium reduction and v. 99, p. 247–255, 2017.

SOSNOWSKI, M.; ROLA, J.G.; OSEK, J. Alkaline phosphatase activity and microbiological quality of heat-treated goat milk and cheeses. **Small RuminRes.** v.136, p:132-136, 2016.

SUCCI, M.; TREMONTE, P.; PANNELLA, G.; TIPALDI, L.; COZZOLINO, A.; COPPOLA, R. Phenols content during the storage and in a static in vitro digestion model. **Journal of Functional Foods**, v.35, p.60–67, 2017.

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

VAN DENDER, A. G. F. **Aspectos tecnológicos de fabricação de queijo tipo Quark.** Disponível em: < <http://www.ital.org.br/biblioteca/arquivos>>. Acesso em 12 jan. 2019.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics - from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 7, p. 714 – 728, 2008.

VERRUCK, S.; DANTAS, A.; PRUDENCIO, E.S. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. **Journal of Functional Foods**, v. 52, p. 243–257, 2019.

YAZDI, M. K. S.; DAVOODABADI, A.; ZARIN, H. R. K.; EBRAHIMI, M. T.; DALLAL, M. M. S. Characterisation and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Iranian traditional yogurts. **Italian Journal of Animal Science**, v. 16, n. 2, p. 185–188, 2017.

YOUNIS, K.; AHMAD, S.; JAHAN, K. Health Benefits and Application of Prebiotics in Foods. **Food Processing & Technology**, <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7110.1000433>, 2015.

ZHANG, W. Q.; GE, W. P.; YANG, J.; XUE, X. C.; WU, S. Z.; CHEN, Y.; QIN, L. H. Comparative of in vitro antioxidant and cholesterol-lowering activities of fermented goat and cow milk. **Resources Environment and Engineering**, v. 6, n.8, p. 417–424, 2015.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo encontra-se estruturado sob a forma de produção científica (Artigo Original).

- Artigo científico intitulado “Queijo *petit suisse* caprino de maracujá: avaliação dos aspectos de qualidade e do efeito protetor da matriz alimentar sobre a cultura probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC007” que será submetido em periódico com alto fator de impacto.
- Patente depositada com número de registro: BR 10 2018 072415-0, intitulada “Queijo caprino simbiótico e processo de obtenção”, submetida, com o auxílio da Agência UFPB de Inovação Tecnológica (INOVA-UFPB), ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) – Anexo B.

Queijo *petit suisse* caprino de maracujá: avaliação dos aspectos de qualidade e do efeito protetor da matriz alimentar sobre a cultura probiótica de *Lactobacillus mucosae*

Resumo: O presente estudo foi realizado com o objetivo de desenvolver e caracterizar os aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, antioxidantes, microbiológicos e sensoriais de queijos *petit suisse* caprinos funcionais adicionados de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeos. O efeito da adição da bactéria probiótica e o frutooligossacarídeo sobre as características de qualidade dos queijos *petit suisse* foi avaliado com 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado, considerando os seguintes tratamentos: QC (queijo *petit suisse* - controle); QL, contendo o micro-organismo probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC007; QF, composto pelo frutooligossacarídeo (FOS) e QLF, contendo a cepa probiótica em associação com o FOS. Todos os queijos *petit suisse* testados não sofreram sinerese, apresentando estabilidade e restando mais água na matriz. As amostras acidificaram relativamente pouco durante a vida de prateleira. De um modo geral, observou-se que a adição da cepa probiótica e/ou FOS na elaboração dos queijos *petit suisse* não influenciou nas características físicas e físico-químicas dos mesmos ($p > 0,05$), com exceção do teor de umidade que aumentou ao longo do armazenamento refrigerado. A cepa probiótica de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 apresentou viabilidade até o final da vida de prateleira nas amostras QL e QLF, com contagens que variaram de 8,76 a 11,57 e 11,35 a 10,24 log UFC/g, respectivamente. No ensaio de simulação do TGI, viu-se que o efeito protetor da matriz sobre a cepa estudada foi maior quando ela estava associada ao prebiótico (QLF), cujo *L. mucosae* CNPC007 chegou ao íleo com contagens de 7,22 log UFC/g. Em relação ao conteúdo de compostos fenólicos, as amostras QL e QLF, apresentaram valores superiores em relação as demais, sendo este de 85,15 e 92,76 mg/100 g, respectivamente, no final da sua vida de prateleira. Ao longo do armazenamento os valores das amostras que continham a presença da bactéria probiótica diminuíram para os dois métodos. Assim, constatou-se que a elaboração de um queijo *petit suisse* caprino adicionado de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e/ou frutooligossacarídeos apresenta-se como um produto com potencial funcional, cujas qualidades tecnológicas, microbiológicas, nutricionais e sensoriais podem vir a atender a exigência do mercado consumidor de produtos lácteos com funcionalidades.

Palavras-chave: leite de cabra, alimentos funcionais, bactéria autóctone probiótica, viabilidade, simulação intestinal, atividade antioxidante.

1 Introdução

Os benefícios nutricionais oferecidos pelo leite de cabra e seus derivados têm despertado um crescente interesse do consumidor, sendo um alimento completo para a nutrição humana, rico em proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais, assim como, vitaminas e minerais (Macedo junior et al., 2015; Clark; Garcia, 2017). Sua composição química e propriedades contribuem para a sua funcionalidade e, também, ajudam no processamento e comercialização de produtos lácteos caprinos (Park et al., 2012; Moraes, 2018).

Nos últimos anos, o mercado de alimentos funcionais tem crescido com o aumento do interesse do consumidor em adotar uma dieta saudável e a busca por alimentos diversificados. Alimentos funcionais contendo prebióticos e probióticos têm atraído o interesse da indústria de laticínios, tanto por razões econômicas, quanto por evidências científicas relacionadas aos seus benefícios positivos à saúde (Holzapfel; Schillinger, 2002; Balthazar et al., 2017; Silva et al., 2017). A sinergia potencial entre probióticos e prebióticos é considerada eficiente devido à melhoria da sobrevivência e implantação de probióticos no sistema gastrointestinal, proporcionando benefícios ao mesmo (Shafi, Farooq, Akram, Hayat e Murtaza, 2014).

De uma forma geral, os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os gêneros mais frequentemente utilizados como probióticos em matrizes alimentares (Carderelli et al., 2008; Fontana et al., 2013; Castro et al., 2015). Em estudo recente, cepas de *Lactobacillus mucosae* foram isoladas de amostras de leite de cabra, apresentando potencial probiótico em testes *in vitro*, com destaque para a cepa *Lactobacillus mucosae* CNPC007 (Moraes et al., 2017), despertando o interesse em utilizá-las na elaboração de novos produtos caprinos, a exemplo de queijos.

Alguns estudos apontam o queijo como um bom veículo para esses micro-organismos, apresentando potencial superior a outros produtos lácteos fermentados para carrear bactérias probióticas, devido ao seu alto valor nutricional, com nutrientes necessários para o desenvolvimento microbiano e pH levemente ácido, o que favorece o crescimento das bactérias lácticas ao invés de micro-organismos patogênicos e deteriorantes (Madureira et al., 2011; Oliveira et al., 2014; Rolim et al., 2015).

Dentre os diversos tipos de queijos, o queijo *petit suisse* caracteriza-se pelo seu alto teor de umidade e uma consistência cremosa. É produzido a partir de uma massa (queijo tipo “quark”) obtida usando um processo de coagulação mista, e pode ser adicionado a condimentos doces e salgados para serem consumidos frescos (Carderelli et al., 2008). Diversos estudos têm revelado o queijo *petit suisse* como um veículo apropriado para bactérias probióticas (Helle et al., 2003; Carderelli et al., 2008; Castro et al., 2015b).

A suplementação agrega funcionalidade ao produto lácteo, proporcionando crescente surgimento de novos produtos no mercado, cujos fabricantes preocupam-se em substituir aromas artificiais por extratos de frutas e/ou frutas preparadas de uma ou mais espécies (Della Modesta et al., 2005; Queiroga et al., 2011).

A polpa do maracujá tem-se destacado por apresentar propriedades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas e efeitos neuroprotetores (Septembre-Malaterre et al., 2016; Suchet et al., 2016). Esses efeitos são derivados da presença de compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos (Corrêa et al., 2016; Septembre-Malaterre et al., 2016). Com isso, a adição de frutas ou derivados de frutas, a exemplo de preparados, em produtos fermentados, incluindo aqueles feitos com leite caprino, vem sendo testada pela comunidade científica, visando melhoria principalmente do valor nutricional, funcional, e de suas características sensoriais destas iguarias (RANADHEERA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Considerando os aspectos supracitados, o presente estudo teve como objetivo desenvolver queijos *petit suisse* caprinos funcionais adicionados de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo, e caracterizar seus aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, microbiológicos, antioxidantes e sensoriais.

2. Material e Métodos

2.1 Materiais

O leite utilizado na elaboração dos queijos *petit suisse* foram obtidos da empresa Casa do Cariri[®]. Após adquiridos, os leites foram transportados em caixas e armazenados sob refrigeração (4 ± 1 °C por, no máximo, 1 dia), até o momento do processamento dos queijos. A cultura probiótica composta pela estirpe *Lactobacillus mucosae* CNPC007 foi obtida da "Coleção de Micro-organismos de Interesse para a Agroindústria Tropical" da Embrapa Agroindústria Tropical/Fortaleza, Ceará, Brasil; o prebiótico frutooligossacarídeos (FOS) foi disponibilizado pela SweetMix[®] (Sorocaba, São Paulo, Brasil). O coalho (coagulante líquido HA-LA) foi adquirido da empresa Christian Hansen[®] (Valinhos, São Paulo, Brasil); o ácido láctico e o cloreto de cálcio (CaCl_2) P.A da FMaia[®] Ltda (Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil). O creme de leite tradicional esterilizado (Nestlé do Brasil Ltda., Araçatuba, Brasil) e o açúcar cristal (União[®], Limeira, São Paulo, Brasil), foram obtidos em redes de supermercado da cidade de João Pessoa/PB, e os maracujás obtidos na forma “in natura” em feiras-livres da cidade de João Pessoa/PB

2.2 Caracterização do leite caprino

O leite caprino utilizado na elaboração dos queijos *petit suisse* foi submetido às análises dos parâmetros de acidez em ácido láctico, extrato seco total, resíduo mineral fixo, proteínas, gordura e lactose conforme metodologia recomendada pela *Association of Official*

Analytical Chemist Methods (AOAC, 2012). A determinação dos parâmetros microbiológicos foram realizadas no Laboratório de Microbiologia (Universidade Federal da Paraíba), seguindo as metodologias recomendadas pela *American Public Health Association* (APHA, 2001), em que a matéria prima foi submetida à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (NMP/g) e termololerantes (NMP/g), e *Salmonella* ssp,

2.3 Produção de queijo *petit suisse* caprino

2.3.1 Delineamento para elaboração dos queijos *petit suisse*

Quatro diferentes tipos de queijos *petit suisse* caprinos foram produzidos, a citar: queijo *petit suisse* caprino controle – QC; queijo *petit suisse* caprino adicionado do micro-organismo probiótico *L. mucosae* CNPC007– QL; queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeos (FOS) – QF; e o queijo *petit suisse* caprino adicionado do micro-organismo probiótico *L. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeos associados – QLF.

2.3.2 Elaboração do preparado de maracujá

Os maracujás foram lavados em água corrente e imergidos em solução sanitizante de água clorada por 15 minutos, na proporção de 100 ppm de hipoclorito de sódio, e, posteriormente, foram enxaguados. Em seguida, abriram-se os maracujás, e a polpa foi triturada rapidamente no mixer (Oster[®], FPSTHB2615U-017, São Paulo), a fim de evitar a quebra completa das sementes. O suco foi peneirado com o auxílio de uma peneira de uso doméstico e levado a cocção (100 °C/ 2 min), posteriormente acondicionado em recipientes de plástico de poliestireno sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C) até momento da elaboração do queijo *petit suisse*.

2.3.2 Preparação do inóculo

Inicialmente, antes do processamento dos queijos *petit suisse*, realizou-se a determinação da fase estacionária de *Lb. mucosae* CNPC007, que consistiu em diluir de 0,1 g da cepa liofilizada em 10 mL de água salina esterilizada (0,85%). Essa suspensão foi distribuída em cada poço de uma microplaca de 96 poços que foi incubada em leitor de microplacas/incubadora (EON, Biotek, EUA) a 37 °C, em condições de aerobiose, utilizando absorvância 600 nm, para avaliação do crescimento bacteriano em diferentes intervalos de tempo (0, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 h), sendo estabelecidos 22 h como tempo de alcance da fase estacionária para este micro-organismo. Paralelo a esse ensaio de ajuste da fase estacionária da cepa, inóculos com crescimento visível em água salina estéril (0,85%), preparados como descrito acima, sofreram ajuste para obter-se OD600 nm = 0,5 (absorbância), correspondente a cerca de 7 - 8 log UFC/g. Em seguida, realizou-se o preparo do inóculo da bactéria probiótica em leite, que foi adicionado aos tratamentos QL e QLF. Para tanto, o inóculo final (InF) utilizado foi previamente preparado dividindo-se em duas etapas. Primeiramente, o inóculo 1 (In1) foi preparado através da diluição de 0,1 g da cepa de *Lb. mucosae* liofilizada em 10 mL de leite de cabra em pó reconstituído (Caprilat®) em água estéril, o qual foi incubado por 22 horas (tempo de alcance da fase estacionária) a 37 °C; posteriormente, o inóculo 2 (In2) foi preparado através da proporção de 1/2 do In1 + 10 mL de leite de cabra em pó reconstituído em água estéril, incubado por 22 horas a 37 °C, resultando no inóculo final (InF), com cerca de 6 – 7 log UFC/g. Para confirmação dessas contagens estabelecidas em OD600 nm, uma alíquota deste inóculo foi tomada e submetida a diluições seriadas decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Seguindo a técnica da microgota, despejou-se 10 µL de diluições adequadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), acidificado a pH 5 (IDF, 1995). As placas foram incubadas em aerobiose a 37 °C durante 48 h. Os resultados foram expressos em log UFC/g.

2.3.2 *Elaboração dos queijos petit suisse*

A massa-base para produção de Queijo Quark (Qq) foi elaborada utilizando-se leite caprino submetido a tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 min), sendo em sequência resfriado a 37 ± 1 °C. A solução preparada de ácido láctico (85%) foi adicionada em uma proporção de 0,25 mL/L, seguida de homogeneização. Posteriormente, ocorreu a adição do cloreto de cálcio (0,5 mL/L) e do coalho (0,9 mL/L), que foi previamente diluído na mesma quantidade de água filtrada, e adicionado, seguido de homogeneização. Após a coagulação da massa (pH entre 5,6 e 5,8), a coalhada foi cortada por uma lira, em cubos (1,5 a 2,0 cm). Em seguida, a massa foi transferida para uma forma de queijo contendo um dessorador para a realização da drenagem de soro por gravidade, por um período de 1 h.

O queijo *petit suisse* foi obtido a partir de homogeneização em mixer do Queijo Quark (Qq) com os seguintes ingredientes: 20% creme de leite, 15% de preparado de maracujá, 20% açúcar refinado, 3,4% de frutooligossacarídeos (apenas para os tratamentos QF e QLF) e 17% do (InF) (apenas para os tratamentos QL e QLF), sendo seus percentuais definidos com base no peso da massa do queijo quark. Finalizada a homogeneização de todos os ingredientes citados acima, acondicionou-se o produto em um recipiente de plástico de poliestireno estéril com tampa, sob temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C), até o momento das análises.

Após o processamento, as amostras de queijos foram submetidas em triplicata às análises tecnológicas, físicas, físico-químicas (incluindo determinação de fenólicos totais e atividade antioxidante), microbiológicas e sensoriais e avaliação do efeito protetor da matriz alimentar sobre a sobrevivência do micro-organismo probióticos em condições simuladas do trato gastrointestinal (TGI), segundo metodologias as serem descritas a seguir.

2.4 *Análises tecnológicas dos queijos petit suisse*

A análise de cor foi realizada utilizando o colorímetro Konica Minolta – escala de cor (modelo CR 400) na escala L* (luminosidade), a* (verde (-) /vermelho (+)) e b* (azul (-) /amarelo (+)). A suscetibilidade a sinerese foi determinada pelo método de drenagem (Riener et al., 2010).

2.5 Análise física e físico-química

A composição dos queijos *petit suisse* foram determinadas após o processamento (dias 1, 14 e 28 dias de armazenamento), através das análises a seguir: determinações de proteína, umidade, extrato seco total, cinzas, gordura, açúcares totais e acidez seguiram os métodos da *Association of Official Analytical Chemist Methods* (AOAC, 2012). A proteína foi estimada medindo-se o teor total de nitrogênio em amostras, em triplicata, pelo método micro Kjeldahl e utilizando um fator de conversão (6,38). A umidade e as cinzas foram determinadas gravimetricamente. A acidez titulável dos queijos foram determinadas e expressas em porcentagem de acidez em ácido láctico, os açúcares totais pela redução de Fehling (AOAC, 1995). A gordura foi determinada pelo método de Folch, pelo método de Folch, Less e Stanley (1957). Os valores de atividade de água dos queijos foram determinados em um apaelho Aqualab). Todas as análises citadas foram realizadas em triplicata.

2.6 Determinação do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante *in vitro*

2.6.1 Obtenção do Extrato

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante *in vitro* (FRAP e ABTS), as diferentes formulações de *petit suisse* foram submetidos a extração dos constituintes bioativos, sendo realizada conforme metodologia descrita por Feng et al. (2019) com algumas modificações. Inicialmente foram pesados 10 g de *petit suisse* em um erlenmeyer e adicionou-se 30 mL de metanol 80%. Em seguida, o frasco foi coberto com papel alumínio e na

ausência da luz a mistura foi levada para agitação com barra magnética em chapa agitadora por 20 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Após, a mistura foi centrifugada (Centribio 80-2B) a 1252 g por 10 minutos e o sobrenadante recolhido e filtrado. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas.

2.6.2 Determinação de Compostos Fenólicos Totais (CFT)

Para determinar o teor de compostos fenólicos totais das formulações de *petit suisse* utilizou-se metodologia descrita por Liu et al. (2002) com algumas modificações. Resumidamente, 250 µL de cada extrato foram misturados em tubo de ensaio com 1250 µL do reagente Folin-Ciocalteu 10%. As soluções foram agitadas em vórtex e armazenadas em temperatura ambiente (23 °C) na ausência da luz por 6 minutos. Após, foram adicionados 1000 µL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi levada ao banho maria a uma temperatura de 50 °C, durante 5 min. Após, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Também foi realizado um branco com a ausência dos extratos para zerar o espectrofotômetro. O conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras foi determinado utilizando uma curva padrão preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por cem gramas de *petit suisse* (mg EAG/100 g).

2.6.3 Atividade Antioxidante in vitro - Método FRAP

Para determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi utilizada metodologia descrita por Benzie; Strain (1996), adaptada por Rockenbach et al. (2011). O reagente FRAP foi preparado somente no momento da análise, através da mistura de 11 mL de tampão acetato (0,3M, pH 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (10 mM em HCl 40 mM) e 1,1 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mM). Para a análise, 200 µL dos extratos foram

adicionados a 1800 µL do reagente FRAP em um tubo de ensaio e levados ao banho maria a 37 °C por 30 minutos. Para cada extrato foi realizado um branco, sem adição do extrato. Após, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a 593 nm. Para determinar a atividade antioxidante (FRAP) foi utilizada curva de calibração com Trolox e os resultados foram expressos em µmol de trolox/g de amostra (*petit suisse*).

2.6.4 Atividade Antioxidante in vitro - Método ABTS

O método ABTS foi realizado de acordo com a metodologia de Sariburun et al. (2010) com algumas modificações. Inicialmente formou-se o radical ABTS através da reação da solução ABTS^{•+} a 7 mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM incubados a temperatura de 25 °C, no escuro durante 12-16 horas. Uma vez formado o radical, o mesmo foi diluído em água destilada até obter o valor de absorbância de 0,800 (±0,020) a 734 nm. A partir de cada extrato foram preparadas quatro diluições diferentes, em triplicatas. Em ambiente escuro foi transferido para um tubo de ensaio uma alíquota de 100 µL dos extratos e adicionado 500 µL do radical ABTS. Após os tubos de ensaio foram mantidos na ausência de luz por 6 minutos. Em seguida, realizou-se a leitura a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Também foi feita uma solução “controle” que consistiu em uma alíquota de 100 uL do solvente extrator dos extratos adicionada de 500 µL do radical ABTS. A solução “branca” foi o solvente extrator de cada extrato, utilizada para zerar o espectrofotômetro. Como referência, foi utilizado o Trolox e os resultados expressos em µM trolox/g de amostra (*petit suisse*).

2.7. Avaliação da qualidade dos queijos *petit suisse*

2.7.1. Qualidade microbiológica

As análises microbiológicas compreenderam a avaliação da qualidade higiênico sanitária e de viabilidade do *L. mucosae* CNPC007 ao longo do armazenamento. No controle de qualidade foram realizados os seguintes ensaios: análise de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, coliformes totais e termotolerantes, bolores e leveduras, de acordo com os métodos AOAC 991.14 e AOAC 997.02 (Knight et al., 1997).

As contagens das células viáveis de *L. mucosae* CNPC007 adicionado ao queijo *petit suisse* caprino (QL e QLF) foram determinadas através da preparação de diluições seriadas decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Seguindo a técnica da microgota, despejou-se 10 µL de diluições adequadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), acidificado a pH 5 (IDF, 1995). As placas foram incubadas em aerobiose a 45 °C durante 48 h.

2.7.2. Avaliação sensorial de queijo *petit suisse* caprino

Os testes de aceitação, intenção de compra e ordenação-preferência realizados pelos consumidores, após aprovação do comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal da Paraíba (Processo nº 3.064.176; CAAE 02157218.4.0000.5188), segundo a metodologia proposta por Stone e Sidel (2002). No teste de aceitação foram empregados os critérios estabelecidos por Amerine, Pangborn e Roessler (1967). Para tal, um painel não treinado constituído por 70 provadores (alunos, professores e funcionários da UFPB, selecionados com base nos hábitos e interesse em consumir queijo *petit suisse*, constituídos tanto pelo gênero masculino como feminino, cuja faixa etária podia variar de 18 a 45 anos de idade, não apresentando nenhum problema de saúde ou deficiência física que viesse comprometer a avaliação sensorial dos produtos.

2.8. Ensaios de efeitos de condições gastrointestinais simuladas na viabilidade de bactérias probióticas

Inicialmente, foram produzidos um conjunto de cinco amostras rotuladas como QC, QPS, QSS, QPN e QSN. O queijo *petit suisse* controle (QC) foi utilizado para realizar assepticamente os ajustamentos de pH nas etapas sequenciais da digestão simulada. Os queijos *petit suisse* (QPN e QSN, queijo adicionado de cultura probiótica e queijo adicionado de cultura probiótica e frutooligossacarídeos, respectivamente), não foram submetidos às condições simuladas gastrointestinais; as amostras QPS e QSS, que se refere ao queijo adicionado de cultura probiótica e ao queijo adicionado de cultura probiótica e frutooligossacarídeos, respectivamente, foram submetidos às condições simuladas gastrointestinais.

As contagens do micro-organismo probiótico presente nos queijos das amostras QPN e QSN foram realizadas antes de sua ingestão, ou seja, antes da boca. A mastigação foi simulada, utilizando uma solução de saliva preparada com 100 U/mL de 1- α -amilase (Sigma, St. Louis MO, USA) diluída em solução de CaCl_2 a 1 mM, onde o pH foi ajustado para 6,9 utilizando solução de NaHCO_3 a 1 mM. Esta solução foi adicionada em 25 g das amostras a uma taxa de 0,6 mL/min, durante 2 minutos.

Na etapa que simula as condições do esôfago-estômago adicionou-se solução de pepsina a uma taxa de 0,05 mL/g durante 90 minutos. A solução de pepsina foi preparada em HCl a 0,1 N numa proporção de 25 mg/g. Nesta etapa, o pH foi reduzido até 2,0, utilizando solução de HCl a 1 M (MAINVILLE et al., 2005).

Para simulação das condições do duodeno, foi adicionada a solução que continha 2 g/L de pancreatina e 12 g/L sais biliares, diluídos em solução de NaHCO_3 a 0,1 M no início da etapa, a uma taxa de 0,25 mL/g (LAURENT; BESANÇON; CAPORICCIO, 2007).

Finalmente, a etapa do íleo foi provocada por um aumento do pH para 6,5, utilizando solução de NaHCO_3 a 0,1 M, sendo a simulação contínua. Antes de serem utilizadas, todas as soluções das enzimas foram preparadas em frascos estéreis e esterilizadas por filtração, usando membrana filtrante de 0,22 μm (Milipore, Billerica MA, USA). Após esterilização, todas as soluções foram mantidas em banho de gelo durante todo o período de simulação. Uma câmara de incubação (TECNAL[®], TE-424, Orbital Shaker Incubadora, São Paulo, SP, Brasil) a 37 °C e agitação mecânica, foi utilizada para simular a temperatura do corpo humano e os movimentos peristálticos, com intensidades semelhantes às atingidas em cada compartimento digestivo.

As contagens das células viáveis de *L. mucosae* CNPC007, adicionado aos queijos *petit suisse* caprino expostos a cada condição gastrointestinal simulada, foram determinadas através da preparação de diluições seriadas decimais com água peptonada esterilizada 0,1 g/100 mL (Sigma, St. Louis MO, EUA). Estas diluições foram semeadas, posteriormente, conforme método proposto por Moraes et al. (2018).

2.9 Análise de dados

Para a avaliação dos resultados referentes às análises tecnológicas, físicas, físico-químicas, microbiológicas (viabilidade durante armazenamento e simulação do TGI) e sensoriais, foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) para comparação das médias entre os tratamentos (formulações) e os tempos. Para o cálculo destes dados, utilizou-se o software SIGMASTAT, versão 3.5, Point Richmond (Califórnia): Comercial, 2006.

Os resultados dos testes sensoriais de ordenação-preferência foram analisados de acordo com o teste de Friedman, utilizando-se da Tabela de Newell Mac Farlane (Faria; Yotsuyanagi, 2002).

3. Resultados e Discussão

3.1. Qualidade do leite caprino

As análises da qualidade microbiológica do leite caprino atestaram a ausência de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, contagem de coliformes totais e coliformes termotolerantes < 3 NMP/g e valores $< 1 \times 10^1$ UFC/g na contagem de bolores e leveduras, o que caracterizou a matéria-prima utilizada na produção dos queijos como adequada para o consumo humano e para elaboração dos queijos *petit suisse*. Os dados encontrados para o leite caprino estiveram dentro dos padrões preconizados pela legislação (Brasil, 2000a), conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Valores Médios das variáveis físico-químicas do leite caprino.

Variáveis	Leite Caprino
EST (g/100 g)	12,53 $\pm$ 0,02
Proteína (g/100 g)	4,10 $\pm$ 0,05
Gordura (g/100 g)	3,42 $\pm$ 0,05
Lactose (g/100 g)	5,51 $\pm$ 0,13
RMF (g/100 g)	0,59 $\pm$ 0,23
Acidez em ácido láctico (g/100 g)	0,16 $\pm$ 0,01

EST – Extrato Seco Total; RMF – Resíduo Mineral Fixo.

Os resultados encontrados foram similares aos encontrados por Gomes et al. (2013), Shi, Luo, Zhang e Sheng (2015) e Toral et al. (2015), que também analisaram leite caprino para elaboração de produtos lácteos.

3.2 Parâmetros tecnológicos dos queijos *petit suisse* caprinos ao longo do armazenamento

Em relação aos valores de sinerese, pode-se observar na Tabela 2, que não houve diferença ($p > 0,05$) para essa variável. A quantidade de soro de drenagem do produto coagulado é determinada pelo grau de desnaturação da proteína e agregação covalente

concomitante de caseínas e proteínas do soro de leite (Chandan et al., 2006; Miloradovic et al., 2018). Foi descoberto anteriormente (Miloradovic et al., 2015) que, para leite de cabra, ocorre uma agregação significativa de proteínas após um tratamento térmico de 90 °C/5 min, temperatura usada neste estudo. Acredita-se que o efeito da agregação proteica foi pronunciado no caso nos géis de coalho de leite de cabra proporcionando uma maior capacidade de segurar o soro do leite. Os autores sugerem que o alto teor de gordura dos queijos *petit suisse*, também contribuíram para uma sinerese reduzida, uma vez que o material da membrana de glóbulos de gordura melhora a capacidade de retenção de água dos géis de queijos (Carderelli et al., 2008).

Sobre os atributos de cor das amostras de queijo de *petit suisse* caprino investigados, foi possível observar através do parâmetro de luminosidade (L^*) que as amostras estudadas apresentaram luminosidade com valores, em geral, abaixo de 50. Viu-se ainda que, ao longo dos 28 dias de armazenamento, a luminosidade reduziu em todos os queijos estudados ($p \leq 0,05$). Durante o armazenamento, transformações bioquímicas como proteólise e reação de *Maillard* podem ter causado a diminuição da luminosidade dos queijos *petit suisse* caprinos, através da produção de compostos escuros (Farkye, Smith & Schönrock 2001).

Tabela 2. Valores médios das variáveis de sinerese e cor dos queijos *petit suisse* caprinos com potencial funcional adicionados de preparado de maracujá durante 28 dias de armazenamento refrigerado.

Variáveis	Dias	Queijos <i>petit suisse</i> caprinos			
		QC	QL	QF	QLF
Sinerese (%)	1	0,04 ±0,04	0,02 ±0,02	0,02 ±0,02	0,02 ±0,01
	14	0,03 ±0,00	0,15 ±0,11	0,03 ±0,01	0,04 ±0,01
	28	0,04 ±0,04	0,12 ±0,04	0,02 ±0,07	0,06 ±0,00
<i>Cor</i>					
L^*	1	51,21 ±4,81 ^A	47,63 ±2,16 ^A	52,76 ±2,38 ^A	46,87 ±1,02 ^A
	14	43,34 ±1,40 ^B	43,63 ±2,15 ^A	42,99 ±1,00 ^B	46,41 ±2,24 ^A

	28	32,14 ±0,50 ^{Cb}	30,86 ±0,90 ^{Ba}	30,00 ±1,03 ^{Ca}	31,59 ±0,67 ^{Ba}
a*	1	-0,98 ±0,14 ^{Aa}	-0,98 ±0,09 ^{Aa}	-1,29 ±0,03 ^{Ab}	-2,04 ±0,12 ^{Ac}
	14	-1,19 ±0,00 ^{ABab}	-0,99 ±0,09 ^{Aa}	-1,32 ±0,02 ^{Ab}	-2,04 ±0,15 ^{Ac}
	28	-1,23 ±0,01 ^{Ba}	-1,19 ±0,20 ^{Ba}	-1,54 ±0,14 ^{Ba}	-2,10 ±0,09 ^{Bb}
b*	1	11,30 ±0,88 ^A	11,63 ±0,47 ^{AB}	11,77 ±0,32 ^A	11,71 ±0,37 ^B
	14	9,82 ±0,06 ^{Bb}	11,04 ±0,42 ^{Bb}	9,84 ±0,21 ^{Cb}	12,23 ±0,51 ^{ABa}
	28	10,06 ±0,07 ^{AB}	12,34 ±0,24 ^A	10,80 ±0,02 ^B	13,08 ±0,13 ^A

QC – Queijo *petit suisse* caprino controle; QL – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNCP007; QF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeo e QLF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo.

^{a-c} Média ±desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos.

^{A-C} Média ±desvio-padrão com letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ao longo do tempo.

Conforme a Tabela 2, os queijos *petit suisse* apresentaram valores positivos para o componente amarelo (+b*), indicando uma tendência para cor amarela nas amostras, principalmente, atribuída à composição de carotenóides presentes no preparado de maracujá incorporado aos queijos. De um modo geral, verificou-se pequena oscilação para os valores da variável (+b*) durante o armazenamento, com uma descoloração da amostra QF e aumento da tonalidade amarela em QLF ($p \leq 0,05$). A redução da cor b* pode ser devido à oxidação de pigmentos presentes, como carotenóides, compostos fenólicos. Além disso, para o parâmetro a*, viu-se uma diminuição da cor verde nos queijos ($p \leq 0,05$). Durante o período de armazenamento, houve o predomínio do componente amarelo (b*) ao invés do componente verde (a*), sugerindo que a composição de carotenóides presentes no preparado de maracujá contribuiu mais para essa características de cor dos queijos.

3.3 Parâmetros físicos e físico-químicos dos queijos *petit suisse* ao longo do armazenamento

No presente estudo, se observou um aumento da acidez (Figura 1b), com concomitante redução dos açúcares totais (Figura 1a), até o 28º dia de vida de prateleira para os queijos *petit suisse* caprinos. Esse consumo foi um pouco mais pronunciado em matrizes de queijos que tinham sido adicionados do *L. mucosae* CNPC007 (QL e QLF), demonstrando que o processo de fermentação contribuiu para uma maior conversão dos açúcares presente nas amostras em ácido láctico e outros ácidos orgânicos (Buriti, Rocha, & Saad, 2005; Goncu & AlpKent, 2005; Kristo, Biliaderis e Tzanetakis, 2003; Cadarelli et al., 2008). Observou ainda que, a amostra de queijo adicionada apenas de FOS (QF) destacou-se por apresentar menor teor de acidez e maior teor de açúcares para todos os tempos, quando comparada com as demais amostras ($p \leq 0,05$).

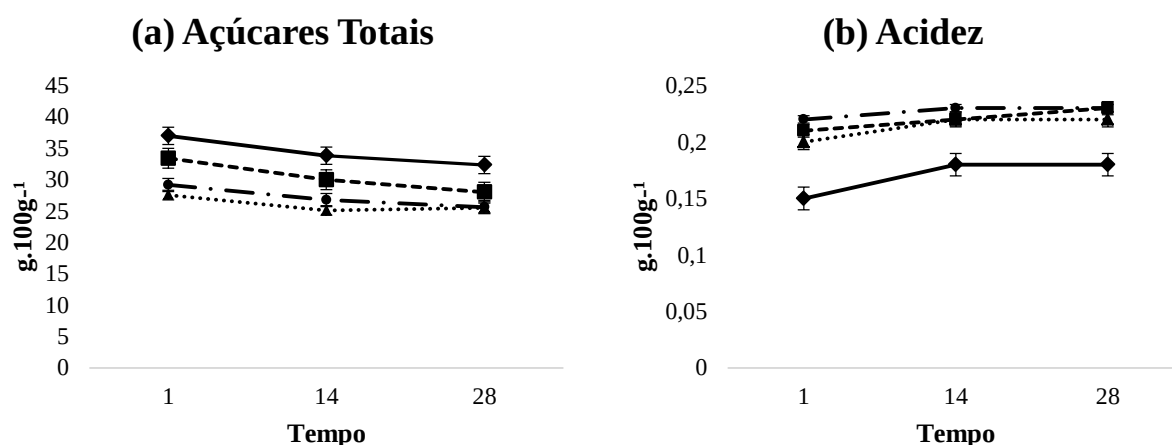


Figura 1. Valores médios de acidez (a) e açúcares totais (b) dos queijos *petit suisse* caprinos adicionados de preparado de maracujá durante armazenamento. QC (—•—) – queijo *petit suisse* caprino controle; QL (....▲....) – queijo *petit suisse* caprino probiótico adicionado de *Lactobacillus mucosae* CNPC007; QF (—◆—) – queijo *petit suisse* caprino prebiótico adicionado de frutooligossacarídeo e QLF (—■—) – queijo *petit suisse* caprino simbiótico adicionado de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo

Os valores de atividade de água (Aa) dos queijos *petit suisse* (Tabela 3) mantiveram-se estáveis ao longo do período estudado, não apresentando diferença entre os tratamentos durante todo o período de armazenamento refrigerado ($p>0,05$). Os valores encontrados para Aa nas amostras caracterizam-nas como produto de alta perecibilidade; todavia, os resultados das análises microbiológicas demonstrou que não houve influência desta característica física sobre os níveis de contaminação dos produtos avaliados. Outrossim, destaca-se o efeito protetor contra o ataque microbiano desempenhado por bactérias ácido lácticas, adicionadas nos queijos *petit suisse* estudados, ao produzirem substâncias antimicrobianas (Moraes et al., 2018), que ajudam na manutenção da qualidade do produto lácteo processado, proporcionando probabilidade mínima de contaminação.

Os valores de umidade, bem como os valores de extrato seco total (EST), diferiram entre as formulações e ao longo do tempo de armazenamento ($p\leq 0,05$). Os resultados de umidade encontrados no presente estudo foram semelhantes aos detectados por Cardarelli et al. (2008) e Padilha et al., (2015), que avaliaram a sobrevivência de duas cepas probióticas – *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* em queijo *petit suisse* probiótico e simbiótico (adicionado de inulina e oligofrutose, respectivamente), e *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 em queijo *petit suisse* probiótico e simbiótico (adicionado de inulina e FOS a 7,5 g/100 g e 2,5 g/100 g), respectivamente.

No que diz respeito ao extrato seco total, valores menores foram encontrados em *petit suisse* sabor morango adicionado de fibras (37,71 g/100 g de EST) avaliados por Oliveira, Deola e Elias (2013).

Tabela 3. Valores médios das variáveis físicas e físico-químicas dos queijos *petit suisse* caprinos sabor maracujá durante 28 dias armazenamento refrigerado.

Variáveis	Dias	Queijos <i>petit suisse</i> caprinos			
		QC	QL	QF	QLF
Aa	1	0,902 ±0,000	0,890 ±0,000	0,901 ±0,000	0,890 ±0,000
	14	0,901,±0,000	0,900 ±0,000	0,900 ±0,000	0,900 ±0,000
	28	0,902 ±0,010	0,901 ±0,000	0,900 ±0,000	0,901 ±0,000
Umidade (g/100 g)	1	58,78 ±0,00 ^{Aa}	56,54 ±0,38 ^{Bb}	57,10 ±0,17 ^{Bc}	56,07 ±0,03 ^{Cb}
	14	58,14 ±0,35 ^{Bc}	62,06 ±0,07 ^{Aa}	57,00 ±0,05 ^{Bd}	59,82 ±0,14 ^{Bb}
	28	59,25 ±0,10 ^{Ad}	62,06 ±0,05 ^{Aa}	58,39 ±0,11 ^{Ac}	60,54 ±0,42 ^{Ab}
EST (g/100 g)	1	41,21 ±0,00 ^{Bc}	43,46 ±0,38 ^{Aa}	42,89 ±0,17 ^{Ab}	43,93 ±0,03 ^{Aa}
	14	41,86 ±0,35 ^{Ab}	37,94 ±0,07 ^{Bd}	42,99 ±0,05 ^{Aa}	40,18 ±0,14 ^{Bc}
	28	40,75 ±0,09 ^{Bb}	37,94 ±0,05 ^{Bd}	41,61 ±0,11 ^{Ba}	39,45 ±0,42 ^{Cc}
Proteína (g/100 g)	1	11,36 ±0,10	11,37 ±0,10	11,34 ±0,10	11,35 ±0,18
	14	11,35 ±0,18	11,39 ±0,20	11,36 ±0,00	11,33 ±0,28
	28	11,33 ±0,10	11,36 ±0,10	11,34 ±0,18	11,36 ±0,18
Gordura (g/100 g)	1	11,10 ±0,05 ^a	10,68 ±0,12 ^{ab}	11,29 ±0,08 ^a	10,27 ±0,35 ^b
	14	11,61 ±0,41	10,88 ±0,21	11,49 ±0,30	10,22 ±0,57
	28	11,10 ±0,05 ^a	10,91 ±0,09 ^b	11,29 ±0,08 ^a	10,36 ±0,04 ^c
RMF (g/100 g)	1	1,18 ±0,02	1,40 ±0,54	1,20 ±0,03	1,15 ±0,02
	14	1,19 ±0,02	1,15 ±0,06	1,16 ±0,01	1,31 ±0,08
	28	1,18 ±0,02	1,95 ±0,05	1,20 ±0,03	1,08 ±0,03

Aa – Atividade de Água; EST – Extrato Seco Total; RMF – Resíduo Mineral Fixo.

QC – Queijo *petit suisse* caprino controle; QL – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNCP007; QF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeo e QLF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo.

^{a-d} Média ±desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos.

^{A-C} Média ±desvio-padrão com letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ao longo do tempo.

Os resultados de proteínas não apresentaram diferença ($p > 0,05$) nem entre os tratamentos, nem tampouco entre os tempos de armazenamento refrigerado. Reforça-se que os valores proteicos atingiram a recomendação da legislação vigente (Brasil, 2000), que estabelece para queijo *petit suisse* proteínas lácteas mínimo de 6,0%.

Valores inferiores aos encontrados no presente estudo, foram relatados por Cardarelli et al. (2008), apresentando valores entre 3,49-3,73 dentre os queijos simbióticos avaliados. Os

percentuais encontrados para os queijos *petit suisse* caprino no atual estudo caracterizam-os como queijos magros (Brasil, 1996).

Os valores dos resíduos minerais fixos (RMF) do presente estudo não apontaram diferenças ($p > 0,05$), apresentando valores maiores aos encontrados por Cardarelli et al. (2007), que relataram valores de 0,90 g/100 g de cinzas para queijo *petit suisse* contendo cepa probiótica e substâncias prebióticas.

3.4 Compostos fenólicos e atividades antioxidantes dos queijos *petit suisse*

Os queijos *petit suisse* caprinos com preparado de maracujá apresentaram variação ($p \leq 0,05$) dos valores de polifenóis totais durante o armazenamento, exceto, a amostra (QLF) que se mostrou estável ($p > 0,05$), conforme apresentado na Tabela 4. Todos os queijos *petit suisse* estudados apresentaram diferença entre si ($p \leq 0,05$) em todo o período avaliado, com destaque para as amostras adicionadas com *Lactobacillus mucosae* CNCP007, que apresentou maiores teores, possivelmente indicando a formação de metabólitos de polifenóis pela ação da cepa probiótica estudada. Compostos fenólicos e micro-organismos probióticos parecem exercer uma interação mútua na qual os compostos fenólicos modulam a composição da microbiota intestinal, as bactérias ácido- lácticas catabolizam compostos fenólicos ingeridos para liberar metabólitos, que são tipicamente mais ativos e melhor absorvidos (Espín et al., 2017; Llano et al. 2017; Souza et al., 2018). A presença do prebiótico, que por sua vez pode ter estimulado a multiplicação do probiótico adicionado e consequentemente ter viabilizado uma melhor metabolização dos componentes fenólicos presente, principalmente, no preparado de maracujá, proporcionando interações benéficas mútuas entre os compostos fenólicos e a cepa probiótica (Campanella et al. 2017).

Tabela 4. Teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante nos queijos *petit suisse* caprinos ao longo do armazenamento refrigerado.

Variáveis	Dias	Queijos <i>petit suisse</i> caprinos
-----------	------	--------------------------------------

		QC	QL	QF	QLF
Fenólicos	1	87,04 ±0,00 ^{Ac}	88,92 ±0,00 ^{Ab}	73,83 ±0,00 ^{Ad}	93,39 ±0,20 ^a
Totais	14	49,30 ±0,00 ^{Bd}	85,15 ±0,00 ^{Bb}	64,40 ±0,00 ^{Bc}	92,51 ±0,33 ^a
(mg/100 g)	28	36,09 ±0,00 ^{Cd}	85,15 ±0,00 ^{Bb}	59,43 ±0,60 ^{Cc}	92,76 ±0,11 ^a
FRAP (µmol trolox TEAC/g)	1	0,02 ±0,00 ^{Cb}	0,03 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Cb}	0,03 ±0,00 ^{Aa}
	14	0,04 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Bc}	0,04 ±0,00 ^{Aa}	0,03 ±0,00 ^{Ab}
	28	0,03 ±0,00 ^{Ba}	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,03 ±0,00 ^{Ba}	0,02 ±0,00 ^{Bb}
ABTS (µmol trolox TEAC/g)	1	0,02 ±0,00 ^{Cb}	0,03 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Cb}	0,03 ±0,00 ^{Aa}
	14	0,04 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Bc}	0,04 ±0,00 ^{Aa}	0,03 ±0,00 ^{Ab}
	28	0,03 ±0,00 ^{Ba}	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,03 ±0,00 ^{Ba}	0,02 ±0,00 ^{Bb}

QC – Queijo *petit suisse* caprino controle; QL – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNCP007; QF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeo e QLF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *L. mucosae* CNPC007e frutooligossacarídeo.

^{a-d} Média ±desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), entre os tratamentos.

^{A-C} Média ±desvio-padrão com letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), ao longo do tempo.

Os valores encontrados no presente estudo foram superiores aos encontrados por Santos et al. (2016), que trabalharam com o desenvolvimento de um leite fermentado probiótico sabor uva (15% de incorporação de suco de uva integral), obtendo valor médio $\leq$ a 45 mg/100 g. Ademais, reforça-se que os produtos lácteos são excelentes alimentos para serem fortificados com antioxidantes, possuindo propriedades nutricionais naturais excelentes (Pineda-Vadillo et al., 2016), demonstrando a importância dos achados desta pesquisa.

Os resultados da análise de atividade antioxidante total, pelo método da captura do radical ABTS equivalente ao Trolox (µmol Trolox TEAC/g) e pelo método de redução dos íons de ferro (FRAP) equivalente ao Trolox (µmol Trolox TEAC/g), durante 28 dias de armazenamento a 4 ± 1 °C se encontram na Tabela 4. Houve diferença tanto entre as amostras de queijos, como durante o armazenamento refrigerado ($p \leq 0,05$). A atividade antioxidante diminuiu ao longo do armazenamento, tanto pelo método FRAP como ABTS, nas amostras de

queijos adicionados com *Lb. mucosae* CNCP007 em sua formulação (QL e QLF), enquanto os queijos sem a bactéria probiótica aumentaram a capacidade antioxidante equivalente a trolox para os dois métodos ($p \leq 0,05$). Os efeitos benéficos dos polifenóis (propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias) estão relacionados principalmente à presença das estruturas aromáticas e múltiplos grupos de hidroxila capazes de doar elétrons ou átomos de hidrogênio a radicais livres e espécies reativas de oxigênio (Espinosa et al., 2015; Farhadi et al., 2016). Por outro lado, sabe-se que as interações desses compostos com proteínas do leite têm demonstrado proporcionar maior estabilidade dos flavonoides na matriz alimentar ao longo do tempo de armazenamento, provavelmente devido ao aprisionamento de moléculas polifenólicas, reduzindo sua disponibilidade para reações degradativas auto-oxidativas (Bordenave; Hamaker; Ferruzzi, 2014).

Desta forma, acredita-se que nas amostras que continham o *Lb. mucosae* CNCP007 (QL e QLF), pelo processo de fermentação, pode ter havido liberação de aminoácidos com cargas elétricas reativas, os quais interagiram com grupos aromáticos e múltiplos grupos de hidroxilas presentes nos compostos fenólicos e, conseqüentemente, ter diminuído a sua biodisponibilidade na matriz alimentar para atuar em processos antioxidantes, avaliados pelos métodos FRAP e ABTS.

Os compostos fenólicos podem exercer benefícios à saúde em nível local quando agem diretamente durante a passagem pelo trato gastrointestinal, bem como em nível sistêmico após sua absorção (Gelen et al., 2017; Sinha et al., 2016). Embora possuam essa importante influência sobre a saúde, tais compostos possuem digestão e absorção limitadas, estimando-se que apenas 5-10% do total de polifenóis ingeridos podem ser absorvidos no intestino delgado (Cueva et al., 2017). Por outro lado, sabe-se que o metabolismo de polifenóis por micro-organismos específicos que compõem a microbiota intestinal ou que estejam presentes em matrizes alimentares está relacionado ao aumento da sua biodisponibilidade, e

consequentemente, das suas funções no organismo (Llano et al., 2016; Moreno-Indias et al., 2016). Destarte, embora as atividades antioxidantes avaliadas no presente estudo tenham sido diminuídas nas amostras QF e QLF ao longo do armazenamento, destaca-se que após o processo de digestão, esses compostos são liberados dos nutrientes da matriz alimentar com os quais interagem, refletindo até uma propriedade “protetora” dos mesmos sobre esses compostos bioativos, sendo mais bem metabolizados pela microbiota intestinal, assim como pelo próprio probiótico adicionado aos queijos, aumentando sua biodisponibilidade e bioacessibilidade e, consequentemente, sua funcionalidade no organismo (atividades antioxidantes, anti-inflamatória, antimicrobiana locais e/ou sistêmicas)

3.5 Qualidade microbiológica e viabilidade do *L. mucosae* CNCP007 nos queijos *petit suisse* ao longo do armazenamento

As análises de avaliação da qualidade microbiológica dos queijos *petit suisse* experimentais aos 1º, 14º e 28º dia de armazenamento, atestaram a ausência de *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais, coliformes termotolerantes e valores $< 1 \times 10^1$ UFC/g para contagem de bolores e leveduras. Estes dados caracterizam os queijos *petit suisse* apropriados para o consumo humano, atendendo as especificações do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo "Petit Suisse" (Brasil, 2000b).

Ao longo do armazenamento, as contagens de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 nas formulações QL e QLF, variaram de 8,76 a 11,57 e 11,35 a 10,24 log UFC/g (Figura 2), respectivamente. Houve aumento ($p \leq 0,05$) das contagens do *Lactobacillus mucosae* até o 14º dia, seguida de redução até o 28º dia de armazenamento refrigerado para a amostra de queijo sem FOS (QL), chegando a 9,88 log UFC/g. Entretanto, comportamento oposto foi observado para o queijo quando a bactéria estava associada com o prebiótico FOS (QLF), em que aos 28 dias de armazenamento as contagens do micro-organismo probiótico superaram as contagens

quando na ausência do frutooligossacarídeo, chegando a 10,46 log UFC/g (Figura 2), comprovando assim as propriedades bifigogênicas do ingrediente prebiótico. De fato, os prebióticos de tipo frutano, inulina e oligofrutose podem também ajudar na sobrevivência de organismos probióticos durante o processamento e armazenamento de produtos lácteos, particularmente aumentando ou, pelo menos, retendo a viabilidade das bactérias probióticas (Capela, Hay, & Shah, 2006; Otzer, Akin, & Ozer, 2005).

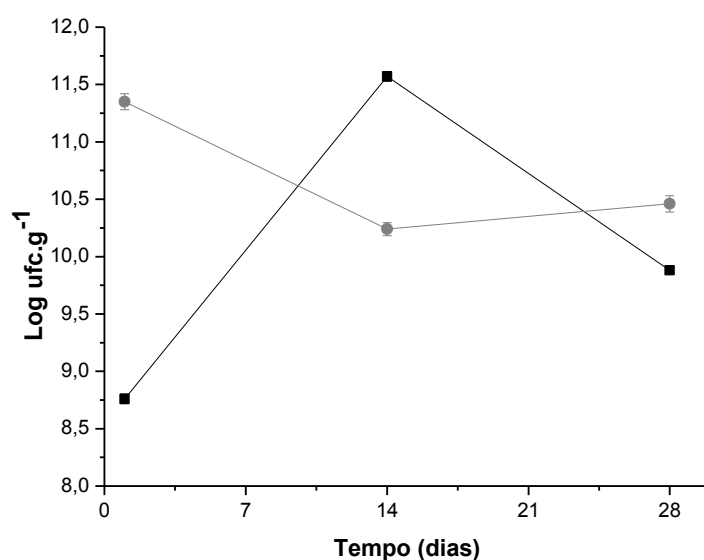


Figura 2. Viabilidade do *Lactobacillus mucosae* CNCP007 nos queijos *petit suisse* caprinos adicionados de preparado de maracujá durante armazenamento refrigerado. QL (■) - Queijo *petit suisse* adicionado de *Lactobacillus mucosae*; QLF (●) - Queijo *petit suisse* adicionado de *Lactobacillus mucosae* e FOS.

De um modo geral, a contagem viável da estirpe potencialmente probiótica nos queijos *petit suisse* caprinos experimentais esteve em conformidade com as recomendações internacionais para alimentos probióticos, que é de no mínimo 10^6 UFC/g (Talwalkar et al., 2004; Champagne, Ross, Saarela, Hansen e Charalampopoulos, 2011).

Para que promova benefícios ao consumidor, 100 g do produto deve conter no mínimo de 6 a 7 log UFC/g de bactérias probióticas viáveis no momento de sua compra e durante seu armazenamento, a fim de promover os benefícios à saúde ao consumidor (Vinderola & Renheimer 2000). Neste estudo, verificou-se que as contagens do micro-organismo probiótico *Lb. mucosae* CNPC007 nas duas formulações ao final do armazenamento estiveram condizentes com esta recomendação. Além disso, os valores alcançados na pesquisa foram superiores aos encontrados por Moraes et al. (2018), que ao produzirem queijo coalho caprino adicionado da cepa *Lb. mucosae* CNPC007, observaram contagens em média de 8,53 log UFC/g durante todo o armazenamento refrigerado.

3.6 Avaliação sensorial dos queijos *petit suisse* caprinos ao longo do armazenamento

As amostras de queijos apresentaram notas semelhantes entre si para os atributos aparência, cor, aroma e intenção de compra, conforme exibidas na Tabela 5, sendo bem aceitas, cujos termos hedônicos situaram-se entre “gostei moderadamente” a “gostei muitíssimo”.

Normalmente o *Lb. mucosae* CNPC007 produz diacetil (2,3 butanodiona) (Moraes et al., 2017), um composto responsável por desenvolver o sabor, aroma e o odor característico dos queijos durante todo o período de armazenamento (Varnam & Sutherland 1994) e que embora a expectativa de um provador quando consuma um produto como o *petit suisse* seja de que ele, muito embora seja um queijo, lembre mais o sabor de um leite fermentado, a exemplo do iogurte, possíveis compostos produzidos pela fermentação desta bactéria não

interferiram na aceitação sensorial dos queijos (QL e QFL), considerando as notas atribuídas para os atributos aroma e sabor, com termos hedônicos que se situaram entre “gostei moderadamente” a “gostei muito”. Ademais, ainda foi verificado que durante a vida de prateleira as notas para sabor e aroma dos queijos adicionados da bactéria probiótica aumentaram, demonstrando uma melhor aceitação com armazenamento mais prolongado.

De um modo geral, as amostras QL e QLF apresentaram as maiores notas ($p \leq 0,05$) quando comparadas a formulação padrão QC, entretanto todas amostras apresetaram notas entre os termos hedônicos entre “talvez comprasse/talvez não comprasse” a “provavelmente compraria”, indicando que estas formulações, caso fossem comercializadas, apresentariam um bom potencial para compra.

Tabela 5. Escores médios dos testes de aceitação sensorial e de intenção de compra realizados com queijos *petit suisse* caprinos durante armazenamento refrigerado.

Atributos	Dias	Queijos <i>petit suisse</i> caprinos			
		QC	QL	QF	QLF
Aparência	1	7,28 $\pm$ 1,55	7,93 $\pm$ 1,15	8,03 $\pm$ 1,17	7,11 $\pm$ 1,64
	14	7,67 $\pm$ 1,53	8,07 $\pm$ 0,91	7,90 $\pm$ 1,09	7,74 $\pm$ 1,14
	28	7,78 $\pm$ 1,33	8,08 $\pm$ 0,92	7,90 $\pm$ 1,15	7,86 $\pm$ 1,07
Cor	1	7,80 $\pm$ 1,23	8,02 $\pm$ 1,00	8,06 $\pm$ 1,01	7,75 $\pm$ 1,38
	14	7,63 $\pm$ 1,48	7,79 $\pm$ 1,40	7,67 $\pm$ 1,18	7,51 $\pm$ 1,32
	28	8,03 $\pm$ 0,98	7,94 $\pm$ 1,28	7,75 $\pm$ 1,13	7,73 $\pm$ 1,25
Aroma	1	7,41 $\pm$ 1,46 ^B	7,52 $\pm$ 1,42 ^B	7,44 $\pm$ 1,43 ^B	7,23 $\pm$ 1,50
	14	7,91 $\pm$ 1,02 ^A	8,04 $\pm$ 0,92 ^A	7,90 $\pm$ 1,13 ^A	7,78 $\pm$ 1,14
	28	7,85 $\pm$ 1,07 ^A	8,01 $\pm$ 0,89 ^A	7,88 $\pm$ 1,12 ^A	7,78 $\pm$ 1,08
Sabor	1	7,23 $\pm$ 1,39 ^b	7,16 $\pm$ 1,73 ^{Bb}	7,81 $\pm$ 1,18 ^{Aa}	6,88 $\pm$ 1,81 ^{Bb}
	14	7,22 $\pm$ 1,67	7,55 $\pm$ 1,57 ^A	7,23 $\pm$ 1,46 ^B	6,98 $\pm$ 1,78 ^A
	28	7,35 $\pm$ 1,51 ^{ab}	7,70 $\pm$ 1,29 ^{Aa}	7,13 $\pm$ 1,49 ^{Bb}	7,13 $\pm$ 1,63 ^{Ab}
Consistência	1	7,07 $\pm$ 1,64 ^{ab}	7,33 $\pm$ 1,61 ^a	7,81 $\pm$ 1,24 ^a	6,66 $\pm$ 1,92 ^b
	14	7,50 $\pm$ 1,40 ^{ab}	7,59 $\pm$ 1,36 ^a	7,40 $\pm$ 1,46 ^{ab}	7,01 $\pm$ 1,48 ^b
	28	7,35 $\pm$ 1,47	7,56 $\pm$ 1,33	7,13 $\pm$ 1,60	7,08 $\pm$ 1,60
Avaliação Global	1	7,34 $\pm$ 1,35 ^{ab}	7,49 $\pm$ 1,42 ^a	7,87 $\pm$ 1,07 ^a	6,96 $\pm$ 1,64 ^b
	14	7,44 $\pm$ 1,36 ^{ab}	7,71 $\pm$ 1,29 ^a	7,41 $\pm$ 1,28 ^{ab}	7,17 $\pm$ 1,43 ^b

	28	7,55 ±11,18 ^{ab}	7,81 ±1,07 ^a	7,37 ±1,27 ^b	7,29 ±1,48 ^b
Intenção de Compra	1	3,45 ±0,84	3,70 ±1,04	3,71 ±0,87	3,15 ±1,05
	14	3,52 ±1,09	3,81 ±1,07	3,54 ±1,15	3,21 ±0,98
	28	3,37 ±1,19	3,87 ±1,03	3,42 ±0,97	3,35 ±1,2

QC – Queijo *petit suisse* caprino controle; QL – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *Lb. mucosae* CNCP007; QF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeo e QLF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *Lb. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo.

^{a-b} Média ±desvio-padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os tratamentos.

^{A-B} Média ±desvio-padrão com letras maiúscula diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey (p<0,05) ao longo do tempo

Os resultados obtidos com a diferença das somas das ordens de preferência apresentaram diferença (p≤0,05) nas amostras (QF) e (QL) em relação as demais, conforme pode ser observado na Tabela 6. Apesar da diferença apresentada, os resultados obtidos no teste de aceitação sensorial e intenção de compra para as amostras, atestam a influência positiva da adição do micro-organismo probiótico e do frutooligossacarídeo, inseridos isoladamente, na aceitação das características sensoriais dos queijos *petit suisse*, bem como na sua melhor preferência.

Tabela 6. Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n=60) na análise sensorial de queijos *petit suisse* sabor maracujá ao longo do armazenamento refrigerado.

1º dia	Número de Provadores por Ordem*				Somas das ordens**
	1	2	3	4	
QC	12	28	16	4	132 ^b
QL	15	13	22	10	147 ^b
QF	4	3	14	39	208 ^a
QLF	31	14	8	7	111 ^b
14º dia	Número de Provadores por Ordem*				Somas das ordens**
	1	2	3	4	
QC	14	17	15	14	149 ^{ab}
QL	8	10	16	26	180 ^a
QF	17	11	17	15	150 ^{ab}

QLF	21	21	12	6	123 ^b
28° dia	Número de Provedores por Ordem*				Somas das ordens**
	1	2	3	4	
QC	17	18	10	15	143 ^b
QL	6	12	16	26	182 ^a
QF	17	14	19	10	142 ^b
QLF	19	18	14	9	133 ^b

* 1 = menos preferido, 4 = mais preferido.

** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de provedores) + (2 x nº de provedores) + (3 x nº provedores) + (4 x nº provedores).

a, b, c – letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentadas entre os queijos petit-suisse ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman.

QC – Queijo *petit suisse* caprino controle; QL – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *Lb. mucosae* CNCP007; QF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado de frutooligossacarídeo e QLF – Queijo *petit suisse* caprino adicionado da cepa probiótica *Lb. mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo.

3.7 Ensaios dos efeitos das condições gastrointestinais simuladas na viabilidade de bactérias probióticas

No início do processo digestivo *in vitro* (tempo zero, antes da exposição às condições experimentais da boca), as contagens de *Lb. mucosae* CNPC007 incorporadas na amostra QL submetidas e não submetidas foram de, aproximadamente, 8,96 e 8,84 log UFC/g, respectivamente, e para a amostra QLF de, aproximadamente, 9,03 e 9,13 log UFC/g, respectivamente.

Após a exposição do queijo com potencial probiótico adicionado do preparado de maracujá (QL) e do queijo com potencial probiótico com adição do FOS e preparado de maracujá (QLF) às condições simuladas da boca (etapa 2, descrita na metodologia), não houve aumento ou redução das contagens ($p > 0,05$) para nenhuma das formulações em relação a etapa 1, (Figura 3). Como relatado por Pinto et al. (2015), a manutenção da viabilidade probiótica após esta etapa é provavelmente relacionada com o curto tempo de contato com a

enzima α -amilase e também à capacidade de tamponamento do bicarbonato de sódio presente na solução salivar.

Por outro lado, após a exposição às condições de simulação do esôfago-estômago (precisamente na etapa 5), a taxa de sobrevivência do micro-organismo probiótico diminuiu para as amostras ($p \leq 0,05$), indicando a sensibilidade da cepa em relação ao baixo valor de pH alcançado no estômago. Como ocorrido no estômago humano, nesta etapa o pH foi diminuindo gradualmente e a solução de pepsina foi adicionada para simular o suco gástrico. Durante a exposição às condições simuladas do esôfago-estômago, o *Lb. mucosae* CNPC007 apresentou diminuição nas contagens do seu número de células viáveis para ambas as formulações em contato com o suco gástrico (7,76 e 7,87 log UFC/g, para amostras QL e QLF, respectivamente), com um pH correspondendo a 4,6. Posteriormente, em geral, e concomitante com a redução do pH estomacal, esse número de células viáveis continuou reduzindo até chegar ao duodeno (etapa 7) para ambas as amostras.

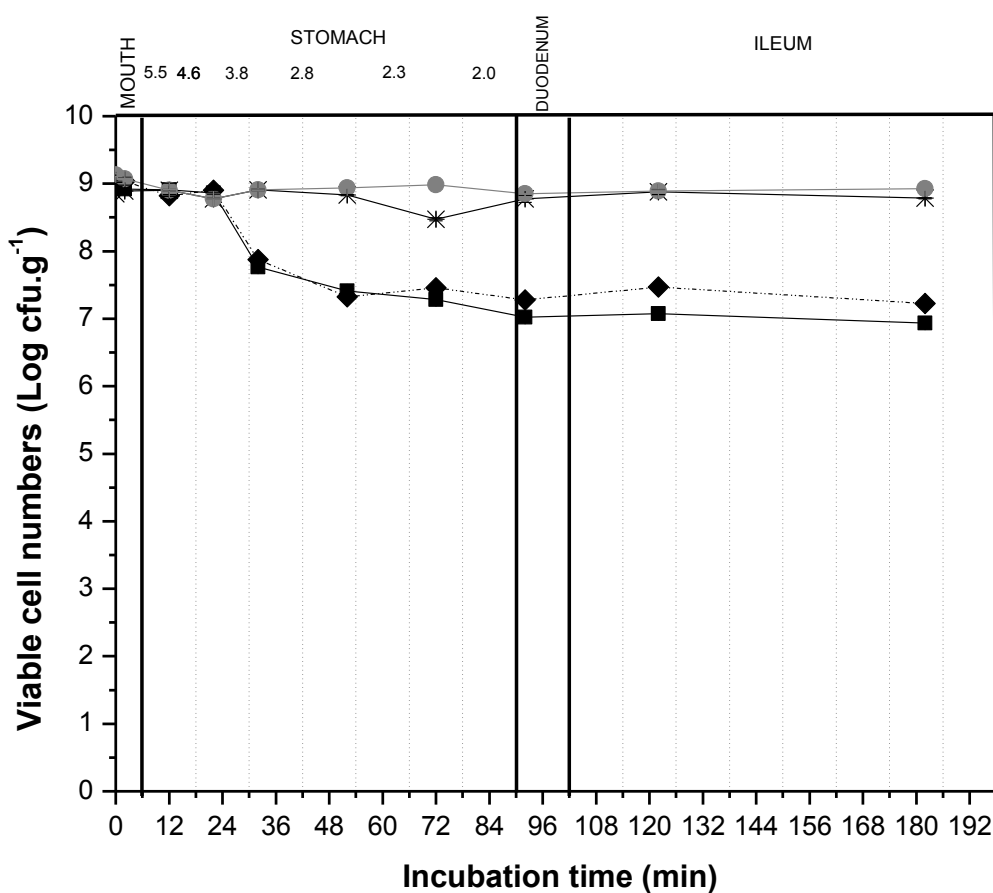


Figura 3 - Número de células viáveis (média $\pm$ desvio padrão) de *Lactobacillus mucosae* CNCP007 no queijo *petit suisse* caprino na ausência de FOS (QL), quando expostos (—■—) e não expostos (—✱—) e na presença de FOS (QLF), quando expostos (··◆··) e não exposto (—●—) às condições simuladas do trato gastrointestinal em diferentes tempos de incubação.

Os valores de pH que o micro-organismo foi exposto estão indicados no canto superior esquerdo do gráfico. A partir do duodeno as contagens nas formulações apresentaram apenas uma leve redução até alcançar o íleo. As contagens de células viáveis de *Lb. mucosae* CNPC007 ao final do processo digestivo experimental (10ª etapa) para as formulações estudadas QL e QLF foram de 6,94 e 7,22 log UFC/g, respectivamente. Pode-se observar que as contagens do micro-organismo presente no queijo simbiótico (QLF) excederam aos presentes no queijo sem adição de FOS (QL), demonstrando assim efeito protetor do prebiótico (FOS) sobre o *Lb. mucosae* CNPC007.

Em estudo anterior, Padilha et al. (2016) avaliaram a sobrevivência de duas cepas probióticas – *Lactobacillus acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 em queijo *petit suisse* probiótico e simbiótico (adicionado de inulina e FOS a 7,5 g/100 g e 2,5 g/100 g, respectivamente). Seus resultados propuseram que a adição da mistura de inulina e FOS ao queijo *petit suisse* foi vantajosa, pois melhorou a viabilidade de Bb-12 e La-5 e a tolerância a condições simuladas do TGI *in vitro*, tanto no produto fresco (1 dia de armazenamento) quanto no refrigerado por 28 dias.

Os estudos realizado por Oliveira et al. (2014), Muñoz et al. (2018), revelaram que as amostras de queijo de coalho caprino e queijos frescos adicionadas de *L. acidophilus* (LA-5),

L. paracasei (*L. casei*-01) e *B. lactis* (BB 12), e *Bifidobacterium* BB-1 e/ou inulina estudadas, respectivamente, obtiveram no final da digestão *in vitro* contagem menores que os apresentando no presente estudo.

Apesar do *Lb. mucosae* CNPC007 na formulação (QL) ter chegado abaixo de 7 log UFC/g, sua contagem é viável para aderir à parede intestinal, colonizar o intestino com eficácia e desta forma exercer sua atividade biológica. Reforça-se que a habilidade de tolerar o estresse digestivo é uma das características mais importantes de probióticos a serem incorporados com sucesso em alimentos (Meira et al., 2015), e, diante dos resultados obtidos no presente estudo, verifica-se a potencialidade desta cepa para ser adicionada a uma matriz alimentar, como o queijo *petit suisse*.

De um modo geral, verificou-se que a sobrevivência da bactéria probiótica ensaiada foi garantida pela proteção exercida pela matriz alimentar utilizada como transportadora desta cepa até que a mesma atingisse o íleo, apresentando contagens suficientes para colonização do intestino para exercício de seus benefícios. Outrossim, ressalta-se também o efeito protetor do prebiótico (FOS) sobre o *Lb. mucosae* CNPC007 na amostra QLF.

4. Conclusão

Os queijos *petit suisse* em geral demonstrou uma excelente capacidade de reter o soro do leite, exibindo baixo percentual de sinerese; ademais, apresentaram predomínio do componente amarelo (b^*) sobre o componente verde (a^*). De modo geral, observou-se que a acidez tendeu a aumentar, com concomitante redução dos açúcares totais, para todos os queijos *petit suisse* caprinos. Em relação ao teor de compostos fenólicos, os queijos *petit suisse* caprinos adicionados de maracujá pode ser considerado um queijo com considerável teor destes compostos. A população de *Lb. mucosae* CNPC007 permaneceu viável nos queijos *petit suisse* QL e QLF a uma concentração superior a 10^8 UFC g⁻¹ ao longo de 28 dias

de armazenamento refrigerado, sendo compatíveis com os requisitos para produtos probióticos, validando o queijo *petit suisse* caprino sabor maracujá como um excelente carreador dessa cepa, ainda assim, a amostra adiocionada da bactéria estudada associada aos frutooligossacarídeos (QLF) apresentou valores superiores ao da amostra QL na análise de simulação do trato gastrointestinal, demonstrando assim o efeito protetor do prebiótico (FOS) sobre o *Lb. mucosae* CNPC007. Na avaliação sensorial, o queijo produzido com *Lb. mucosae* CNPC007 mostrou um aumento nos escores de aceitabilidade para aroma, sabor, consistência e impressão geral ao longo do armazenamento.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Referências

- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (16th ed). Washington, DC: AOAC.
- AOAC. (2003). *Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of AOAC International*. (16th ed) Gaithersburg: AOAC.
- AOAC. (2012). *Official methods of analysis* (19th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC
- APHA. (2001). *American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (4 th ed.). Washington. Chapter 7.
- Aryana, K. J., & Olson, D. W. (2017). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987–10013.

Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrao, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M. (2017). Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 247–262.

Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem*, 239 (7), 70-76.

Bordenave, N., Hamaker, B.R., Ferruzzi, M.G.(2014). Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods. *Food Function*, 5(2), 18-34.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1996. Portaria nº 146, de 07/03/96. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1996.

Clark, S., & García, M. B. (2017). A 100-year review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10026–10044.

de Moraes, G.M.D., dos Santos, K.M.O., de Barcelos, S.C., Lopes, S.A., do Egito, Antô.Silvio (2018). Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes, *LWT - Food Science and Technology*, 94, 57-63.

de Souza, E.L., de Albuquerque, T.M.R., dos Santos, A.S., Massa, N.M.L., Alves, J.L.B., (2018). Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health promoting properties and food functionalities – A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1549-7852 (Online).

Della Modesta, R.C.D., Gonçalves, E.B., Rosenthal, A., Silva, A.L.S., Ferreira, J.C.S. (2005). Desenvolvimento do perfil sensorial e avaliação sensorial/instrumental de suco de maracujá. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 2(25), 345-52.

Farkye, N., Smith K & Schonrock, F. T. (2001). An overview of changes in the characteristics, functionality and nutritional value of skim milk powder (SMP) during storage. Wisconsin, USA: U.S. *Dairy Export Council*, 16, 102-110.

Feng, C.; Wang, B.; Zhao, A.; Wei, L.; Shao, Y.; Wang, Y.; Cao, B.; Zhang, F. (2019). Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp, *Food Chemistry*, 277, 238-245,

IAL. (2004). *Physical-Chemical Methods for Food Analysis*. (4th ed.). São Paulo: IAL.

Jakobek L.(2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 98, 159- 177.

Knight, M. T., Newman, M. C., Benzinger, M. J. Jr., Neufang, K. L., Agi, J. R., McAllister. J. S., et al. (1997). Comparison of the Petrifilm Dry Rehydratable Film and Conventional Culture Method - Enumeration of Yeasts and Molds in Foods: Collaborative Study. *Journal Association Official Analytical Chemistry*, 80, 806-823.

Liu, M.; Li, X. Q.; Weber, C.; Lee, C. Y.; Brown, J; Liu, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. (2002). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 2926–2930.

Martharini, D., & Indratiningsih, I. (2017). Kualitas mikrobiologis dan kimiawi kefir susu kambing dengan penambahan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan tepung kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca*). *Agritech*, 37(1), 23.

Meira, Q. G. S., et al. (2015). Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 76(1), 828–838.

Moraes, G. M. D., Abreu, I. R., Egito, A. S., Salles, H. O., Silva, L. M. F., Nero, L. A. (2017). Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian. Goat Milk. *Probiotics & Antimicrobial Proteins*, 9, 235-245.

Muñoz, I.B., Verruck, S., Canella, M.H.M., Dias, C.O., Amboni, R.D.M.C., Prudencio, E.S. (2018). The use of soft fresh cheese manufactured from freeze concentrated milk as a novelty protective matrix on *Bifidobacterium* BB-12 survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 97, 725-729.

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

Padilha M, Moralesa M.L.V., Vieira A.D.S., Costa M.G.M., Saad S.M.I. (2016). Prebiotic mixture improved *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* gastrointestinal in vitro resistance in petit-suisse. *Food & Function*, 98, 1-25.

- Pulina, G., Milán, M. J., Lavín, M. P., Theodoridis, A., Morin, E., Capote, J., Caja, G. (2018). Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6715–6729.
- Queiroga, R.C.R.E., Sousa, Y.R.F., Silva, M.G.F., Oliveira, M.E.G., Sousa, H.M.H., Oliveira C.E.V. (2011). Elaboração de iogurte com leite caprino e geleia de frutas tropicais. *Rev Inst Adolfo Lutz* . São Paulo, 70(4), 489-96.
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D. J., & Lyng, J. G. (2010). A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. *Food Chemistry*, 119, 1108-1113.
- Rockenbach, I I. et al. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*vitis vinifera* L. and *vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127, 174-179.
- Sariburun, e. et al. Phenolic content and antioxidant activity of raspberry cultivars. *J. Food Sci*, v. 75, p. 328-335, 2010.
- Shafi, A., Farooq, U., Akram, K., Hayat, Z., & Murtaza, M. A. (2014). Prevention and control of diseases by use of pro- and prebiotics (synbiotics). *Food Reviews International*, 30(4), 291–316.
- Silva, H. L. A., Balthazar, C. F., Esmerino, E. A., Vieira, A. H., Cappato, L. P., Neto, R. P. C., Cruz, A. G. (2017). Effect of sodium reduction and flavor enhancer addition on probiotic Prato cheese processing. *Food Research International*, 99, 247–255.

Talwalkar, A., Miller, C. W., Kailasapathy, K. and Nugyen, M. H. (2004). Effect of packaging conditions and dissolved oxygen on the survival probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 605-609.

Varnam, A. H., & Sutherland, J. P. (1994). *Milk and Milk Products*. Springer US, (Chapter 8)
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Desenvolvimento da presente dissertação permitiu as seguintes conclusões gerais a respeito da qualidade do queijo *petit suisse* caprino adicionado de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e frutooligossacarídeo.

- O queijo *petit suisse* caprino adicionado de preparado de maracujá, *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e/ou frutooligossacarídeo apresentou em geral melhores características físico-químicas, sensoriais e teor de compostos fenólicos em relação as demais amostras.
- As contagens de células viáveis mostraram que o queijo *petit suisse* de leite de cabra, é um bom carreador de culturas probióticas e de frutooligossacarídeos, sendo detectadas quantidades suficientes para promover benefícios à saúde do consumidor.
- A análise sensorial mostrou que os queijos foram bem aceitos pelos consumidores, quanto aos atributos de aparência, cor, sabor, textura e avaliação global. Assim, o queijo *petit suisse* de leite de cabra foi um bom carreador de frutooligossacarídeos, bem como das culturas probióticas de *Lactobacillus mucosae* CNPC007, assegurando um possível efeito benéfico à saúde dos consumidores relacionados ao consumo de produtos com características simbióticas.
- A partir deste estudo pode-se concluir que o melhor queijo foi aqueles adicionados das bactérias probióticas de *Lactobacillus mucosae* CNPC007 e/ou FOS (QL e QLF) tendo em vista que apresentaram características físico-químicas (incluindo teor de fenólicos totais), microbiológicas, sensoriais satisfatórias quando comparado aos demais tratamentos.

- Outros estudos devem ser desenvolvidos para avaliar o perfil de aminoácidos, açúcares e lipídios para melhor elucidação dos resultados, e viabilidade das bactérias *in vivo* com o objetivo de atestar se o queijo *petit suisse* caprino probiótico e simbiótico pode ser considerado como um alimento funcional.
- Estudos aprofundados sobre o metabolismo do FOS pelas bactérias probióticas ao longo do tempo devem ser executados por meio de metodologias moleculares, comprovando o efeito sinérgico da adição dos prebióticos e probióticos em queijos.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de consentimento livre e esclarecido.

Título da pesquisa: “QUEIJO PETIT SUISSE CAPRINO SABOR MARACUJÁ: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial funcional”.

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“QUEIJO PETIT SUISSE CAPRINO SABOR MARACUJÁ: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial funcional”**, realizada na **Universidade Federal da Paraíba**. O objetivo da pesquisa é desenvolver queijos *petit suisse* com propriedades funcionais por ação de bactérias lácticas, como também prebióticos. A sua participação é muito importante e ela se dará através de uma análise sensorial e o preenchimento de um questionário em relação ao alimento avaliado. Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Caso o(a) senhor(a) tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contatar:

Pesquisador responsável:

Tammyrys Maria de Oliveira Dantas, Rua Jociara Telino, 370 – Cep:58053-100 – João Pessoa/PB. Telefone: (83) 986142204. E-mail: tammyrysdantas@hotmail.com

Ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal da Paraíba, localizado no Centro de Ciências da Saúde - 1º andar, *Campus I* - Cidade Universitária. CEP: 58.051-900 - João Pessoa-PB. Telefone: (83) 3216 7791, e-mail: eticaccsufpb@hotmail.com. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida, assinada e entregue ao(a) senhor(a). Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura da Testemunha

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

João Pessoa/PB, ____ de _____ de 2018.

APÊNDICE B - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Aceitação e Intenção de compra.

Universidade Federal da Paraíba, *campus I*, João Pessoa
Teste de Aceitação e Intenção de compra

Idade:____ **Sexo:**____ **Escolaridade:**____ **Data:**_____

Você está recebendo 04 amostras codificadas de queijo *petit suisse* caprino sabor maracujá. Prove-as da esquerda para direita e escreva o valor da escala que você considera correspondente à amostra (código). Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 – desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)			
Aparência				
Cor				
Aroma				
Sabor				
Textura				
Avaliação Global				

Agora indique sua atitude ao encontrar estes queijos *petit suisse* no mercado.

- 5 – certamente compraria
- 4 – provavelmente compraria
- 3 – talvez comprasse/ talvez não
- 2 – provavelmente não compraria
- 1 – certamente não compraria

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)			
Intenção de Compra				

Comentários:_____

Obrigada.

APÊNDICE C - Formulário de avaliação sensorial – Teste de Ordenação-Preferência.

Universidade Federal da Paraíba, *campus 1*, João Pessoa
Teste de Ordenação-Preferência

Idade:_____ **Sexo:**_____ **Escolaridade:**_____ **Data:** _____

Você está recebendo 04 amostras codificadas de queijo *petit suisse* caprino sabor maracujá. Por favor, prove as amostras, da esquerda para direita, e ordene-as em ordem decrescente de **preferência geral**. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize a água entre cada avaliação.

	Mais Preferida			Menos preferida
Posto	1º Lugar	2º Lugar	3º Lugar	4º Lugar
Código				

Comentários:_____

Agora, por favor, responda as seguintes questões:

Qual característica sensorial você mais apreciou na amostra mais preferida?

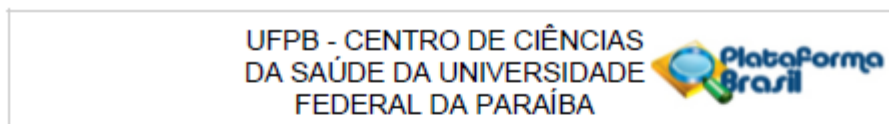
Qual característica sensorial você não apreciou na amostra menos preferida?

Comentários:_____

Obrigada.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Saúde



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: QUEIJO PETIT SUISSE CAPRINO SABOR MARACUJÁ: elaboração, caracterização e avaliação in vitro do potencial funcional.

Pesquisador: TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 02157218.4.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba/Centro de Tecnologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.064.176

Apresentação do Projeto:

Trata-se de analisar o projeto de pesquisa em tela da mestrandia TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS do CENTRO DE TECNOLOGIA da Universidade Federal da Paraíba.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO GERAL:

Elaborar e caracterizar os aspectos tecnológicos, bem como o potencial funcional do queijo petit-suisse caprino adicionado de preparado de maracujá.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1.Elaborar diferentes queijos petit-suisse caprino adicionado de *Lactobacillus mucosae* e frutooligossacarídeos (FOS);
- 2.Caracterizar as variáveis tecnológicas, físicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais dos queijos petit-suisse processados, durante armazenamento refrigerado;
- 3.Avaliar a sobrevivência e viabilidade da bactéria *Lactobacillus mucosae* e do frutooligossacarídeos (FOS) adicionados ao queijo petit-suisse quando expostos às condições simuladas do trato gastrointestinal.

ANEXO B – Pedido de Inovação Tecnológica.**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo: BR 10 2018 072415 0****Dados do Depositante (71)**

Depositante 1 de 1**Nome ou Razão Social:** UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica**CPF/CNPJ:** 24098477000110**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa**Endereço:** Cidade Universitária**Cidade:** João Pessoa**Estado:** PB**CEP:** 58059-900**País:** Brasil**Telefone:** (83) 32167558**Fax:****Email:** inova@reitoria.ufpb.br

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 7

Nome: TAMMYRYS MARIA DE OLIVEIRA DANTAS

CPF: 06557595490

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Mestrando

Endereço: Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde,
Departamento de Nutrição, Campus I.

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58051-900

País: BRASIL

Telefone: (83) 986 142204

Fax:

Email: tammyrystdantas@hotmail.com

Inventor 2 de 7

Nome: MARIA ELIEIDY GOMES DE OLIVEIRA

CPF: 01187544400

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências da Saúde,
Departamento de Nutrição, Campus I.

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58051-900

País: BRASIL

Telefone: (83) 321 67826

Fax:

Email: elieidynutri@yahoo.com.br

Inventor 3 de 7

