



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

NKARTHE GUERRA ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA
LÁCTEA PROBIÓTICA CAPRINA ISENTA DE LACTOSE
COM ADIÇÃO DE POLPA DE JAMBO**

JOÃO PESSOA-PB

2021

NKARTHE GUERRA ARAÚJO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA
LÁCTEA PROBIÓTICA CAPRINA ISENTA DE LACTOSE COM
ADIÇÃO DE POLPA DE JAMBO

JOÃO PESSOA-PB

2021

NKARTHE GUERRA ARAÚJO

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA
LÁCTEA PROBIÓTICA CAPRINA ISENTA DE LACTOSE COM
ADIÇÃO DE POLPA DE JAMBO

Tese 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 Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a.: Haíssa Roberta Cardarelli

Coorientador: Prof. Dr.: Ricardo Targino Moreira

JOÃO PESSOA-PB
2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663d Araújo, Nkarthe Guerra.

Desenvolvimento e caracterização de bebida láctea
probiótica caprina isenta de lactose com adição de
polpa de jambo / Nkarthe Guerra Araújo. - João Pessoa,
2021.

118 f. : il.

Orientação: Haíssa Roberta Cardarelli.

Coorientação: Ricardo Targino Moreira.

Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Leite caprino. 2. Compostos bioativos. 3. Hidrólise
enzimática. 4. Lacticaseibacillus paracasei. 5.
Syzygium malaccensis. I. Cardarelli, Haíssa Roberta.
II. Moreira, Ricardo Targino. III. Título.

UFPB/BC

CDU 637.12:636.39(043)

NKARTHE GUERRA ARAÚJO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE BEBIDA LÁCTEA
PROBIÓTICA CAPRINA ISENTA DE LACTOSE COM ADIÇÃO DE POLPA DE
JAMBO**

Tese aprovada em 29 de março de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a.Dr^a. Haíssa Roberta Cardarelli-PPGCTA/CT/UFPB
Orientadora/Presidente da banca examinadora.

Prof^a. Dr^a. Graciele da Silva Campelo Borges - PPGCTA/CT/UFPB
Examinador interno

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga - PPGCTA/CT/UFPB
Examinador interno

Prof^a. Dr^a. Mônica Correia Gonçalves - CCTA/UFCG
Examinador externo

Prof^a. Dr^a. Flavia Carolina Alonso Buriti - CCBS/UEPB
Examinador externo

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela orientação, proteção, amor e zelo, com os quais sempre conduziu minha vida.

À Nossa Senhora de Fátima e ao meu Anjo da Guarda pela companhia diária.

À minha avó (*in memorian*) e aos meus pais, por todo o amor dedicado ao longo da minha vida.

Aos meus sobrinhos e irmãos pelo auxílio e incentivo.

Ao meu noivo pelo apoio e companheirismo durante esses dez anos de caminhada.

À Prof^a. Dr^a. Haíssa Roberta Cardarelli pela orientação e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. Ricardo Targino pelo apoio necessário para meu ingresso no doutorado.

À Idiana Macêdo e ao Mário Lima pelo auxílio na aquisição do jambo e obtenção das polpas.

Aos servidores da UFRN: Thiago Silva, Joana D'arc, Lucivânia Oliveira, Ana Luiza e Isaque Ásafe, bem como a Fátima Bezerra, ao Prof. Dr. José Barros e Lisandra Murmann.

Aos Coordenadores dos Laboratórios da EAJ/UFRN onde esta pesquisa foi realizada, Prof^a. Dr^a. Cláudia Macêdo, Lúcia de Fátima e Robson Coelho.

Aos alunos e aos funcionários da UFRN.

Aos discentes de Mestrado e Doutorado ingressos no PPGCTA em 2017.1, especialmente a Emanuelle Moura e Graciete Silva.

À secretária do PPGCTA, Fernanda Feitosa e ao Neto, por serem sempre tão solícitos em atender nossas necessidades.

Às professoras presentes em minha qualificação e defesa, pelas correções e sugestões nelas apresentadas.

RESUMO

O leite caprino apresenta efeito hipoalergênico, maior digestibilidade e teores superiores de vitaminas e cálcio quando comparado ao leite bovino. É considerado uma matriz propícia para a incorporação bem-sucedida de probióticos, ampliando sua utilização na obtenção de novos produtos fermentados. Paralelamente, a adição de soro de leite caprino e polpa de jambo vermelho aos derivados lácteos tendem a melhorar sua qualidade nutricional e os aspectos sensoriais do produto final. Esta pesquisa teve por objetivo desenvolver diferentes formulações de bebida láctea de origem caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo vermelho e cultura probiótica (*Lacticaseibacillus paracasei*), visando promover a oferta de um produto à base de leite e frutas, direcionado a dois grupos de consumidores com necessidades especiais: intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite bovino. Para tanto, inicialmente a polpa de jambo fresca foi obtida e submetida aos métodos de congelamento e liofilização. Em seguida, os compostos bioativos das polpas foram determinados a partir da extração com diferentes tipos de solventes. Para obtenção do leite caprino com lactose hidrolisada, o leite caprino *in natura* foi pasteurizado, resfriado e adicionado de diferentes concentrações de beta-galactosidase, mantendo-se sob incubação por 5 h nas mesmas condições, seguindo-se à inativação enzimática. Os parâmetros de teor de gordura, proteínas, caseína total, extrato seco total e desengordurado, densidade relativa e o teor de lactose foram determinados após a reação de hidrólise. As diferentes formulações de bebida láctea probiótica isenta de lactose foram desenvolvidas com adição de polpa de jambo congelada (12%, 15% e 18% m/v) e liofilizada (3%, 6% e 9% m/v), correspondendo às formulações F1, F2, F3, F4, F5 e F6, respectivamente e avaliadas durante o período de armazenamento refrigerado. Os resultados demonstraram que as polpas liofilizada e congelada obtidas apresentaram características tecnológicas adequadas para industrialização e destacaram-se especialmente como fonte de compostos bioativos. O metanol acidificado foi o solvente mais eficaz na extração de compostos fenólicos totais e de antocianinas, enquanto a água pura destacou-se na extração dos flavonoides amarelos em ambas as polpas. Verificou-se, também, que a adição de beta-galactosidase promoveu aumento no teor de sólidos totais do leite caprino com lactose hidrolisada. As bebidas elaboradas sem a utilização de aditivos artificiais apresentaram características microbiológicas, sensoriais e tecnológicas relevantes, mostrando-se como um produto promissor aos consumidores com restrições alimentares (intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite bovino). Ademais, destacam-se como alternativas para agregar maior valor econômico ao jambo vermelho, inserindo-o na cadeia alimentar, bem como para promover o aproveitamento do soro de leite caprino. Esta tese foi o primeiro estudo a relatar a aplicação bem sucedida do *Lacticaseibacillus paracasei* associado à cultura *starter* na obtenção de bebida láctea caprina probiótica isenta de lactose com adição de polpa de jambo vermelho.

Palavras-chave: Compostos bioativos, hidrólise enzimática, leite caprino, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Syzygium malaccensis*.

ABSTRACT

Goat milk has a hypoallergenic effect, greater digestibility and higher levels of vitamins and calcium when compared to bovine milk. It is considered a suitable matrix for the successful incorporation of probiotics, expanding its use in obtaining new fermented products. At the same time, the addition of goat whey and red jambo pulp to dairy products tend to improve their nutritional quality and the sensory aspects of the final product. This research aimed to develop different formulations of lactose-free goat milk drink with addition of red jambo pulp and probiotic culture (*Lacticaseibacillus paracasei*), aiming to promote the offer of a milk and fruit-based product, aimed at two groups of consumers with special needs: lactose intolerant and allergic to bovine milk proteins. For that, initially fresh jambo pulp was obtained and submitted to freezing and lyophilization methods. Then, the bioactive compounds of the pulps were determined by extraction with different types of solvents. To obtain goat milk with hydrolyzed lactose, *in natura* goat milk was pasteurized, cooled and added with different concentrations of beta-galactosidase, kept under incubation for 5 h under the same conditions, followed by enzymatic inactivation. The parameters of fat content, proteins, total casein, total and defatted dry extract, relative density and lactose content were determined after the hydrolysis reaction. The different formulations of lactose-free probiotic milk drink were developed with the addition of frozen or lyophilized jambo pulp (12%, 15% and 18% m/v and 3%, 6% and 9% m/v), corresponding to the formulations F1, F2, F3, F4, F5 and F6, respectively, and evaluated during the refrigerated storage period. The results showed that the freeze-dried and frozen pulps obtained presented technological characteristics suitable for industrialization and attracted attention especially as a source of bioactive compounds. Acidified methanol was the most effective solvent in extracting total phenolic compounds and anthocyanins, while pure water stood out in extracting yellow flavonoids from both pulps. It was also found that the addition of beta-galactosidase promoted an increase in the total solids content of goat milk with hydrolyzed lactose. Drinks made without the use of artificial additives presented relevant microbiological, sensory and technological characteristics, proving to be promising products for consumers with dietary restrictions (lactose intolerant and allergic to bovine milk proteins). Furthermore, they were highlighted as alternatives to add greater economic value to red jambo, inserting it into the food chain, as well as to promote the use of goat milk whey. This thesis was the first study to report the successful application of *Lacticaseibacillus paracasei* associated with the starter culture in obtaining a lactose-free probiotic goat milk drink with the addition of red jambo pulp.

Keywords: Bioactive compounds, enzymatic hydrolysis, goat milk, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Syzygium malaccensis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Jambo vermelho.....	33
Figura 2 – Fluxograma de obtenção do leite caprino com lactose hidrolisada	38
Figura 3 – Fluxograma de obtenção do queijo de coalho.....	39
Figura 4 – Fluxograma de obtenção do soro de leite caprino com lactose hidrolisada.....	40
Figura 5 – Fluxograma de obtenção da polpa de jambo congelada e liofilizada.....	52

Artigo 3: Bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo como fonte de bioativos

Figura 1 – Viabilidade de <i>L. paracasei</i> em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo durante 28 dias de armazenamento.....	106
---	-----

Figura 2 – Viabilidade de <i>S. thermophilus</i> (A) e <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (B) em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo durante 28 dias de armazenamento.....	107
---	-----

Figura 3 – Aceitação global de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.....	110
---	-----

Figura 4- Análise de Componentes Principais (PCA) de compostos bioativos e parâmetros sensoriais do 1º dia (A) e após 28 dias (B) de armazenamento.....	112
--	-----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 2: Extração de compostos bioativos da polpa de jambo com diferentes tipos de solventes

Tabela 1 – Composição centesimal das polpas de jambo congelada e liofilizada expressa em percentual ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$).....84

Tabela 2 – Conteúdo total de compostos fenólicos em polpa de jambo obtidos a partir de diferentes solventes.....86

Tabela 3 – Conteúdo de flavonoides amarelos em polpa de jambo obtidos a partir de diferentes solventes.....87

Tabela 4 – Conteúdo total de antocianinas monoméricas em extratos de polpa de jambo obtidas a partir de diferentes solventes.....88

ARTIGO 3: Bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo como fonte de bioativos

Tabela 1 – Caracterização físico-química¹ das formulações de bebida láctea caprina probiótica isenta de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada).....101

Tabela 2 – Valores de pH, acidez total e índice de sinérese (%) de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento..... 102

Tabela 3 – Teores de compostos fenólicos totais^{*}, antocianinas monoméricas totais^{**}, flavonoides amarelos^{***}, e ácido ascórbico^{***} presentes em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.....103

Tabela 4 - Valores dos atributos cor, aroma, sabor e consistência de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.....109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Official Methods of Analysis
APHA	American Public Health Association
APLV	Alergia às Proteínas do Leite de Vaca
DPPH•	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
ELSD	Evaporative Light Scattering <i>Detector</i>
EPS	Exopolissacarídeos
EAJ	Escola Agrícola de Jundiaí
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GOS	Galacto-oligossacarídeos
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IL	Intolerância à Lactose
NMP	Número mais Provável
PPGCTA	Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
PPO	Prova de Provocação Oral
TGI	Trato Gastrointestinal
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

Sumário

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Valor nutricional do leite caprino.....	16
2.2 Alergia às proteínas do leite bovino	18
2.3 Importância industrial da lactose.....	19
2.3.1 Intolerância à lactose	20
2.3.2 Hidrólise enzimática da lactose.....	22
2.3.3 Obtenção de leite isento de lactose.....	24
2.4 Propriedades do soro de leite	26
2.5 Probióticos, benefícios e mecanismo de ação	27
2.6 Viabilidade de probióticos em bebida láctea.....	29
2.6.1 <i>Lactobacillus paracasei</i>	31
2.7 Jambo vermelho - <i>Syzygium malaccensis</i>	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1 Obtenção do leite caprino.....	37
3.1.2 Produção do queijo de coalho caprino e obtenção do soro	39
3.1.3 Análises microbiológicas do leite caprino com lactose hidrolisada	41
3.1.4 Análises físico-químicas do leite caprino com lactose hidrolisada	42
3.2 Obtenção do jambo vermelho e das polpas	43
3.2.1 Análises microbiológicas das polpas de jambo	44
3.2.2 Análises físico-químicas da polpa de jambo	45
3.3 Elaboração das bebidas lácteas	50
3.3.1 Análises físico-químicas das formulações	53
3.2 Análises microbiológicas das formulações	54
3.3.3 Análises sensoriais	55
3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	55
REFERÊNCIAS	16
ARTIGO 1.....	75
ARTIGO 2.....	76
ARTIGO 3.....	93
5 CONCLUSÕES GERAIS	118

1 INTRODUÇÃO

O crescimento no setor de produtos lácteos e o interesse dos consumidores por alimentos que proporcionem benefícios à saúde, com qualidade sensorial adequada, têm impulsionado o desenvolvimento de novos produtos (SAQUETI et al., 2019). O leite caprino apresenta efeito hipoalergênico, maior digestibilidade de gorduras e proteínas e teores superiores de vitamina A, B e de cálcio quando comparado ao leite bovino (DELGADO et al., 2020). A demanda por produtos lácteos caprinos está aumentando tanto nos mercados tradicionais quanto nos novos em função desses efeitos benéficos (MILLER; LU, 2019). O leite caprino também possui potencial para entrega bem-sucedida de probióticos, ampliando sua utilização (RANHADEIRA et al., 2019).

Culturas probióticas são usadas como ingredientes na produção em larga escala de alimentos lácteos funcionais devido aos diversos benefícios à saúde associados ao seu consumo (AL-HINDI; GHANI, 2020). Neste sentido, produtos fermentados com *Lactocaseibacillus paracasei* (anteriormente denominado *Lactobacillus paracasei*) apresentaram vários efeitos benéficos para uma variedade de patologias, incluindo lesões na mucosa gástrica, alívio de alergias, redução no acúmulo de gordura, efeito hipocolesterolêmico, anti-hipertensivo e contra a osteoporose (LIN et al., 2017), propriedades antimutagênicas, antioxidantes e anticancerígenas (PIMENTEL et al., 2015), propriedades anti-inflamatórias (CHOI et al., 2020), redução de doenças infecciosas (POON et al., 2020), de doenças respiratórias (NOCERINO et al., 2017) e de doenças hepáticas (YAO et al., 2019). Dentre os alimentos probióticos, bebidas à base de leite estão entre os principais veículos destes micro-organismos consumidos mundialmente (ANDRADE et al., 2019).

Atualmente, existem diversos tipos de bebidas lácteas no mercado que se diferenciam quanto ao sabor, aroma, consistência, ingredientes não lácteos utilizados, processo de fabricação, fermentação e a quantidade de soro de leite empregado (SANTOS et al., 2021). A utilização do soro de leite em formulações de bebidas lácteas é a principal alternativa para um adequado aproveitamento deste subproduto (FIGUEIREDO et al., 2019; SOUZA et al., 2020), cujas proteínas possuem diversas propriedades funcionais e biológicas, tais como atividades antioxidante, anti-hipertensiva, anticancerígena, antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória e imunomoduladora, além de proteção ao sistema cardiovascular (COSTA et al., 2021). Além disso, a adição de frutas e ingredientes contendo fibras pode melhorar a aceitação sensorial de

bebidas lácteas, além de contribuir através da incorporação de substâncias que não estão presentes naturalmente nesse tipo de produto (SAQUETI et al., 2019).

O jambo vermelho é um fruto tropical caracterizado por apresentar quantidades significativas de antocianinas, flavonoides, e outros compostos fenólicos (BATISTA et al., 2016), teor elevado de ácido ascórbico e uma considerável atividade antioxidante (NUNES et al., 2016). Destaca-se, ainda, como fonte de fibras, vitaminas e minerais. No entanto, apesar da elevada produção, é utilizado apenas para consumo direto nas regiões produtoras, resultando em grande desperdício na época da safra, devido à reduzida vida útil dos frutos *in natura* (AUGUSTA et al., 2010). Neste sentido, a adição da polpa do jambo vermelho na formulação de bebidas lácteas constitui uma alternativa para a inserção do fruto na cadeia alimentar. Assim, pode-se agregar valor nutricional às bebidas devido ao teor de fibras, bem como favorecer a multiplicação de culturas probióticas, contribuir para a cor, o sabor e o aroma das bebidas sem necessidade de aditivos artificiais. Pesquisas com a utilização do jambo na formulação de bebida láctea probiótica caprina, isenta de lactose ainda não foram relatadas até a finalização desta pesquisa, sendo esta, portanto, a primeira.

Produtos lácteos sem lactose vem sendo consumidos por intolerantes a esse carboidrato (APARICIO et al., 2019) e podem ser obtidos com a base de leite caprino a serem inseridos na dieta de consumidores alérgicos às proteínas do leite de vaca (SANTANA et al., 2021). Considerando-se que a intolerância à lactose e a alergia às proteínas do leite bovino vem aumentando (SANTOS; LIMA, 2020), pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de novos produtos para atender as necessidades desses grupos de consumidores diferenciados são necessárias.

Assim, este estudo teve por objetivo desenvolver e avaliar o potencial tecnológico e funcional de diferentes formulações de bebida láctea probiótica de origem caprina, isenta de lactose, com adição de polpa de jambo vermelho, visando promover a oferta de um produto à base de leite e frutas, direcionado a dois grupos de consumidores com necessidades especiais: intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite bovino.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Valor nutricional do leite caprino

A produção de leite caprino no Brasil vem aumentando nos últimos anos como resultado do apoio de programas governamentais projetados para incentivar essa atividade (CAVICCHIOLI et al., 2015). Sua importância se intensificou, principalmente, devido ao problema da alergia, relacionada ao consumo de leite bovino, especialmente entre crianças na primeira infância (AHMED et al., 2015). O Nordeste concentra o maior rebanho leiteiro caprino do país, representando cerca de 92,6%; contudo, a produção de leite caprino nessa região é inferior a 45 % do total nacional, e o consumo ocorre principalmente nas áreas produtoras (LIMA et al., 2018). Na Paraíba, a quantidade de leite caprino produzido por ano é de 5.627.000 L/ ano e envolve uma média de 2.677 estabelecimentos, sendo Taperoá o principal município responsável pela produção anual (543.000 L) (IBGE, 2017).

Apesar da expansão da caprinocultura leiteira, problemas relacionados à sazonalidade, crescimento do rebanho caprino, escassez de investimento tecnológico e manejo inadequado dos animais constituem obstáculos aos avanços do sistema de produção. Diante de tais problemas, ocorre irregularidade na oferta desse produto, resultando na insatisfação da indústria e do consumidor devido à disponibilidade e aos preços dos produtos caprinos adquiridos não atenderem suas expectativas (LIMA et al., 2021). A maior parte do leite caprino produzido é consumido na forma *in natura* e os queijos e iogurtes são os principais produtos processados obtidos (PROSSER, 2021).

O leite caprino é definido como o “produto resultante da ordenha completa e ininterrupta, sobre condições higiênicas, de animais da espécie caprina, bem alimentados e descansados” (BRASIL, 2000). A composição desse leite varia de acordo com fatores diversos, tais como, raça, estágio de lactação e tempo de ordenha, dieta, saúde, idade, localização geográfica onde os caprinos estão inseridos e época do ano (SUDHARSHAN; RAMACHANDRA, 2016). A legislação que regulamenta as condições de produção, identidade e os requisitos mínimos de qualidade desse tipo de leite, destinado ao consumo humano no Brasil, estabelece como padrões mínimos: 2,8% de proteína bruta, 4,3% de lactose, 8,2% de sólidos não gordurosos e 0,7% de cinzas, acidez titulável variando de 0,13% a 0,18%; densidade a 15 °C de 1,028 g/mL a 1,034 g/mL; índice crioscópico (ponto de congelamento) de -0,550 °H a -0,585 °H (BRASIL, 2000).

O leite bovino apresenta cerca de 87,9% de umidade, 3,3% de gordura, 0,7% de cinzas, 4,7% de lactose e 3,4% de proteínas em sua composição, e difere do leite caprino devido à quantidade inferior de lactose. As diferenças no teor proteico também são significativas quando as frações de caseína de ambos os leites são comparadas. O leite bovino apresenta cerca de 39,7% de α -caseína, o teor de β -caseína é de 32,7% e de κ -caseína 11,6%. Já no leite caprino, a fração proteica apresenta 5,6% de α -caseína, 54,8% de β -caseína e 20,4% de κ -caseína (BALTHAZAR et al., 2017). Os níveis mais elevados de α -caseína no leite bovino estão diretamente relacionados à sua maior alergenicidade quando comparado ao leite caprino. No entanto, apesar da necessidade fisiológica de alguns indivíduos, especialmente crianças com sensibilidade às proteínas do leite de vaca, a valorização do leite caprino na nutrição humana recebeu pouca atenção da sociedade científica até o momento (PRAJAPATI et al., 2017).

O leite caprino é considerado um alimento altamente nutritivo e apresenta uma composição proteica similar ao leite materno. Quando comparado ao leite bovino, apresenta glóbulos de gordura menores e quantidades superiores de ácidos graxos de cadeia curta e média. Estas características aumentam a digestibilidade e a biodisponibilidade desse tipo de leite. Contém ainda, vitaminas abundantes (A, E, B1, B2 e C) e minerais (potássio, cálcio, magnésio, fósforo, sódio, ferro, cobre e zinco) com uma taxa de absorção superior (JUNG et al., 2016). Pesquisas relacionadas ao leite caprino indicaram ainda, que as proteínas deste alimento, bem como os peptídeos produzidos a partir destas, apresentam importante atividade biológica, como antimicrobianos, imunomoduladores, antioxidantes, antitrombóticos, hipocolesterolêmicos e anti-hipertensivos (COSTA et al., 2014). Além disto, normalmente contém entre 250 e 300 mg / L de oligossacarídeos, valor 45 vezes superior ao conteúdo presente no leite bovino. Estes oligossacarídeos podem atuar como prebióticos, promovendo a manutenção da saúde do trato gastrointestinal, contribuindo para a multiplicação da população de bactérias benéficas e inibindo o desenvolvimento das patogênicas (KUMAR et al., 2016).

Apesar desses benefícios, há algumas dificuldades tecnológicas associadas à produção de derivados lácteos de origem caprina, relacionadas sobretudo à composição específica e à estrutura dos compostos presentes nesse tipo de leite. O baixo teor de α -caseína afeta a coagulação, resultando em um gel frágil e reduz o rendimento de queijos (PARK et al., 2021). Do mesmo modo, algumas características sensoriais dos produtos lácteos caprinos, como sabor e aroma mais intensos, contribuem para a sua baixa aceitação e limitam seu consumo, o que pode ser otimizado pela adição de polpas de frutas na obtenção de seus derivados

(SANTANA et al., 2021). Ademais, o desenvolvimento de produtos de origem caprina vem sendo impulsionado como alternativa alimentar para consumidores sensíveis aos componentes do leite bovino, como os intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas contidas nesse tipo de leite (FEITOSA et al., 2021).

2.2 Alergia às proteínas do leite bovino

A alergia alimentar aumentou consideravelmente nos últimos anos, atingindo cerca de 8% das crianças e 4% dos adultos, sendo considerada um problema de saúde pública (RACHID et al., 2021). Esta disfunção é caracterizada como uma reação adversa, mediada pelo sistema imunológico, que em contato com algum componente do alimento, normalmente as proteínas, pode desencadear sinais e sintomas de desconforto aos indivíduos. A resposta depende de cada organismo, pois a tolerância varia de acordo com o contato e a quantidade do alérgeno (KANCHAN et al., 2021).

A alergia às proteínas do leite de vaca (APLV) é uma das alergias alimentares mais comuns, afetando entre 2% e 7,5% da população mundial, sendo as crianças na primeira infância o grupo mais atingido (LIANG et al., 2020). Embora o organismo apresente a capacidade de digerir as proteínas, às vezes estas não são reconhecidas pelo sistema imunológico, desencadeando o desenvolvimento e/ou início da APLV (ALIAGA et al., 2020). Os sintomas típicos desta alergia são observados no trato gastrointestinal (cólicas abdominais, vômitos e diarreia), e os demais sintomas são manifestados especialmente no trato respiratório e pele (urticária, inchaço do rosto, eczema, tosse e dificuldade em respirar, vermelhidão em torno da boca que pode difundir-se por todo o corpo, corrimento nasal, espirros e coceira nos olhos) (SILVA et al., 2019; SANTOS; LIMA, 2020; ANDRADE et al., 2020).

Apesar das crianças constituírem o grupo mais vulnerável, a APLV com manifestações gastrointestinais (GI) ocorre em qualquer fase da vida (FERREIRA et al., 2014). De acordo com Chen et al. (2014), o trato gastrointestinal desempenha uma importante função na alergia alimentar, pois é uma das primeiras barreiras de defesa do organismo contra precursores das reações adversas. A manutenção da barreira da mucosa intestinal é um ponto crítico para os mecanismos de defesa, pois havendo a modulação da permeabilidade intestinal, a indução da alergia alimentar com sintomas intestinais pode ser menos agressiva. Nesta perspectiva, o uso de probióticos parece ser uma alternativa interessante para a prevenção e/ou tratamento de

doenças alérgicas, pois são capazes de manter o equilíbrio adequado da microbiota intestinal (CUELLO-GARCIA et al., 2015).

O diagnóstico em caso de suspeita de APLV é baseado na história clínica do paciente e, para este deve ser realizada uma dieta de eliminação, na qual, as proteínas do leite bovino são totalmente excluídas da alimentação e, posteriormente, é avaliada a resposta clínica. Após um período de dieta de eliminação, a Prova de Provocação Oral (PPO) é realizada, sendo considerado o método definitivo para confirmar ou excluir a suspeita da alergia. Este teste consiste na administração de doses graduais de leite bovino, iniciando com um volume baixo ao que poderá produzir sintomas, aumentado gradativamente até atingir o equivalente a um volume adequado à idade. Considera-se uma PPO positiva quando a introdução do leite bovino reproduz os sintomas, confirmando-se a APLV (MENDONÇA et al., 2020).

O tratamento para a APLV consiste na restrição do alimento causador dessa condição (MAEDA et al., 2021). A exclusão de leite e produtos lácteos bovinos da dieta, sem substituições apropriadas, pode, contudo, conduzir as crianças à desnutrição e/ou deficiências nutricionais específicas. Considerando isto, as organizações científicas recomendam a utilização de um substituto apropriado deste tipo de leite para esse grupo de consumidores (LIFSCHITZ; SZAJEWWSKA, 2014). Segundo Park et al. (2021), o leite caprino é reconhecido por suas propriedades nutricionais e hipoalergênicas, e pode ser utilizado como alternativa ao leite bovino na dieta desses indivíduos.

2.3 Importância industrial da lactose

A lactose é o principal carboidrato presente no leite de todos os mamíferos, variando aproximadamente entre 3 e 8%, e está presente em grande quantidade no soro de leite (JIN et al., 2015). É definida como um dissacarídeo, obtido através da síntese nas células alveolares da glândula mamária por meio da reação de um radical de D-glicose e outro de D-galactose unidos por uma ligação β -1,4-glicosídica (LIN et al., 2016). Na mucosa do intestino delgado, a enzima β -D-galactosidase (lactase) é responsável pela hidrólise enzimática da ligação glicosídica β -1,4 da lactose, liberando seus componentes monossacarídicos, glicose e galactose, para absorção na corrente sanguínea. Ambos os monossacarídeos passam pelo sistema porta e são transportados até o fígado, onde a galactose é convertida em glicose (PEREIRA et al., 2014).

A lactose é encontrada sob duas formas devido à presença de carbono quiral, as quais apresentam propriedades físicas distintas: a forma isomérica cristalina α hidratada e a β anidra. Quando em solução ocorre a transformação de uma forma em outra até atingir o equilíbrio, fenômeno denominado de mutarrotação. Comparando as propriedades isoméricas α e β , verifica-se a presença de átomos de carbono assimétricos opticamente ativos, que quando em soluções, desviam o plano vibracional da luz polarizada que os atravessa. Ambas as formas diferem em sua rotação. Outras distinções quanto aos seus aspectos físico-químicos estão relacionadas à baixa solubilidade, forma, tamanho, hidratação dos cristais, e baixo dulçor, quando comparado a outros carboidratos (PEREIRA et al., 2012).

Este dissacarídeo apresenta grande importância para a indústria de alimentos, pois através de sua fermentação por bactérias lácticas, são obtidos produtos diversos, como iogurtes, leites fermentados, uma diversidade de queijos, entre outros. De igual modo, pode ser isolada e posteriormente utilizada como matéria-prima para obtenção de vários derivados dietéticos, como a lactulose e galacto-oligossacarídeos. Além disso, é um carboidrato redutor, participando efetivamente da reação de Maillard, essencial para a formação da coloração de produtos lácteos obtidos a partir do aquecimento (HUPPERTZ; GAZI, 2016), como o doce de leite e produtos de confeitaria. Todavia, apresenta forte tendência em absorver sabores e odores estranhos e promove defeitos variados em derivados lácteos refrigerados, tais como a cristalização e, conseqüentemente, o desenvolvimento de textura arenosa (HUSAIN, 2010).

É frequentemente utilizada também na indústria farmacêutica, atuando como estabilizante e edulcorante, adocicando as medicações, especialmente os analgésicos e antitérmicos (SILVA; LOPES, 2015).

2.3.1 Intolerância à lactose

Todos os mamíferos, incluindo os humanos, quando nascem em condições normais, são capazes de sintetizar a lactase. Todavia, uma parcela da população mundial, incluindo todas as faixas etárias, não apresenta esta predisposição, sendo definidos como intolerantes à lactose (RANGEL et al., 2016). A frequência populacional que apresenta essa disfunção é variável entre diversos países apresentando uma prevalência distinta entre as populações, de 80 a 100% em indígenas americanos e asiáticos, 60 a 80% dos negros e latinos e entre 2 e 15% dos descendentes de norte europeus, respectivamente (SILVA et al., 2020).

A intolerância à lactose (IL) decorre da inexistência ou do baixo conteúdo de beta-galactosidase (lactase) presente no organismo, capaz de hidrolisar a lactose após ingestão do leite e/ou derivados (OLIVEIRA et al., 2020). A deficiência da lactase segue três tipos de classificações distintas: primária, congênita e secundária. A deficiência primária é a mais comum entre a população da América do Sul, África e Ásia. Sua ocorrência está relacionada ao declínio da atividade da lactase ao longo da vida e os adultos constituem o grupo mais vulnerável (LUTHY et al., 2017). A deficiência congênita é herdada e extremamente rara. Nesta, o quantitativo de lactase é muito baixo ou inexistente. Ocorre com mais frequência em recém-nascidos. Já a secundária, também denominada de deficiência de lactase adquirida é resultante de lesões na mucosa intestinal, ocasionada pelo uso de medicamentos e/ou tratamento contra doenças graves, como o câncer. Normalmente, a atividade da lactase é restabelecida quando são sanadas as lesões (MANUYAKORN; TANPOWPONG, 2019).

Os principais sintomas da IL são manifestados no trato gastrointestinal, como cólicas e distensão abdominal, diarreia e flatulências, náuseas e vômitos e ocorrem após o consumo de alimentos contendo lactose, como consequência da fermentação deste dissacarídeo por bactérias colônicas (BAADKAR et al., 2014). O diagnóstico clínico da IL geralmente é baseado em métodos bioquímicos, após a ingestão de doses significativas de lactose, suficientes para cada teste. Estão incluídos neste, o teste respiratório de hidrogênio expirado e o teste de atividade de lactase direta. Também podem ser realizados outros testes complementares, como a biópsia, cuja finalidade é verificar a atividade enzimática da lactase presente no intestino (SANTONOCITO et al., 2015).

Quando um ou mais sintomas são observados e a IL é diagnosticada, recomenda-se a exclusão de leite e derivados da dieta. Entretanto, esta recomendação apresenta um risco nutricional significativo, pois indivíduos que não ingerem leite consomem significativamente menos proteínas lácteas, vitaminas e minerais, especialmente o cálcio (OLIVEIRA et al., 2020). A busca por alternativas envolve diversos produtos como o leite de soja, que são consumidos como substitutos do leite bovino e de seus derivados. No entanto, estes não apresentam a mesma disponibilidade de nutrientes. Além disso, a introdução de leite de soja na dieta, especialmente de crianças, representa um risco potencial para a saúde desse grupo populacional, devido à presença de fitoestrógenos neste alimento (NARDI et al., 2017). Outra possibilidade é o consumo de derivados lácteos sem lactose, obtidos a partir da hidrólise enzimática (BATISTA et al., 2018).

2.3.2 Hidrólise enzimática da lactose

Apesar da alta prevalência de intolerância à lactose entre a população, a diversidade de produtos comerciais com níveis reduzidos de lactose ainda é baixa (MOREIRA et al., 2017). Neste sentido, a indústria de alimentos está empenhada em alternativas viáveis para solucionar o problema da intolerância à lactose e uma grande quantidade de pesquisas e esforços tecnológicos foram realizados neste sentido, verificando-se que o processo de hidrólise elimina suficientemente este açúcar do leite (BALI et al., 2017). Mörschbacher et al. (2016) consideram este processo promissor para a indústria alimentícia, pois possibilita a obtenção de novos produtos sem lactose na composição, reduzindo os sintomas de intolerância, oferecendo ainda, vantagens tecnológicas, na medida em que reduz os riscos de cristalização nos derivados lácteos e aumenta seu poder adoçante.

Todavia, a quebra da lactose do leite não promove modificações apenas na estrutura do açúcar, outras propriedades também são alteradas, e estas características devem ser melhor investigadas na obtenção de seus derivados lácteos. Há controvérsias com relação às propriedades sensoriais de produtos lácteos fermentados com lactose hidrolisada, uma vez que algumas pesquisas indicam boa aceitação e textura mais cremosa de iogurte isento de lactose, enquanto outras relatam iogurtes com sabor muito doce e com menor viscosidade (SCHMIDT et al., 2016). Trabalhos relacionados às modificações nas características nutricionais, bem como seu efeito no leite e em seus derivados, especialmente de bebidas lácteas de origem caprina, no entanto, até o momento onde essa pesquisa foi concebida, não foram relatados.

Existem dois métodos principais para a realização da hidrólise da lactose, o método químico e o enzimático. A hidrólise química é caracterizada pela aplicação de ácidos fortes, temperaturas elevadas (90 a 150 °C) e baixo pH (1 a 2), obtendo-se a hidrólise em pouco tempo, sem a necessidade da utilização de enzimas de custo elevado. Porém, os inconvenientes superam os benefícios, pois o custo da planta industrial é elevado e pelas condições utilizadas, o produto apresenta qualidade nutricional e sensorial inferior (BACELAR JÚNIOR et al., 2013). Segundo Das et al. (2015), a hidrólise enzimática é catalisada pela enzima lactase (beta-galactosidase), em condições brandas de temperatura e pH, sem, contudo, afetar as características sensoriais dos alimentos, sendo, portanto, o método mais indicado na indústria alimentícia. O mecanismo de ação consiste na hidrólise da ligação glicosídica da lactose, originando, glicose e galactose (KIRTHIGA et al., 2016), dois monossacarídeos facilmente absorvidos pelo organismo.

Outra característica extremamente importante da beta-galactosidase está relacionada ao seu sítio ativo, que possui habilidade tanto para hidrolisar a lactose quanto para transgalactolisar a galactose formada durante o processo de hidrólise. Devido a esta propriedade, essa enzima vem sendo utilizada para a produção de galacto-oligossacarídeos (GOS), que são oligossacarídeos não digeríveis utilizados como ingrediente em alimentos, por apresentarem efeito prebiótico (HEIDTMANN et al., 2012). A formação de GOS a partir da lactose, no entanto, é influenciada por fatores diversos, como fonte da enzima, concentração, temperatura de hidrólise, pH e concentração do substrato (LISBOA et al., 2012).

As beta-galactosidases microbianas apresentam uma posição proeminente no desenvolvimento de vários produtos relevantes industrialmente. A enzima pode ser obtida a partir de células microbianas tais como bactérias, bolores e leveduras com propriedades variáveis, dependendo da espécie (SELVARAJAN et al., 2015). No Brasil, a beta-galactosidase autorizada para uso na produção de alimentos em geral, é proveniente do *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Candida pseudotropicalis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus* e *Saccharomyces* sp. A forma de utilização recomendada é de coadjuvante de tecnologia, devendo ser inativada no final do processamento (BRASIL, 2014). No entanto, normalmente, as beta-galactosidases provenientes de *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae* são mais comumente aplicadas uma vez que se encontram disponíveis em quantidades elevadas e por custo mais baixo quando comparadas às demais (SCHMIDT et al., 2016).

A beta-galactosidase proveniente da *Kluyveromyces lactis* é classificada como uma enzima intracelular constituída por 1.024 aminoácidos. Sua estrutura cristalina revela uma proteína tetramérica com peso molecular com cerca de 118 kDa por subunidade. A Generally Recognized As Safe (GRAS) indica esta enzima como uma das beta-galactosidases mais adequadas para aplicações industriais, farmacêuticas e alimentícias (GENNARI et al., 2019). Apresentam melhores condições operacionais em pH neutro e temperaturas mais amenas e são as mais utilizadas na obtenção de leite e derivados isentos de lactose (BOSSO et al., 2016).

2.3.3 Obtenção de leite isento de lactose

Nos últimos anos, a produção de alimentos sem lactose ou com baixo teor de lactose vem crescendo devido à necessidade de atender aos portadores de IL e compensar as perdas de mercado, resultantes da redução no consumo dos produtos tradicionais por esses indivíduos (SANTOS et al., 2019). O mercado de laticínios sem lactose é o segmento de crescimento mais rápido na indústria de alimentos. Espera-se que os produtos sem lactose alcancem um faturamento de € 9 bilhões em 2022 e continue a superar os derivados lácteos tradicionais em geral, sendo o leite sem lactose, o principal responsável na categoria de laticínios (DEKKER et al., 2019).

A adesão a uma dieta sem lactose gera um custo econômico superior para os intolerantes, uma vez que, os produtos sem lactose disponíveis no mercado apresentam preços significativamente mais elevados que os alimentos que contêm teores de lactose normais na composição, portanto, é necessário considerar o custo durante a produção desses alimentos de modo a permitir sua aquisição pelos intolerantes (SURI et al., 2019). O preço é o fator mais importante para as decisões de compra do leite sem lactose, quando comparado ao leite com teor normal de lactose, e embora crescente em popularidade entre os consumidores, há poucas pesquisas publicadas sobre leite sem lactose até o momento (RIZZO et al., 2020).

Estudo relacionado à atividade da beta-galactosidase na composição do leite sem lactose bem como seus efeitos químicos na qualidade deste tipo de leite conduzido por Jansson et al. (2014), comprovaram que a lactase exibe sinais de proteólise. Além disso, os autores observaram concentrações mais elevadas de furosina e 2-metilbutanal no leite sem lactose, indicando que esse tipo de leite é mais propenso a reação de Maillard e outras reações envolvendo açúcares. O leite com lactose hidrolisada pode apresentar sabores da reação de Maillard (cozido ou caramelizado) não presentes no leite tradicional e é menos estável quimicamente que este, devido à maior reatividade da glicose e da galactose em comparação com a lactose (CARULLI et al., 2011). Aumento no teor de proteínas, densidade relativa, extrato seco total e desengordurado de leite com lactose hidrolisada também foi relatado em pesquisa desenvolvida por Trevisan (2008).

A hidrólise da lactose do leite pode ser realizada antes ou após o tratamento térmico. Quando a lactase é adicionada antes do tratamento térmico, a enzima é desnaturada, e o processo de hidrólise deve ser concluído em lotes, portanto, maiores quantidades de enzima e tempos mais demorados são necessários para garantir uma hidrólise adequada, já quando a

lactase é adicionada após o tratamento térmico, a hidrólise ocorre dentro da embalagem ao longo do tempo, durante o armazenamento e distribuição do leite processado e o nível de lactose residual é mais baixo. Entretanto, esse processo requer o uso de enzima asséptica, cujo custo é mais elevado (HARJU et al., 2012). A hidrólise incompleta da lactose pode ser ocasionada por tempo de reação ou dosagem enzimática insuficientes, resultando em níveis mais elevados de lactose residual (GARBALLO-RUBIO et al., 2018).

A escassez de dados relacionados à quantidade de lactose no rótulo dos alimentos industrializados viola o direito fundamental do consumidor à informação, e consequentemente, prejudica sua autonomia através da orientação nutricional recebida e a liberdade de escolha quanto ao consumo desses produtos (BATISTA et al., 2018). Segundo a Resolução nº 460 da ANVISA, os alimentos para dietas com restrição de lactose são classificados como isentos de lactose, quando contêm quantidade desse açúcar igual ou inferior a 100 miligramas por 100 gramas ou mililitros do alimento pronto para o consumo e como alimentos com baixo teor de lactose, quando apresenta quantidade de lactose superior a 100 miligramas por 100 gramas ou mililitros e igual ou menor do que 1 grama por 100 gramas ou mililitros do alimento pronto para o consumo, devendo apresentar a declaração “isento de lactose”, “zero lactose”, “0% lactose”, “sem lactose” ou “não contém lactose”, “baixo teor de lactose” ou “baixo em lactose”, próximo à denominação de venda do produto (BRASIL, 2020).

O mercado dispõe de leites rotulados como “zero lactose” que não se enquadram na legislação atual, portanto os fabricantes desses alimentos devem adequar sua produção para a obtenção de leites que atendam às recomendações da legislação (VASCONCELOS et al., 2020). Com o crescimento no mercado de produtos isentos de lactose para atender a um público com necessidades e restrições alimentarias especiais, a necessidade de métodos confiáveis para determinação do teor final de lactose nestes produtos aumentou, tornando-se uma determinação obrigatória nas indústrias (SILVA et al., 2020).

Os métodos analíticos disponíveis para a análise de lactose incluem polarimetria, detecção por infravermelho médio, fotometria, gravimetria e titulometria (LIMA, 2017). Entretanto, os produtos oriundos diretamente da hidrólise da lactose, bem como as moléculas geradas a partir da glicose e galactose (oligossacarídeos) atuam como interferentes para quantificação da lactose utilizando esses métodos (FAI; PASTORE, 2015; GILLE et al., 2018). Além disso, esses métodos analíticos não permite a diferenciação individual entre carboidratos, não sendo, portanto, adequados para identificar a lactose em produtos

alimentícios contendo diferentes açúcares (MORLOCK et al., 2014; SRIVASTAVA et al., 2014). Nesse sentido, a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) além da lactose, quantifica outros açúcares simultaneamente, sendo umas das técnicas mais recomendadas (GALANT et al., 2015).

2.4 Propriedades do soro de leite

Segundo a legislação brasileira, soro de leite é “o líquido obtido após a coagulação do leite, destinado à fabricação de queijos, caseína e/ou produtos similares. De acordo com a acidez, pode ser classificado em dois tipos, soro de leite doce, onde a coagulação ocorre principalmente pela ação enzimática, devendo apresentar pH entre 6,0 a 6,8 e soro de leite ácido, em que a coagulação se produz por acidificação, e o pH deve ser inferior a 6,0” (BRASIL, 2013). Segundo Costa et al. (2013), o soro é um líquido opaco, esverdeado, que contém aproximadamente 55% dos sólidos presentes no leite integral, representando em torno de 80 a 90% do volume de leite utilizado na fabricação de queijos.

Devido ao grande volume produzido, o tratamento do soro de leite torna-se dispendioso e o poder poluente elevado (aproximadamente 100 vezes maior que do esgoto doméstico). Se lançado em cursos d'água sem nenhum tratamento reduz a vida aquática devido à elevada demanda biológica e química de oxigênio (50.000 mg / L e 80.000 mg / L, respectivamente) e, quando descartado no solo, compromete as suas condições físico-químicas, diminuindo o rendimento da colheita (YEONG et al., 2015). Apesar de nos últimos anos, a legislação que trata da qualidade dos efluentes da indústria de laticínios ter se tornado mais rigorosa com relação ao destino deste subproduto na tentativa de preservar o meio ambiente, metade do soro de leite produzido no Brasil ainda é descartado como resíduo (MORRIL et al., 2019). Lima et al. (2016b), contrastam bem esta realidade, comparando-a com a de outros países, indicando que, enquanto em países desenvolvidos aproximadamente 95% do soro é empregado na indústria alimentícia na formulação de produtos diversos, no Brasil, apenas 50% do soro produzido é aproveitado com a mesma finalidade.

A composição do soro é variável e depende da origem e do processo de coagulação do leite (BELHAMIDI et al., 2014). As proteínas do soro correspondem a 20% do total de proteínas do leite, contendo especialmente duas proteínas principais, a β -lactoglobulina e a α -lactoalbumina, além de imunoglobulinas e lactoferrina. Em contraste com a caseína, essas proteínas são sensíveis à desnaturação pelo calor, de modo que o processamento térmico pode

alterar sua funcionalidade (YEONG et al., 2015). Os principais minerais presentes são cálcio e fósforo, e as vitaminas A e B são as mais encontradas (SKRYPLONEK; JASIŃSKA, 2015). As proteínas do soro contêm elevado número de frações peptídicas que, quando hidrolisadas, apresentam provável atividade bioativa, como efeito hipotensivo, antioxidante e hipocolesterolêmico (KOSSEVA et al., 2009). Apresentam elevado teor de aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada, com diversas atividades biológicas relacionadas à absorção de nutrientes, facilitando o crescimento, desenvolvimento de órgãos específicos além de conferir maior resistência a doenças (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2011).

As proteínas do soro apresentam, ainda, diversas propriedades funcionais de interesse tecnológico como capacidade de formação de gel, aumento da viscosidade, poder emulsificante e capacidade de retenção de água, conferindo melhores características sensoriais aos produtos lácteos (COSTA et al., 2013). Além disso, as proteínas presentes no soro podem estimular a multiplicação de culturas probióticas, tanto no produto acabado, quanto no trato digestivo humano, após o consumo (KRÓLCZYK et al., 2016).

O elevado potencial poluente associado ao valor nutricional e às propriedades funcionais tem resultado em grandes esforços para transformar a grande quantidade de soro de leite gerado nos laticínios em produtos adequados para consumo (ROCHA et al., 2017). Contudo, a elevada quantidade de água presente neste derivado lácteo torna dispendiosa sua desidratação bem como a elevada perecibilidade impossibilita o armazenamento prolongado para conservação. Assim, a maioria das pesquisas direcionam seu aproveitamento aos produtos em que se possa utilizá-lo na forma líquida (SIQUEIRA et al., 2013). Neste contexto, a produção de bebida láctea com a utilização do soro de leite está conquistando espaço no mercado, especialmente, devido à simplicidade do processo e das excelentes propriedades funcionais de suas proteínas (GAJO et al., 2016). No entanto, observa-se que apenas 15% do volume total desse subproduto é destinado para essa finalidade (BATISTA et al., 2015). Portanto, o desenvolvimento de bebidas lácteas probióticas de novos sabores pode contribuir para seu aproveitamento.

2.5 Probióticos, benefícios e mecanismo de ação

Probióticos são “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (HILL et al., 2014). O limite legal para o consumo varia entre os países, sendo que, algumas pesquisas indicam a quantidade

mínima aceitável de 10^6 a 10^7 UFC g⁻¹ para um consumo regular (SAH et al., 2016; BOSNEA et al., 2017). No Brasil, para os produtos formulados com probióticos, os benefícios devem ser comprovados através das alegações de propriedades funcionais aprovadas para a linhagem utilizada, todavia, a confirmação dos benefícios à saúde não é necessária para a associação de probióticos cujas linhagens empregadas já apresentaram um benefício anteriormente comprovado (BRASIL, 2018).

Alguns requisitos foram estabelecidos para que um micro-organismo seja considerado como probiótico para uso por humanos, dentre os quais, tolerância ao trânsito orogastrointestinal incluindo concentrações elevadas de ácido, bile, aderência à mucosa gastrointestinal humana, deve ser de origem humana e seguro quanto à susceptibilidade a antibióticos comuns, não possuir potenciais fatores de virulência e genes de resistência a antibióticos (MORELLI; CAPURSO, 2012). Além disto, as cepas devem permanecer viáveis no produto durante toda a vida útil do mesmo, produzir substâncias antimicrobianas bem como apresentar atividade antagonista contra bactérias patogênicas (SHARMA et al., 2014).

Dentre os benefícios associados ao consumo de probióticos, destacam-se a melhor absorção de determinados nutrientes dos alimentos e o aumento do valor nutricional do seu valor nutricional, prevenção de câncer de cólon, aumento da resposta imune, redução de diarreias, redução do colesterol sanguíneo, alívio dos sintomas de intolerância à lactose, de alergias alimentares, dentre outras patologias (DUARTE et al., 2016). Os efeitos variam de acordo com a cultura utilizada e a quantidade ingerida sendo que os mesmos efeitos, não devem ser generalizados para todas as espécies (DE SIMONE, 2019).

O mecanismo de ação relacionado à redução de intolerância a lactose está associado à fermentação desse carboidrato pelas bactérias probióticas presentes em produtos fermentados, reduzindo a quantidade do dissacarídeo, antes da ingestão e/ou ainda, pela produção da enzima beta-galactosidase, pelas mesmas bactérias (no intestino), auxiliando a hidrólise da lactose após sua ingestão. Já a redução de diarreias e de outras doenças vinculadas ao trato gastrointestinal estão relacionadas à exclusão competitiva, na qual as bactérias probióticas possuem maior capacidade de captura, metabolização de nutrientes e maior facilidade de adesão quando comparadas às patogênicas, prevalecendo sobre estas. Além disso, as bactérias probióticas produzem agentes antimicrobianos, como o ácido lático, acético, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas, substâncias responsáveis pela alteração do pH do meio, concedendo um ambiente desfavorável às bactérias patogênicas. O aumento da imunidade

ocorre devido à ativação de macrófagos, proliferação de células T e aumento da produção de imunoglobulinas, anticorpos e citocinas (WEDAJO, 2015).

Quanto à redução de alergias alimentares, o mecanismo de ação está pautado na capacidade dos probióticos de induzir a quebra de proteínas com potencial alergênico no trato gastrointestinal. O mesmo está associado ao aumento do valor nutricional e absorção de nutrientes, uma vez que estes micro-organismos sintetizam, além de proteínas e da lactose, fibras insolúveis, ácidos graxos de cadeia curta e apresentam capacidade de produzir vitaminas. Já o mecanismo através do qual atuam na prevenção do câncer de cólon ainda não é completamente conhecido (WENDLING; WESCHENFELDER, 2013).

Os mecanismos pelos quais alteram a concentração de colesterol no sangue permanecem em estudo, mas algumas hipóteses são propostas, dentre as quais, a mais evidente é de que as cepas bacterianas são capazes de assimilar ou incorporar o colesterol à sua membrana celular, tornando sua absorção indisponível do intestino para a corrente sanguínea (SUN; BUYS, 2015). Podem ainda melhorar a saúde mental através do aumento da disponibilidade de triptofano, precursor da serotonina (neurotransmissor responsável pela sensação de prazer e bem-estar) e pela inibição de citocinas pró-inflamatórias. Também são indicadas como adjuvantes para o tratamento psiquiátrico de ansiedade e depressão (MOHAMMADI et al., 2016).

2.6 Viabilidade de probióticos em bebida láctea

Diversos fatores podem influenciar a viabilidade dos probióticos nos alimentos durante a produção, processamento e armazenamento, tais como características da matriz alimentar onde foi adicionado (pH, acidez titulável, oxigênio molecular, atividade de água, presença de sal, açúcar e produtos químicos como peróxido de hidrogênio, bacteriocinas, aromatizante artificial e corantes), parâmetros de processamento (tratamento térmico, temperatura de incubação, materiais de embalagem, e condições de armazenamento) e parâmetros microbiológicos (cepas de probióticos, taxa e proporção de inoculação) (TRIPATHI; GIRI 2014). Geralmente as cepas probióticas utilizadas na obtenção de produtos lácteos multiplicam-se lentamente no leite, pois apresentam atividade proteolítica reduzida, podendo estender o tempo de fermentação. Assim, é prática comum o uso de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* associados a essas culturas visando acelerar o processo de fermentação (SÜLE et al., 2014).

Bebida láctea fermentada é definida como “o produto resultante da mistura de leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, desnatado, semidesnatado e/ou parcialmente desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e/ou em pó), fermentado mediante a ação de micro-organismos específicos e/ou de leite (s) fermentado(s), adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal e outros produtos lácteos, onde a base láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes. Tais produtos não podem ser submetidos ao tratamento térmico após o processo de fermentação e a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10^6 UFC g⁻¹ durante todo o prazo de validade do produto” (BRASIL, 2005).

A bebida láctea fermentada caracteriza-se como uma fonte nutricional importante devido à presença de proteínas, minerais e vitaminas presentes tanto no soro, quanto no leite. Além disto, a cultura láctica utilizada no processo fermentativo, melhora a digestão e auxilia na defesa contra bactérias patogênicas no intestino (GOMES et al., 2013). Essas bebidas vem assumindo uma posição de destaque no mercado mundial de laticínios em virtude do baixo custo de produção e preços acessíveis (SILVEIRA et al., 2015). Ademais, existe um aumento da demanda por bebidas lácteas probióticas e a viabilidade dessas culturas tem sido investigada (SHORI, 2016).

O potencial comercial de bebida láctea probiótica de soro de queijo com e sem a adição de polpa de açaí foi avaliada por Zoellner et al. (2009), que verificaram que a formulação sem a adição da polpa mostrou redução de um ciclo log (10^6 - 10^5 UFC mL⁻¹) na contagem do *Lactobacillus acidophilus* LA-14 após 21 dias de armazenamento, enquanto a bebida com adição de polpa apresentou contagens significativamente mais elevadas (10^7 - 10^8 UFC mL⁻¹) para a mesma cepa, sugerindo a influência da polpa na viabilidade da cultura probiótica. Já na avaliação de bebidas lácteas caprinas fermentadas com cultura tradicional (*Streptococcus thermophilus* T-40) e probiótica adicionadas de polpa de goiaba e polpa de graviola com e sem galactomanana hidrolisada a partir de sementes de *Caesalpinia pulcherrima* (PHGM), Buriti et al. (2014) constataram que a utilização da polpa adicionada ou não de PHGM não influenciou significativamente na viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32, que manteve valores variando de 7,99 – 8,18 log UFC mL⁻¹ durante 21 dias de armazenamento.

Em pesquisa conduzida por Castro et al. (2013), referente ao desenvolvimento de seis diferentes formulações de bebidas lácteas saborizadas com preparado de morango, variando

apenas a concentração de soro de leite (0, 20, 35, 50, 65 e 80%), os autores verificaram que esse ingrediente não interferiu na viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* LA-14, enquanto Ramos et al. (2013) desenvolveram formulações de bebida láctea saborizada com polpa de cajá, fermentada com cultura *starter* e probiótica e observaram viabilidade para *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Streptococcus thermophilus* com valores variando entre 11,6 a 10,2 log UFC mL⁻¹ e 8,9 a 11 log UFC mL⁻¹, respectivamente, durante 28 dias de armazenamento.

Em investigação sobre o comportamento da cultura probiótica utilizada em bebida láctea com adição de extrato hidrossolúvel de soja, Fiorentini et al. (2011) verificaram uma redução do *Lactobacillus acidophilus* LA-5 de 7,65 para 6,23 log UFC mL⁻¹ de durante 28 dias de armazenamento. Já Andrade et al. (2019) avaliando diferentes formulações de bebida láctea com adição de polpa de mamão e laranja utilizando a mesma cepa probiótica, relataram redução na contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5 de 8,12 para 7,88 log UFC mL⁻¹ na primeira semana de armazenamento.

Estudo relativo ao desenvolvimento de bebida láctea não fermentada com cacau em pó utilizando culturas probióticas liderado por Taheri et al. (2019), confirmaram que o *L. paracasei* (*L.casei* 431) e *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC53103) apresentaram redução significativa nas populações celulares durante sete dias de armazenamento, todavia, as contagens viáveis de ambas mantiveram-se acima de 6,00 log UFC mL⁻¹.

Verifica-se, assim, que a manutenção da cultura probiótica em bebida láctea é bastante variável e a maioria dos estudos relacionados ao desenvolvimento desse tipo de produto não abordam a utilização do *L. paracasei* na forma isolada ou associada a outras culturas probióticas, tradicionais e/ou prebióticos na elaboração de bebida láctea fermentada. Trabalhos referentes ao desenvolvimento de bebida láctea caprina isenta de lactose saborizada com frutos tropicais, utilizando esta cultura até o momento também não foram relatados.

2.6.1 *Lacticaseibacillus paracasei*

O gênero *Lactobacillus* constitui o maior grupo entre as bactérias lácticas (LAB) e provavelmente é o mais utilizado como probiótico em uma variedade de alimentos, incluindo produtos lácteos fermentados (GUEIMONDE et al., 2013). *L. paracasei* pertence à família homofermentativa de bactérias lácticas que convertem quase quantitativamente glicose em ácido láctico. O grupo dessa cepa probiótica compreende também as espécies *L. casei* e *L. rhamnosus* (DI CERBO; PALMIERI, 2013). São bactérias Gram-positivas, não formadoras de esporos, habitantes comuns do trato intestinal humano. Naturalmente são encontradas em

produtos alimentícios variados, sendo utilizadas principalmente na produção de leites e queijos fermentados (BALZARETTI et al., 2017).

Produtos fermentados a partir de *L. paracasei*, apresentam diversos efeitos benéficos para uma variedade de patologias, atuando na prevenção de infecções, lesões na mucosa gástrica, alívio de alergias, redução no acúmulo de gordura, apresentam efeito hipocolesterolêmico, anti-hipertensivo e contra a osteoporose (LIN et al., 2017), propriedades antimutagênicas, antioxidantes e anticancerígenas também foram relatadas (PIMENTEL et al., 2015). Lee et al. (2017) examinaram o impacto do consumo de iogurte com cepas de *L. paracasei* (LC431) por 12 semanas na função imunológica de um grupo de idosos e constataram efeitos imunoestimuladores, sugerindo o consumo diário do produto, enquanto Nocerino et al. (2017) avaliaram por 3 meses, os efeitos da suplementação com leite fermentado por *L. paracasei* (CBA L74) para um grupo de crianças na faixa etária entre 12 a 14 meses e confirmaram a eficácia do suplemento probiótico na redução da incidência de doenças respiratórias e do trato gastrointestinal. Pedersen et al. (2011) também confirmaram os efeitos clínicos associados ao consumo de iogurte com *L. paracasei* (F19) em pacientes com síndrome do intestino irritável (SII) por 8 semanas.

O consumo de leite fermentado por *L. paracasei* (NCC2461) foi avaliado por Perrin et al. (2014), que relataram sua eficácia em comparação ao consumo de leite fermentado por *Lactobacillus acidophilus* (ATCC SD5221) e *Bifidobacterium lactis* (ATCC SD5219) em pacientes com rinite alérgica tratados por quatro semanas. Já Pu et al. (2017) avaliaram os efeitos clínicos do consumo de iogurte suplementado com uma cepa de *L. paracasei* (N1115) isolada contra a infecção aguda do trato respiratório de idosos e pessoas de meia-idade, e confirmaram seus efeitos benéficos.

A redução do colesterol total e das concentrações do colesterol LDL foram confirmadas por Trautvetter et al. (2012) em um grupo de adultos moderadamente hipercolesterolêmicos, após o consumo de iogurte contendo *L. paracasei* (LPC37) por quatro semanas.

Outras pesquisas realizadas comprovaram ainda os efeitos clínicos associados ao consumo de leites fermentados com cepas de *L. paracasei* a curto e longo prazo na saúde bucal, combatendo micro-organismos responsáveis pelas lesões e cárie dentária (RITTHAGOL et al., 2014; TEANPAISAN; PIWAT, 2014; TEANPAISAN et al., 2015).

Além dos benefícios relacionados à prevenção e ao tratamento de doenças, a adição de *L. paracasei* tem sido referenciada pela capacidade de produzir exopolissacarídeos (EPS), que

podem atuar como agentes espessantes, estabilizantes, emulsificantes e gelificantes, melhorando a estabilidade e a textura de produtos lácteos fermentados (PIMENTEL et al., 2012). Baseados nisto, Lazaridou et al. (2014) avaliaram a estrutura e cinética de um leite fermentado com adição de *L. paracasei* (B117), e observaram que a inclusão da cepa probiótica no iogurte conjuntamente com a cultura iniciadora aumentou a taxa de gelificação das proteínas, sem alterar a resistência do gel do produto final.

O desenvolvimento de iogurtes com a adição da cultura tradicional associada ao *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356), *Lactobacillus casei* (ATCC 393) e *L. paracasei* (ATCC BAA52) fortificados com pó da casca de abacaxi foi relatado por Sah et al. (2016), que avaliaram as propriedades físico-químicas e reológicas durante 28 dias, relatando resultados satisfatórios, atribuídos especialmente à adição do pó, sobretudo, com relação à redução do tempo de fermentação, contudo, a viabilidade das culturas utilizadas no início e/ou durante o armazenamento refrigerado não foi investigada.

Diferentes formulações de iogurte fermentado com *L. paracasei* (*L. casei* 01) foram avaliadas por Pimentel et al. (2012), que observaram que a adição do probiótico melhorou a textura, sinerese e capacidade de retenção de água do produto, mantendo a viabilidade do probiótico durante 28 dias de armazenamento, com contagens em torno de 8 log UFC mL⁻¹ compatível com a cultura iniciadora do iogurte.

Outros estudos abordam ainda, a utilização com êxito de *L. paracasei* em produtos lácteos como queijo Coalho (BEZERRA et al., 2016), queijo Cheddar (DESFOSSÉS-FOUCAULT et al., 2014), queijo Muçarela (ORTAKCI et al., 2012), sobremesa a base de leite (VALENCIA et al. 2016) e em produtos não lácteos e não fermentados como suco de maçã (PIMENTEL et al., 2015), e mais recentemente, em sucos de laranja (COSTA et al., 2017). Porém, sua utilização até o momento não foi reportada em bebida láctea caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo.

2.7 Jambo vermelho - *Syzygium malaccensis*

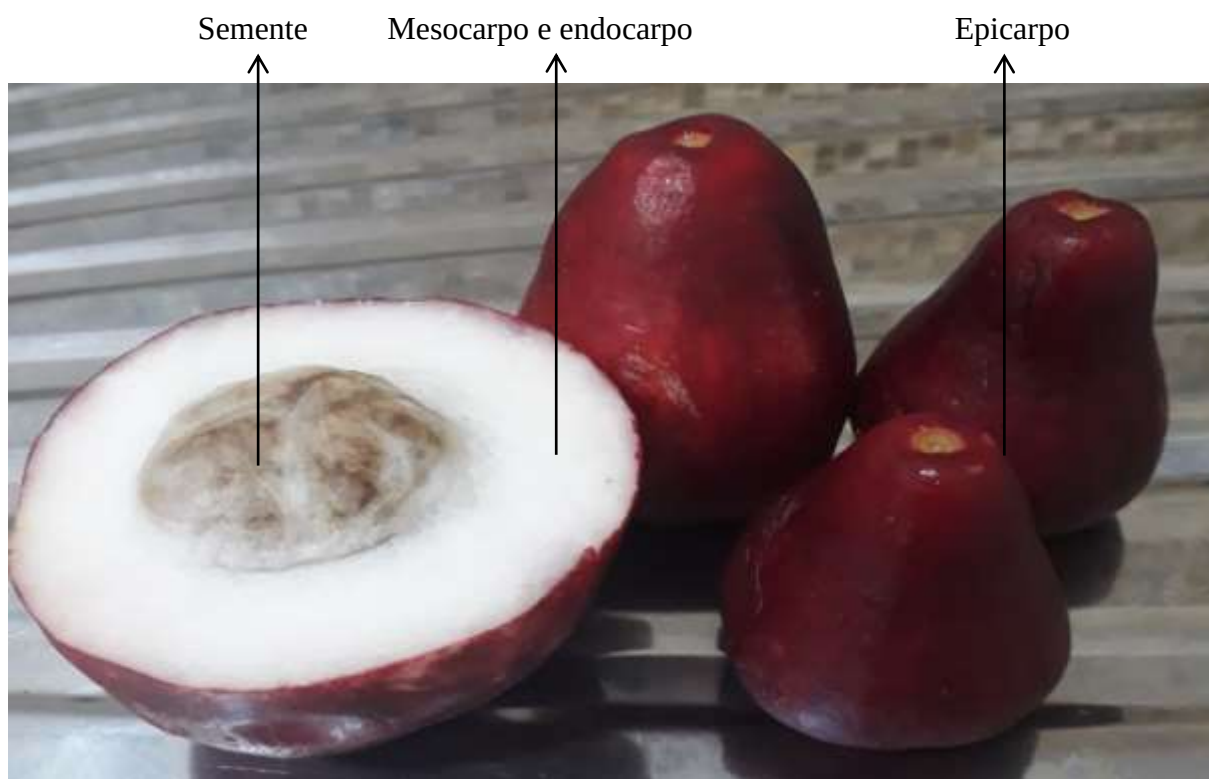
O gênero *Syzygium* é composto por 500 espécies distribuídas principalmente no continente americano. O jambeiro vermelho (*Syzygium malaccensis*) é uma frutadeira nativa da Índia e Malásia, pertencente à família Myrtaceae, da qual, diferentes partes da planta são utilizadas para consumo e fins medicinais (LI et al., 2015). Em virtude da facilidade de

cultivo e condições climáticas favoráveis, vem atingindo uma expansão significativa no Brasil, principalmente nas regiões Sudeste, Norte e Nordeste (NUNES et al., 2016).

O início do período de frutificação do jambeiro varia de cinco a seis anos quando propagado por sementes e de três a quatro anos quando propagado vegetativamente (ALMEIDA et al., 2010). Podendo atingir entre 12 e 15 m de altura, apresenta tronco reto e copa densa, com forma piramidal e ramificação abundante, entre o período de agosto a fevereiro o jambeiro recobre-se de flores vermelhas caracterizando seu aspecto ornamental e a safra ocorre de janeiro a maio (OLIVEIRA et al., 2010).

Os frutos (Figura 1) são piriformes e carnosos, sendo o epicarpo liso e de coloração variando de rosa a vermelho escuro, de acordo com o estágio de maturação e/ou colheita. O mesocarpo e o endocarpo são esbranquiçados, suculentos e correspondem à polpa, além disto, os frutos são constituídos por uma única semente (BATISTA et al., 2016). Pesam em média, 36 g, com massa da polpa de 28 g, e apresentam 7,0 cm de comprimento e 5,0 cm de largura (AUGUSTA et al., 2010).

Figura 1- Jambo vermelho.



Fonte: Arquivo pessoal

A composição dos frutos sofre variações em função das condições climáticas, tipo de solo, estágio fisiológico de maturação, dentre outros fatores. Mesmo com estas variações, estudos referentes à caracterização do jambo vermelho das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil realizadas por Batista et al. (2016) e Nunes et al. (2016) reportaram quantidades de antocianinas 12,90 e 12.179,49 mg cianidina 3 - glicosídeo 100g⁻¹, de compostos fenólicos totais de 14,81 e 146,62 mg EAG 100 g⁻¹, e atividade antioxidante de 674,75 g L⁻¹ e 25,92 µmol TE g⁻¹, respectivamente. A maioria dos compostos bioativos e da capacidade antioxidante desse fruto concentra-se na casca (VUOLO et al., 2019).

Os compostos bioativos identificados até o momento no jambo vermelho foram antocianinas (cianidina 3,5-diglicosídeo, cianidina 3-glicosídeo, peonidina 3-glicosídeo), seguido de epicatequina, catequina, procianidina A2, B1 e B2, alguns ácidos (benzoico e p-cumárico) e flavonóis (rutina, quercetina e isoquercitrina), dentre os quais, a cianidina 3 - glicosídeo é o composto majoritário presente (GIBBERT et al., 2017; BATISTA et al., 2020). Já os componentes voláteis encontrados, responsáveis pelo aroma dos frutos foram: álcool isobutil, hexanal, álcool butil, 3-butanol, hexan-i-ol, cis-linalool óxido, trans-linalool óxido, linalool, geranil, benzil álcool, 2-fenil-etil-álcool, cinamaldeído, 3-fenil-1-propanol e cinnamilálcool (AUGUSTA, 2010).

A polpa do jambo vermelho foi caracterizada como um produto ácido (pH 3,16) de umidade elevada (91,6%) com teores consideráveis de fibras (3,9 g 100g⁻¹) e de carboidratos (28, 21 g 100g⁻¹), com valores de 7,1, 4,3 e 2,8 g 100 g⁻¹ de açúcares totais, redutores e não redutores, respectivamente e teores de 0,73 g 100g⁻¹ de proteínas; 0,36 g 100g⁻¹ de cinzas e 0,09 g 100g⁻¹ de lipídeos (ALMEIDA, 2011). Teores elevados de vitamina A (400 UI), retinol (25 mg 100g⁻¹), cálcio (26 a 29 mg 100g⁻¹), fósforo (13 a 37 mg 100g⁻¹) e de ácido ascórbico (34, 26 a 69 mg 100g⁻¹) também foram destacados (NUNES, 2015). Além destes compostos, os frutos do jambeiro destacam-se pela coloração atrativa, sabor e aroma exóticos, sendo indicados, sobretudo como fonte potencial para produção de corante e antioxidante natural (AUGUSTA et al., 2010). O fruto apresenta ainda características adequadas para industrialização na forma de polpa congelada. No entanto, nas regiões produtoras, é utilizado apenas para consumo direto, o que promove um grande desperdício na época da safra, em virtude da elevada produção e reduzida vida útil dos frutos e da escassez de informações relacionadas à viabilidade tecnológica para sua industrialização (AUGUSTA et al., 2013).

É possível encontrar ainda, trabalhos que abordam o consumo do jambo vermelho além da forma *in natura*, na elaboração de produtos com características artesanais, tais como

néctares, xaropes, sucos, purês e geléias (SANTOS et al., 2016). No entanto, pesquisas pertinentes ao aproveitamento dos frutos na forma de polpa e sua aplicação na formulação de produtos lácteos, tais como bebidas lácteas, ainda não foram relatadas até o momento, instigando pesquisas com esta finalidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em três diferentes etapas conforme descrito a seguir.

1ª ETAPA: O leite caprino com lactose hidrolisada foi obtido e submetido às análises microbiológicas e físico-químicas. Também nesta etapa, o soro de leite caprino foi obtido a partir da fabricação de queijo de coalho e a lactose desse subproduto foi removida.

2ª ETAPA: As polpas de jambo vermelho foram obtidas e submetidas aos métodos de congelamento e liofilização e em seguida, caracterizadas através de análises microbiológicas e físico-químicas.

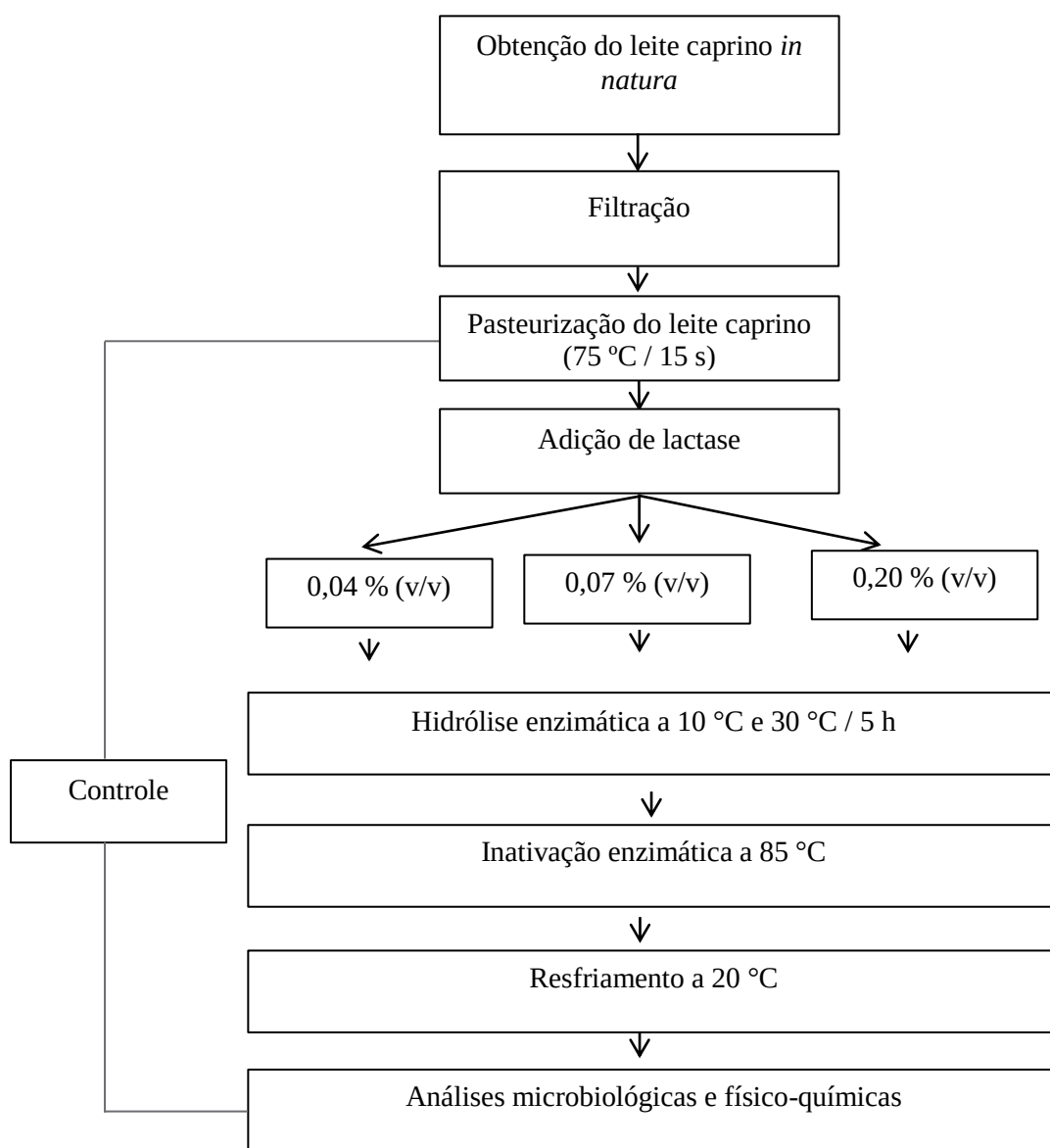
3ª ETAPA: As formulações de bebida láctea probiótica, com exceção da amostra controle (F0), foram elaboradas variando-se a concentração de leite caprino isento de lactose e polpa de jambo vermelho congelada (F1, F2 e F3) e liofilizada (F4, F5 e F6). Posteriormente, as bebidas foram submetidas às análises microbiológicas, físico-químicas e sensoriais em diferentes intervalos de tempo (1,7,14, 21 e 28 dias).

1ª ETAPA

3.1 Obtenção do leite caprino

O leite caprino *in natura* foi adquirido no setor de caprinocultura da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (EAJ/UFRN), localizada no município de Macaíba, região metropolitana de Natal-RN. Em seguida, foi transportado para o Laboratório de Processamento de Laticínios da mesma unidade, onde foi homogeneizado com espátula de polipropileno, filtrado em tela de nylon (18 × 29 × 16 cm), pasteurizado a 75 °C/15 s e resfriado até duas diferentes temperaturas, 10 e 30 °C, e dividido em porções de 400 mL que foram adicionadas de 0 (controle); 0,04%; 0,07% e 0,20% (v/v) de bet-galactosidase, proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis*, com atividade de lactase de 50. 000 ONPGUg⁻¹ (Prozyn, São Paulo, Brasil), conforme etapas apresentadas na Figura 1.

Figura 2 – Fluxograma de obtenção do leite caprino com lactose hidrolisada

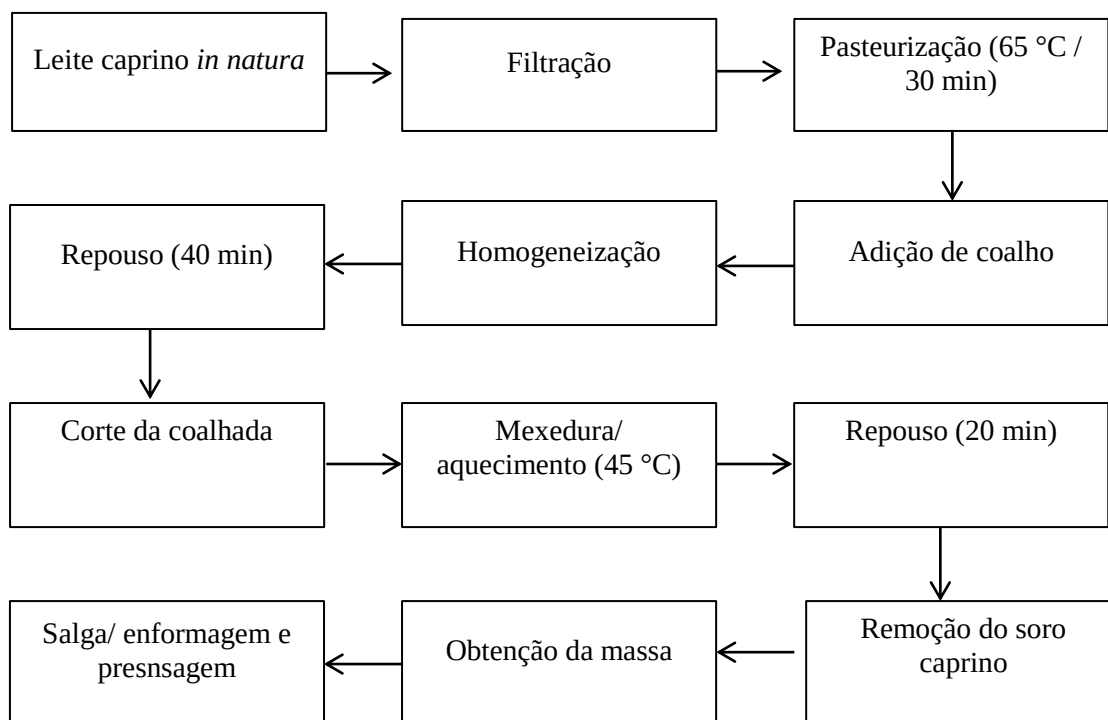


As porções de leite caprino adicionadas de lactase (Figura 1) foram armazenadas em estufa por cinco horas, nas mesmas temperaturas e, em intervalos de uma hora, amostras representativas de 400 mL foram retiradas e submetidas ao tratamento térmico a 85 °C, para inativação enzimática e imediatamente resfriadas a 20 °C.

3.1.2 Produção do queijo de coalho caprino e obtenção do soro

O queijo de coalho caprino também foi produzido com o leite caprino *in natura* obtido na mesma unidade (EAJ-UFRN). Para tanto, conforme descrito na Figura 2, o leite caprino *in natura* foi filtrado em tela de nylon (18 × 29 × 16 cm), pasteurizado (65 °C / 30 min), resfriado a 37 °C e adicionado da enzima coagulante (quimosina de origem animal) (Naturen, Valinhos, São Paulo, Brasil) seguindo-se a recomendação do fabricante. O leite caprino adicionado da quimosina foi então homogeneizado e permaneceu em repouso por 40 min. Em seguida, procedeu-se o corte da coalhada e as etapas de mexedura sobre aquecimento a 45 °C, seguida de repouso (20 min) para auxiliar na remoção do soro, que foi imediatamente retirado e a massa obtida, adicionada de 0,8% de cloreto de sódio e transferida para formas apropriadas para queijo de coalho, sendo posteriormente prensadas.

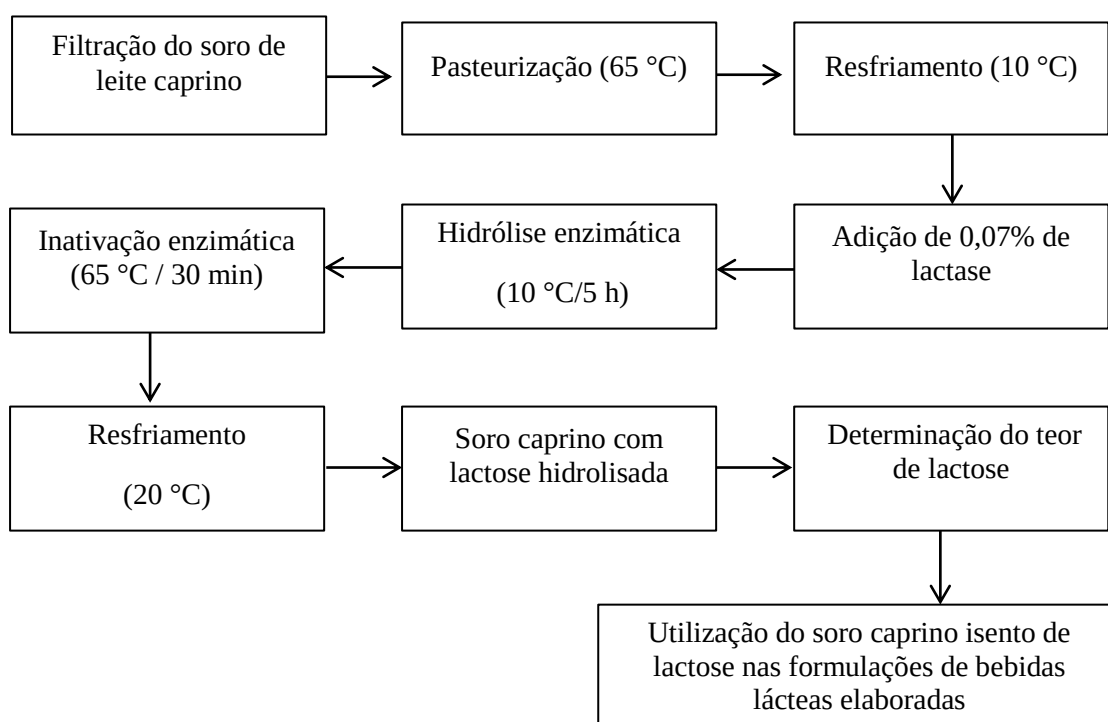
Figura 3 – Fluxograma de obtenção do queijo de coalho



As melhores condições empregadas para obtenção do leite caprino isento de lactose (0,07% de lactase e incubação a 10 °C/5 h) foi utilizada para a obtenção do soro caprino com lactose hidrolisada, conforme descrito no Fluxograma 3 a seguir. Inicialmente o soro de leite

caprino obtido durante a produção do queijo de coalho foi filtrado em tela de nylon ($18 \times 29 \times 16$ cm), pasteurizado a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, resfriado a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ e adicionado de 0,07% de lactase. Em seguida, o soro caprino com a lactase adicionada foi incubado nas mesmas condições de temperatura ($10\text{ }^{\circ}\text{C}$) por 5 h. Transcorrido esse tempo, a lactase foi inativada ($65\text{ }^{\circ}\text{C} / 30\text{ min}$) e o soro caprino com lactose hidrolisada foi resfriado, a lactose determinada e atestada sua ausência, o soro isento de lactose obtido foi utilizado nas formulações de bebidas lácteas caprinas probióticas com adição de polpa de jambo.

Figura 4– Fluxograma de obtenção do soro de leite caprino com lactose hidrolisada



Determinação da lactose

A lactose do leite caprino e soro caprino adicionado de beta-galactosidase foi determinada após o período de 5 h de hidrólise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), conforme método proposto por Burgner e Feinhberg (1992). Foi utilizado um cromatógrafo líquido marca Agilent Technologies (Infinity 1260, EUA) com amostrador automático (injeção de $20\text{ }\mu\text{L}$), sistema quaternário de solventes, forno de coluna e detector ELSD. As condições cromatográficas foram: coluna Zorbax Carboidrato ($4,6\text{ mm ID} \times 250$

mm) 5 µm; temperatura da coluna 30 °C; fase móvel acetonitrila:água (80 : 20) com fluxo de 1,1 mL / min; volume de injeção 20 µL; temperatura de nebulização: 50 °C; temperatura de evaporação: 80° C.

3.1.3 Análises microbiológicas do leite caprino com lactose hidrolisada

As amostras de leite caprino pasteurizado (controle) e adicionadas de lactase, acondicionadas a 10 °C e 30 °C pelo período de cinco horas, foram submetidas às análises indicadas pela legislação para leite caprino pasteurizado (coliformes a 30 / 35 °C mL⁻¹ e termotolerantes, *Salmonella* spp 25 mL⁻¹ e microrganismos aeróbios mesófilos (UFC mL⁻¹) (BRASIL, 2018). As análises foram realizadas segundo metodologia descrita pela American Public Health Association (APHA, 2001), conforme descrito a seguir.

Coliformes totais e termotolerantes

Para as análises de coliformes totais e termotolerantes, alíquotas de 25 mL do leite caprino com lactose hidrolisada e/ou controle foram diluídas em 225 mL de água peptonada tamponada, realizando-se posteriormente duas diluições seriadas (10⁻² e 10⁻³). Com o auxílio de uma pipeta, inoculou-se um 1 mL de cada diluição em uma série de nove tubos contendo uma solução de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) com tubos de *Durham* invertidos. Após incubação a 35 °C por 48 h, verificou-se se houve a turvação do meio ou a produção de gás, uma vez positivo, semeou-se uma alçada do caldo presente em tubos contendo Caldo Verde Brilhante 35°C por 48 h para a confirmação de coliformes totais e em tubos contendo caldo *E. Coli* (EC) incubados a 45 °C por 48 h para determinação de coliformes termotolerantes (APHA, 2001).

Microrganismos aeróbios mesófilos

Alíquotas de 25 mL do leite caprino com lactose hidrolisada e/ou da amostra controle foram diluídas em 225 mL de água peptonada e em seguida as diluições seriadas (10⁻² e 10⁻³) foram realizadas. Posteriormente, 1 mL das respectivas diluições foram inoculados em placas estéreis, seguido da adição de Agar Padrão para Contagem (PCA) previamente fundido e

resfriado a 45°C. As placas foram incubadas a 36±1 °C por 48 h. Após esse período, realizou-se a contagem do número de unidades formadoras de colônias (APHA, 2001).

***Salmonella* spp.**

Para execução dessa análise, alíquotas representativas de 25 mL do leite caprino com lactose hidrolisada e/ou controle foram diluídas em 225 mL de caldo lactosado, seguido de incubação por 20 h a 35 °C. Em seguida, volumes de 1 mL dessa diluição foram transferidos para dois diferentes meios de enriquecimento, caldo selenito cistina (SC) e caldo tetrationsato (TT), e incubados por 24 h a 43 °C. Após este procedimento, realizou-se o plaqueamento em meio de cultura Ágar Verde Brilhante (VB) e Ágar Salmonela diferencial (SD), durante 24 h a 35 °C. Por fim, verificou-se a formação de colônias típicas de *Salmonella* para posterior confirmação através de provas bioquímicas em meios Ágar Lisina Ferro (LIA) e Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) (APHA, 2001).

3.1.4 Análises físico-químicas do leite caprino com lactose hidrolisada

Alíquotas representativas de 400 mL do leite com lactose hidrolisada foram analisadas em intervalos de uma hora, quanto ao pH (AOAC 947.05), pela leitura direta das amostras em potenciômetro digital modelo Q400AS (Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil), previamente calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0) e a acidez titulável (AOAC 920.124) (AOAC, 2000) foi determinada titulando-se 10 mL das amostras com solução de hidróxido de sódio 0,1 N padronizada, utilizando-se a fenolftaleína 1,0% como indicador, até o ponto de viragem. A crioscopia foi avaliada transferindo-se 2,5 mL das amostras para a célula de medição do crioscópio eletrônico digital (Modelo MK 540 Flex, Brasil) e o grau de hidrólise, determinado por meio de cálculo estequiométrico, conforme metodologia utilizada por Moreira et al. (2009).

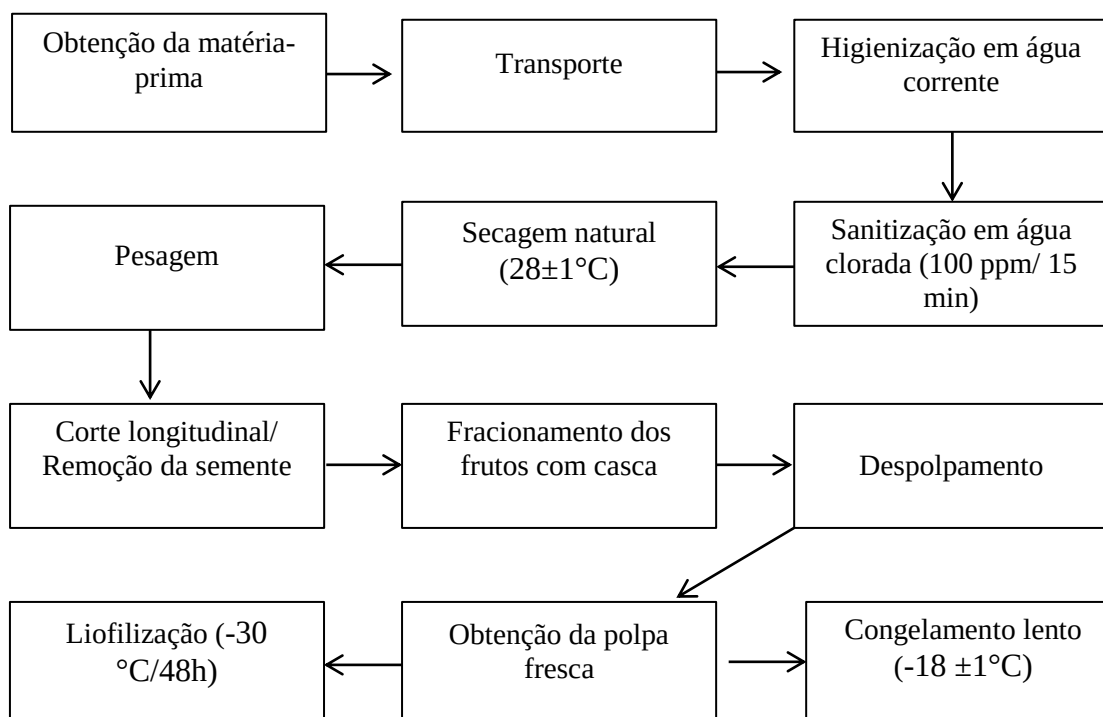
Após cinco horas de hidrólise, os parâmetros densidade relativa, proteínas, caseína, gordura, extrato seco total e desengordurado foram avaliados pelo método espectroscópico no infravermelho, utilizando-se o equipamento Bentley 2000 (DairySpec FT, EUA). Para tanto, 40 mL do leite caprino com lactose hidrolisada foi transferido para a cubeta e introduzido no equipamento. O leite caprino pasteurizado sem adição da lactase (controle) foi submetido às mesmas análises.

2ª ETAPA

3.2 Obtenção do jambo vermelho e das polpas

Os frutos foram colhidos manualmente em estágio fisiológico de maturação completo (considerando a coloração da casca vermelha intensa), na safra de fevereiro de 2017, em jambeiros vermelhos, diretamente no campo da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (EAJ/UFRN). Em seguida, os frutos acondicionados em contentores de plástico foram transportados para a Unidade de Frutas e Hortaliças da EAJ/UFRN, onde foram higienizados em água corrente, sanitizados em água clorada a 100 ppm por 15 min, secos a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, e pesados, conforme etapas descritas na Figura 4. Posteriormente, cerca de 42,5 kg de frutos sofreram corte longitudinal para remoção da semente, foram fracionados com casca (forma aproximada de retângulos de aproximadamente 4,5 cm) e despulpados em despulpadeira de frutas semi-industrial Modelo 0,25 dF (Itametal, Itabuna, Bahia, Brasil) com peneira de 1,5 mm de diâmetro. A polpa obtida (30,0 kg) foi pesada, dividida em duas porções, uma sendo encaminhada para liofilização, e outra acondicionada em embalagens de *nylon*-polietileno de 150 g e submetida ao congelamento lento em freezer horizontal (Eletrolux, São Paulo, Brasil) a $-18 \pm 1^\circ\text{C}$.

Figura 5 – Fluxograma de obtenção da polpa de jambo congelada e liofilizada



A polpa liofilizada foi obtida dispondo-se 100 g da polpa de jambo fresca em bandejas de aço em inox de 18 cm e acondicionando a -18 °C/48 h. Após congelamento, as bandejas foram transferidas para o liofilizador modelo LT 1500 (Terroni, São Carlos, São Paulo, Brasil), em sala isolada e condições controladas (ambiente refrigerado a 16°C na ausência da luz). As condições de operação do processo foram: temperatura de -30 °C por tempo de 48 h, velocidade constante de 1mm/h, vácuo variando de 80 µHg até 200 µHg. Os pós obtidos foram acondicionados em embalagens de *nylon*-polietileno, selados a vácuo, e em seguida acondicionados em embalagens metalizadas, onde foram armazenados em temperatura ambiente (28 ±1 °C) ao abrigo da luz, para análises posteriores.

3.2.1 Análises microbiológicas das polpas de jambo

As polpas foram submetidas às análises em triplicata de coliformes totais, termotolerantes, bolores e leveduras e de *Salmonella* sp (APHA, 2001), conforme descrito a seguir.

Coliformes totais, termotolerantes e *Salmonella* sp.

As análises de coliformes totais, termotolerantes e de *Salmonella* sp foram realizadas conforme descrito no item 3.1.3.

Determinação de bolores e leveduras

Foi realizada através da técnica de plaqueamento em superfície utilizando-se como inóculo 0,1 mL das diluições decimais e como meio de contagem o ágar Batata Dextrose (PDA) incubado a 25 ± 1 °C por 72 h. Após o término do período de incubação, verificou-se a formação de unidades formadoras de colônias, e realizou-se a contagem (APHA, 2001).

3.2.2 Análises físico-químicas da polpa de jambo

As polpas foram submetidas às análises de acidez titulável (AOAC 942.15), pH (AOAC 947.05), sólidos solúveis totais (AOAC 932.12), açúcares redutores (AOAC 923.09), umidade (AOAC 934.06), cinzas (AOAC 940.26), teores de lipídeos (AOAC 920.39), proteínas (AOAC 960.52) e de ácido ascórbico (AOAC 967.21) (AOAC, 2000). A análise de atividade de água foi realizada em medidor AQUALAB modelo CX2 (Decagon Devices, Washington, EUA) segundo as recomendações do fabricante. Análises de solubilidade (CANO-CHAUCA et al., 2005) e higroscopicidade (LÓPEZ-CÓRDOBA et al., 2014) foram realizadas apenas na polpa liofilizada.

As análises de compostos fenólicos totais (OBANDA et al., 1997), flavonoides amarelos (FRANCIS, 1982) e antocianinas monoméricas totais (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) foram realizadas após a obtenção dos extratos com diferentes tipos de solventes: água destilada, metanol e etanol PA (Neon, São Paulo, Brasil) e ácido clorídrico PA (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil), enquanto a atividade antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) foi realizada apenas nos extratos hidroetanólicos e as análises de carotenoides totais foram realizadas após extração com acetona PA (Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil) (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Acidez titulável

A acidez titulável foi determinada pela diluição de 1,0 g da polpa congelada e/ou liofilizada em 50 mL de água destilada titulando-se a amostra com solução de hidróxido de sódio 0,1 N padronizada, utilizando-se a fenolftaleína 1,0% como indicador. A titulação foi interrompida quando o pH atingiu 8,3. Os resultados foram expressos em mg ácido cítrico 100g^{-1} (AOAC, 2000).

pH

O potencial hidrogeniônico (pH) foi mensurado em potenciômetro digital modelo Q400AS (Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil), previamente calibrado com soluções tampão (pH 4,0 e 7,0), após diluição de 1,0 g da polpa liofilizada em 10 mL de água destilada. Para a polpa congelada, a leitura foi realizada diretamente na amostra, sem realizar diluição (AOAC, 2000).

Sólidos Solúveis Totais

Para execução desta análise, 1,0 g de polpa liofilizada foi diluída em 10 mL de água destilada. Após homogeneização, uma alíquota foi transferida para o prisma do refratômetro manual portátil, previamente calibrado com água destilada. A leitura das amostras foi realizada na escala do aparelho e corrigidas para a temperatura de 20°C, com auxílio de uma Tabela de conversão. Os conteúdos de sólidos solúveis totais foram expressos em °Brix. Na polpa congelada, a leitura foi realizada diretamente no refratômetro, sem a necessidade de diluição (AOAC, 2000).

Açúcares redutores

Foram determinados pelo método de Fehling, após diluição de 10g da polpa congelada e 1,0g da polpa liofilizada em 100 mL de água destilada. Os resultados foram expressos em mg de açúcares redutores 100g⁻¹ de amostra (AOAC, 2000).

Ácido ascórbico

A determinação do ácido ascórbico foi realizada após diluição de 5,0g da polpa congelada e 1,0g da polpa liofilizada em 50 mL de ácido oxálico a 2% e titulação com solução de DCFI (2,6 dicloro-fenol-indofenol 0,02%) (AOAC, 2000).

Umidade

A determinação da umidade foi realizada pelo método gravimétrico, após pesagem de 5,0 e 1,0 g da polpa congelada e liofilizada respectivamente, e secagem em estufa Modelo Q317M (Quimis, São Paulo, Brasil) a 70°C por 6h (AOAC, 2000).

Cinzas

Os teores de cinzas foram determinados a 550°C por 8h em forno de mufla (Quimis, São Paulo, Brasil). Para tanto foram utilizados 5,0g da polpa congelada e 1,0g da polpa liofilizada (AOAC, 2000).

Atividade de água (aw)

A análise de atividade de água das polpas foi realizada em medidor AQUALAB modelo CX2 (Decagon Devices, Washington, EUA) segundo as recomendações do fabricante.

Lipídeos

Os lipídeos foram determinados pelo método de Bligh e Dyer, utilizando-se 2,5g da polpa liofilizada e congelada respectivamente (AOAC, 2000).

Proteínas

O teor proteico foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando-se 2,5g da polpa liofilizada e congelada respectivamente (AOAC, 2000).

Solubilidade

A solubilidade da polpa liofilizada foi determinada conforme metodologia descrita por Cano-Chauca et al. (2005). O método consistiu em dissolver 1,0 g da amostra em 100 mL de água destilada sobre agitação de 2500 rpm em agitador magnético por 5 min. Em

seguida, a solução foi transferida para um tubo *Falcon* e centrifugada a 3000 rpm por 5 min. Uma alíquota do sobrenadante (25 mL) foi transferida para um cadinho de porcelana, previamente pesado e em seguida, submetido à secagem em estufa a 105°C por 6h. O percentual de solubilidade foi calculado a partir da diferença entre o peso final e o inicial do material no cadinho, conforme a Equação 1:

$$\text{Solubilidade (\%)} = [(D-B) \cdot (100+A)] \cdot 100 / [(C-B) \cdot A] \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

A = massa da polpa liofilizada (g); B = massa do cadinho vazio (g); C = massa do cadinho + amostra (g) e D = massa do cadinho + amostra depois da secagem (g).

Higroscopicidade

A higroscopicidade foi determinada através da metodologia de López-Córdoba et al. (2014). Para tanto, utilizou-se uma célula higroscópica, constituída por uma solução de NaCl a 40% disposta em uma placa de Petri 150 x 20 mm em dessecador (em substituição a sílica, previamente retirada), para promover uma umidade relativa de cerca de 72%. Em seguida, 1,0 g da polpa liofilizada foi pesada e espalhada uniformemente sobre placas de Petri de 60 x 15 mm. As amostras nas respectivas placas foram transferidas para o dessecador, onde permaneceram sobre a célula higroscópica pelo período de 90 min. Em seguida, elas foram pesadas e a higroscopicidade determinada de acordo com a Equação 2:

$$\text{Higroscopicidade (\%)} = (f+H) \cdot 100 / (i-H) \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

f = Umidade absorvida (Peso da placa + peso da amostra final – Peso da placa + peso da amostra inicial) (g)

i = peso inicial da amostra (g);

H = Umidade em base seca da polpa liofilizada (g).

Obtenção dos extratos

A determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos e de antocianinas monoméricas totais foi realizada com base em testes preliminares, empregando-se 5,0 g e 1,5 g, respectivamente da polpa de jambo congelada e liofilizada, macerando-as com 25 mL dos diferentes tipos de solventes: água destilada; metanol e etanol (99,9% v/v); etanol/HCl; metanol/HCl e água destilada/HCl (85:15 v/v) (FRANCIS, 1982), metanol/água destilada e etanol/água destilada (70:30 v/v) (BORGES et al., 2011). Após maceração, as amostras foram transferidas para balões de 50 mL, seus volumes foram ajustados com os respectivos solventes. Transferiu-se para tubos de centrífuga do tipo *Falcon* onde permaneceram ao abrigo da luz a 8 ± 2 °C por 24 h. Transcorrido o período, os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo e utilizados para as análises.

Determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos, carotenoides totais e antocianinas monoméricas totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi quantificado conforme descrito por Obanda et al. (1997). Para tanto, alíquotas de 0,5 mL e de 0,3 mL dos extratos das polpas congelada e liofilizada respectivamente, foram transferidas para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 1mL do reagente Folin-Ciocalteu 1:3 N (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), 2 mL de carbonato de sódio a 20% (p/v) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e 2 mL de água destilada. Após reação por 30 min em câmara escura a 28 ± 1 °C, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro digital Modelo 722N (Edutec, São Paulo, Brasil) no comprimento de onda de 700 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por cem gramas da amostra (mg EAG 100g⁻¹).

A análise de flavonoides amarelos foi realizada segundo metodologia proposta por Francis (1982), na qual a absorbância dos extratos foi mensurada a 374 nm. Já os carotenoides totais foram extraídos misturando-se 5,0 g das respectivas polpas com 25 mL de acetona PA (Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil). Os extratos obtidos foram imediatamente filtrados em papel de filtro qualitativo e analisados em espectrofotômetro Modelo 722N (Edutec, São Paulo, Brasil) nos comprimentos de onda de 470, 646 e 663 nm (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001). Os resultados de ambos os compostos foram expressos em miligramas por cem gramas de amostra (mg 100g⁻¹).

O conteúdo total de antocianinas monoméricas foi determinado por diferença de pH, conforme descrito por Giusti e Wrolstad (2001), no qual foram adicionados 1,6 mL das soluções tampão de cloreto de potássio 0,025 M (pH = 1) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), ou acetato de sódio 0,4 M (pH= 4,5) (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil) a 0,4 mL do extrato. As amostras foram homogeneizadas e mantidas na ausência da luz a 28 ± 1 °C por 30 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetro digital Modelo 722N (Edutec, São Paulo, Brasil) na faixa de 510 nm e a 700 nm. A concentração das antocianinas monomérica totais (AMT) foi calculada conforme Equação 3.

$$AMT = A \times MW \times 1000 / (\epsilon \times C) \quad (1)$$

Sendo:

A: Absorbância ($A_{510nm} - A_{700nm}$) pH 1,0 - ($A_{510nm} - A_{700nm}$) pH 4,5;

MW: massa molecular da cianidina-3-glicosídeo = 490 g mol^{-1} ;

ϵ : Absortividade molar de cianidina-3-glicosídeo = $26900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

C: Concentração do tampão (mg mL^{-1})

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em desativar o radical estável DPPH•, segundo metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995). Para tanto, utilizou-se uma solução etanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e as determinações foram realizadas em microplacas de poliestireno com 96 poços (TPP, Suíça), para onde foram adicionados 40 μL de extrato preparado com etanol:água destilada (70:30 v/v) e 200 μL da solução de DPPH. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 60 min de reação no escuro a 28 ± 1 °C, em espectrofotômetro Modelo Cary 50 (Walnut Creeck, USA) a 515 nm. A capacidade antioxidante das amostras foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil).

3ª ETAPA

3.3 Elaboração das bebidas lácteas

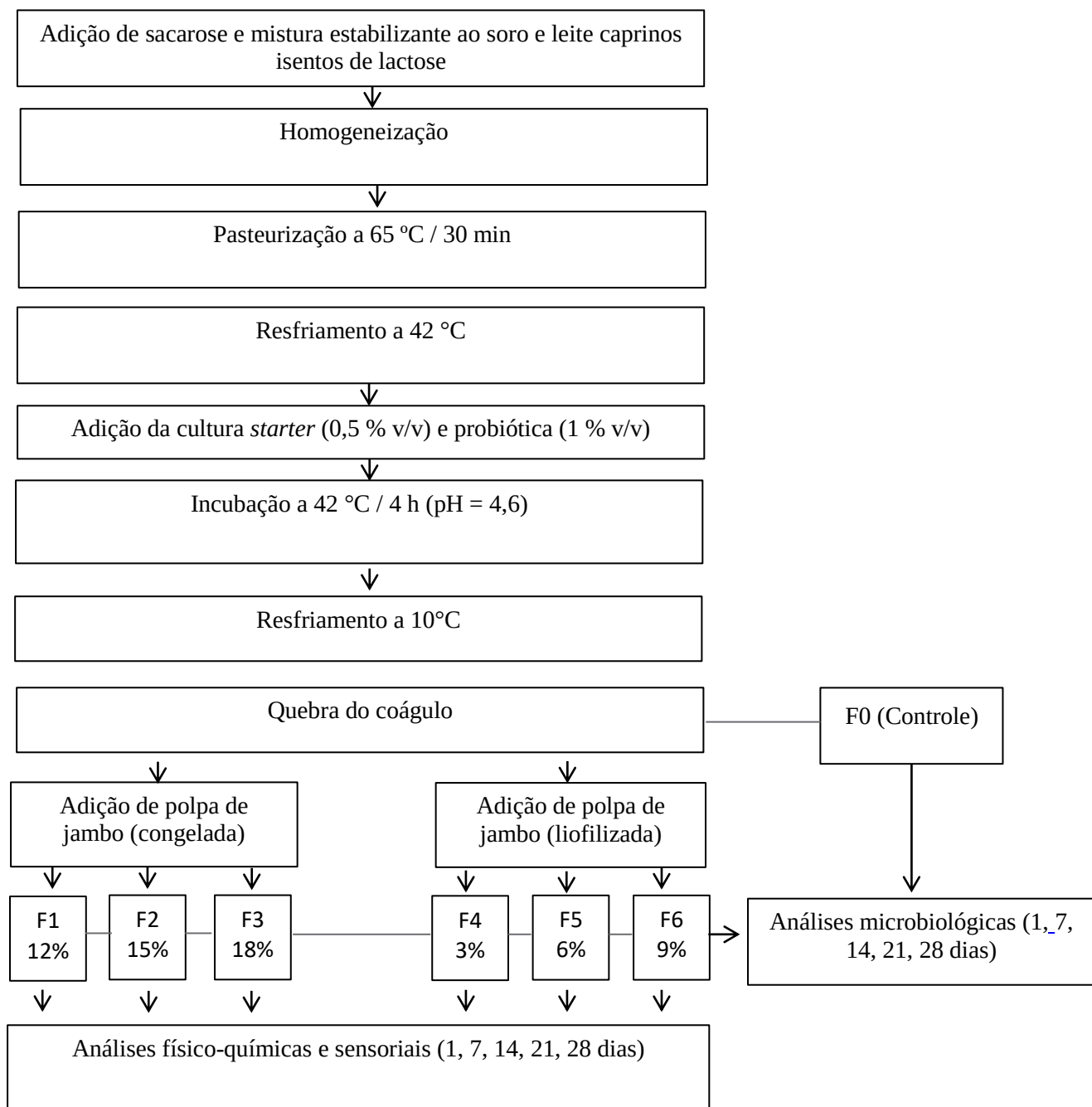
As formulações das bebidas lácteas foram desenvolvidas e analisadas durante o armazenamento refrigerado no Laboratório de Processamento de Laticínios da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (EAJ-UFRN). As culturas lácticas foram fornecidas pela SACCO Brasil (Campinas, São Paulo, Brasil) enquanto a mistura estabilizante foi adquirida com a Vilac Ltda (Natal, Rio Grande do Norte, Brasil), e os demais insumos em comércio local. O leite caprino e o soro caprino com lactose hidrolisada, bem como a polpa de jambo (congelada e liofilizada) foram obtidos conforme descrito anteriormente nas etapas 1 e 2.

O inóculo foi preparado antes da elaboração das formulações, e consistiu na pesagem e diluição de 1 g das culturas (*Lacticaseibacillus paracasei* - BGP 1, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* – Y450B) liofilizadas em 250 mL de leite pasteurizado isento de lactose e incubação a 42 °C/2h.

Foram elaboradas seis formulações de bebidas lácteas probióticas utilizando-se soro caprino e leite caprino isentos de lactose, sacarose, mistura estabilizante, cultura *starter* composta por *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* – Y450B, cultura probiótica (*Lacticaseibacillus paracasei* - BGP 1) e polpa de jambo vermelho. Os tratamentos constaram da variação nas concentrações de polpa de jambo congelada, liofilizada e de leite caprino isento de lactose. A fim de avaliar os efeitos sobre a viabilidade da cultura probiótica, adicionalmente, foi elaborada uma formulação controle (F0) na qual nenhuma polpa foi adicionada.

Para elaboração das bebidas lácteas, conforme etapas descritas na Figura 5, a sacarose (10% m/v) e a mistura estabilizante (0,6% m/v) foram adicionadas ao soro caprino (40%) e ao leite caprino isento de lactose, e em seguida, a mistura foi homogeneizada com espátula de poliestireno, pasteurizada (65 °C / 30 min) e resfriada a 42 °C, momento este em que foi adicionado o inóculo da cultura *starter* (0,5% v/v) e probiótica (1% v/v) previamente preparados. As bases lácteas obtidas foram incubadas em estufa de incubação a 42 °C até atingir o pH 4,6 (4 h). Posteriormente, foram resfriadas a 10 °C e adicionadas de diferentes concentrações de polpa de jambo congeladas 12%, 15% e 18% m/v e liofilizadas 3%, 6% e 9% m/v, correspondendo às formulações F1, F2, F3, F4, F5 e F6, respectivamente. As bebidas foram acondicionadas em embalagens estéreis e armazenadas a 5 °C / 28 dias para análises posteriores.

Figura 5 – Fluxograma de obtenção das diferentes formulações de bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo



3.3.1 Análises físico-químicas das formulações

As bebidas lácteas elaboradas foram inicialmente caracterizadas por meio das análises de lipídios pelo método de extração a frio proposto por Bligh e Dyer (AOAC 2000.18); proteínas, seguindo-se o método de Kjeldahl (AOAC 939.02); açúcares redutores pelo método de Fehling (AOAC 923.09); cinzas por incineração em mufla (Quimis, São Paulo, Brasil) a 550 °C (AOAC 930.22) e umidade procedendo-se a secagem de 5 g das amostras em estufa (Quimis, São Paulo, Brasil) a 105 °C, até obtenção de peso constante (AOAC 950.46) (AOAC, 2000).

Durante o armazenamento refrigerado das bebidas (1, 7, 14, 21 e 28 dias) foram realizadas análises de pH em potenciômetro digital modelo Q488AS (Quimis, Diadema, São Paulo, Brasil) aferido com as soluções tampões pH 4,0 e 7,0 (AOAC 947.05); acidez titulável por titulometria com solução de NaOH 0,1 Mol/L, utilizando-se a fenolftaleína como indicador, sendo os resultados expressos em porcentagem de ácido láctico presente na amostra (AOAC 920.124); determinação do teor de ácido ascórbico por titulometria com solução de DCFI (2,6 dicloro-fenol-indofenol 0,02%) (AOAC 967.21) (AOAC, 2000) e determinação do índice de sinérese pelo método de drenagem, onde 30 g das bebidas foram distribuídas sobre um papel filtro na parte superior de um funil, acoplado a um elermeyer de 100 mL por 5 h a 4 °C (RIENER et al., 2010).

A determinação de compostos fenólicos totais (OBANDA et al., 1997), antocianinas monoméricas totais (GIUSTI; WROLSTAD, 2001) e de flavonoides amarelos (FRANCIS, 1982) também foi realizada durante o período de armazenamento das bebidas (1, 7, 14, 21 e 28 dias). A atividade antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) foi determinada apenas nas duas formulações com adição da polpa congelada e liofilizada que apresentaram maior teor de compostos bioativos. Todas as análises foram realizadas em triplicata, conforme descrito a seguir.

Obtenção dos extratos

A determinação de compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e de flavonoides amarelos foi realizada com base em testes preliminares, diluindo-se 5 g das formulações elaboradas em 25 mL etanol / água destilada (70: 30 v/v) (Neon, São Paulo, Brasil). Os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo e posteriormente analisados.

Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante das bebidas

O conteúdo de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos, antocianinas monoméricas totais e a atividade antioxidante foram determinados conforme descrito no item 3.2.2.

3.3.2 Análises microbiológicas das formulações

As formulações elaboradas foram submetidas às análises de coliformes totais e termotolerantes (NMP mL⁻¹) conforme exigido pelo regulamento técnico de identidade e qualidade de bebidas lácteas (BRASIL, 2005) e pesquisa de *Salmonella* sp (APHA, 2001), exigida pela Resolução nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) após 1 dia de armazenamento, enquanto a viabilidade das bactérias lácticas foi determinada durante todo o período de armazenamento das bebidas (1, 7, 14, 21 e 28 dias).

Coliformes totais, termotolerantes e *Salmonella* sp

As análises de coliformes totais, termotolerantes e de *Salmonella* sp das bebidas elaboradas foram realizadas conforme descrito no item 3.1.3.

Bactérias lácticas

Lactocaseibacillus paracasei (BGP 1) foi enumerado em profundidade, utilizando o meio de cultura ágar MRS acrescido de propionato de sódio (0,3% m/v) e cloreto de lítio (0,2% m/v) em anaerobiose a 37 °C / 72 h, conforme descrito por Vinderola e Reinheimer (2000). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Y450B) foi cultivado em profundidade em meio ágar MRS em anaerobiose a 45 °C / 48h, e *Streptococcus thermophilus* (Y450B) em superfície no meio ágar M-17 a 45 °C / 24 h em condições de aerobiose conforme proposto por Pimentel et al. (2012). A seletividade dos meios empregados foi previamente testada em ensaios preliminares.

3.3.3 Análises sensoriais

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (número do parecer: 2.063.798/ CAAE: 65937117.3.0000.5537).

Atestada a qualidade microbiológica, as diferentes formulações desenvolvidas foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra, durante todo o período de armazenamento (1, 7, 14, 21 e 28 dias), sendo considerado como critério de aceitação global, média $\geq 7,0$ (escala hedônica).

A intenção de compra foi avaliada por meio de escala de cinco pontos (5 = certamente compraria; 1 = certamente não compraria) e os atributos, cor, aroma, consistência, sabor e aceitação global através de teste afetivo laboratorial com uso de escala hedônica de nove pontos (9 = gostei muitíssimo, 1 = desgostei muitíssimo) (MEILGAARD et al., 1991). As análises foram realizadas com os mesmos julgadores (n=57), durante todo o período de armazenamento de avaliação das bebidas. Para ambos os testes sensoriais, cerca de 25 mL das formulações foram servidas em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos. Foram oferecidos aos julgadores biscoitos tipo *cream cracker* e água mineral para eliminar o sabor residual entre as amostras.

3.4 Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos foram realizados empregando o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os resultados analisados por análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância, utilizando-se o software Statistica versão 7.0 (Statsoft, Tulsa, EUA).

REFERÊNCIAS

- AHMED, S.A.; EL-BASSIONY, T.; ELMALT, L.M.; IBRAHIM, H.R. Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins. **Food Research International**, v.74, p. 80-88, 2015.
- AL-HINDI, R.R.; GHANI, S.A.E. Production of functional fermented milk beverages supplemented with pomegranate peel extract and probiotic lactic acid bacteria. **Journal of Food Quality**, v. 2020, p.1-9, 2020.
- ALMEIDA, E.J.; SCALOPPI, E.M.T.; JESUS, N.; BENASSI, A.C.; GANGA, R.M.D.; MARTINS, B.G. Comunicação propagação vegetativa de jambeiro vermelho [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 1658-1663, 2010.
- ALMEIDA, V. O. Estudos em mirtáceas em quatro municípios do Recôncavo da Bahia. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 2011. 90p.
- ALTINÇEKİÇ, S. O.; KOYUNCU, M. Yetiştirici şartlarında saanen x kıl melezi keçilerinde bazı meme ölçüleri ve toplam sağılabilir süt miktarı arasındaki ilişkiler üzerine bir araştırma. **Journal of Natural Sciences**, v.20, n.3, p.227-234, 2017.
- ANDRADE, M.R.; MARTINS, T.R.; ROSENTHAL, A.; HAUCK, J.T.; DELIZA, R. Fermented milk beverage: formulation and process. **Ciência Rural**, v.49, n.3, p.1-12, 2019.
- ANDRADE, D.C.M.; BRUM, A.K.R.; MESSIAS, C.M. Gestão do cuidado seguro da criança alérgica ao leite: a saúde do escolar e suas perspectivas. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. 1-24, 2020.
- AOAC. Association Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 12 ed. Washington D.C; 2000.
- APARICIO, A.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E.; LORENZO-MORA, A.M.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, P.; ORTEGA, R.M.; LÓPEZ-SOBALER, A.M. Mitos y falacias en relación al consumo de productos lácteos. **Nutrición Hospitalaria**, v.36, n.3, p. 20-24, 2019.
- APHA, American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4.ed. Washington DC. 2001.
- APOSTU, S.; POP, C.; ROTAR, A.M.; SALANTA, L.; POP, A.; GAVRU, I. Improving the chemical and sensory characteristics of goat cheese by the addition of cranberry. **Food Science and Technology**, v.71, n.2, p. 211-212, 2014.
- ASRESIE, A.; ADUGNA, M. Bioactive properties of goat milk: It's hypoallergenic, nutritional and therapeutic significance: A Review. **Global Journal of Animal Scientific Research**, v. 2, n.4, p. 315-320, 2014.

AUGUSTA, I.M.; RESENDE, J.M.; BORGES, S.V.; MAIA, M.C.A.; COUTO, M.A.P.G. Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L) Merryl & Perry). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 4, n.30, p. 928-932, 2010.

AUGUSTA, I.M.; NASCIMENTO, K.O.; COUTO, M.A.P.G.; BORGES, S.V. Teor de antocianinas totais e atividade antioxidante da flor de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*). **Higiene Alimentar**, p. 1631-1634, 2013.

AUGUSTA, I. M. Extração e secagem da casca de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L) Merryl et Perry) para obtenção de corante. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2011. 134p.

BAADKAR, S.V.; MUKHERJEE, M.S.; LELE, S.S. Study on influence of age, gender and genetic variants on lactose intolerance and its impact on milk intake in adult Asian Indians. **Annals of Human Biology**, v. 41, n.6, p.548-553, 2014.

BACELAR JÚNIOR, A.J.; KASHIWABARA, T. G.B.; SILVA, V.Y.N.E. Intolerância a lactose- Revisão de literatura. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 4, n.4, p. 38-42, 2013.

BALI, N.; PETSI, A.J.; SKOURAS, E.D.; BURGANOS, V.N. Three-dimensional reconstruction of bioactive membranes and pore-scale simulation of enzymatic reactions: The case of lactose hydrolysis. **Journal of Membrane Science**, v. 524, p. 225-234, 2017.

BALTHAZAR, C.F.; PIMENTEL, T.C.; FERRÃO, L.L.; ALMADA, C.N.; SANTILLO, A.; ALBENZIO, M.; MOLLAKHALILI, N.; MORTAZAVIAN, A.M.; NASCIMENTO, J.S.; SILVA, M.C.; FREITAS, M.Q.; SANT'ANA, A.S.; GRANATO, D.; 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.

BALZARETTI, S.; TAVERNITI, V.; GUGLIELMETTI, S.; FIORE, W.; MINUZZO, M.; NGO, H.N.; NGERE, J.B.; SADIQ, S.; HUMPHREYS, P.N.; LAWS, A.P. A. Novel rhamnose-rich heteroexopolysaccharide isolated from *Lactobacillus paracasei* DG activates THP-1 human monocytic cells. **Applied and Environmental Microbiology**, v.83, n.3, p. 1-15, 2017.

BATISTA, M.A.; GAMA, L. L.A.; ALMEIDA, L.P.; ORNELLAS, C.B.; SANTOS, L.C.; CRUZ, L.L.; SILVESTRE, M.P.C. Desenvolvimento, caracterização e análise sensorial de formulações alimentares com proteínas do soro de leite ou albumina para crianças. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 1, p. 31-41, 2015.

BATISTA, A.G.; SILVA, J.K.; CAZARIN, C.B.B.; BIASOTO, A.C.T.; SAWAYA, A.C.H.; PRADO, M.A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p.1-8, 2016.

BATISTA, R.A.B.; ASSUNÇÃO, D.C.B.; PENAFORTE, F.R.O.; JAPUR, C.C. Lactose in processed foods: evaluating the availability of information regarding its amount. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n.12, p.4119-4128, 2018.

BATISTA, A.G.; MENDONÇA, M.C.P.; SOARES, E.S.; SILVA-MAIA, J.K.; DIONÍSIO, A.P.; SARTORI, C.R.; CRUZ-HÖFLING, M.A.; MARÓSTICA JÚNIOR, M.R. Syzygium malaccense fruit supplementation protects mice brain against highfat diet impairment and improves cognitive functions. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 1-10, 2020.

BELHAMIDI, S.; LARIF, M.; RAFIK, M.; ZOUHRI, N.; CHOUNI, S.; TOUHAMI, M.E.; ELHANNOUNI, F.; ELMIDAOU, A. New experimental method for determining the concentration of proteins and lactose in milk and whey. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n.10, p. 539-544, 2014.

BEZERRA, M.; ARAÚJO, A.; SANTOS, K.; CORREIA, R. Caprine frozen yoghurt produced with fresh and spray dried jambolan fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam) and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BI-07. **Food Science and Technology**, v. 62, n.2, p. 1099-1104, 2015.

BEZERRA, T.K.A.; ARAÚJO, A.R.R.; ARCANJO, N.M.O.; SILVA, F.L.H.; QUEIROGA, R.C.R.E.; MADRUGA, M.S. Optimization of the HS-SPME-GC/MS technique for the analysis of volatile compounds in caprine coalho cheese using response surface methodology. **Food Science and Technology**, v.36, n.1, p.103-110, 2016.

BOSNEA, L.A.; MOSCHAKIS, T.; BILIADERIS, C.G. Microencapsulated cells of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* in biopolymer complex coacervates and their function in a yogurt matrix. **Food & Function**, v. 8, n.2, p. 554-562, 2017.

BOSSO, A.; MORIOKA, L.R.I.; SANTOS, L.F.; SUGUIMOTO, H.H. Lactose hydrolysis potential and thermal stability of commercial β -galactosidase in UHT and skimmed milk. **Food Science and Technology**, v.36, n.1, p. 159-165, 2016.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

BRASIL. Instrução Normativa nº 37, de 12 de setembro de 2000. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite de cabra. Diário Oficial da União, Brasília, 08 set. 2000. Disponível em: <http://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-37-de-31-10-2000,663.html>. Acesso em 27 de Junho de 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução-RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em 02 de Maio de 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Diário Oficial da União, 2008. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>. Acesso em 02 de Junho de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 54, de 7 de outubro de 2014. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre enzimas e

preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. Diário Oficial da União, de 8 de Outubro de 2014. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/391619/Resolu%25C3%25A7%25C3%25A3o%2BRDC%2Bn.%2B53_2014_Lista%2Bde%2Benzimas.pdf/680b654b-2bab-4571-a498-d77dd1cec8c4?version=1.0. Acesso em 08 de Junho de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 135 de 8 de Fevereiro de 2017. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2955920/RDC_136_2017_.pdf/535da2bb-67f6-47a6-a2f1-befe2e4a8576. Acesso em 15 de Junho de 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Brasília: Diário Oficial da União, 2005. Disponível em:

<https://www2.cead.ufv.br/sgal/files/apoio/legislacao/legislacao6.pdf>. Acesso em 28 de Junho de 2017.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº, de, 2013. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Soro de Leite. Brasília: Diário Oficial da União, 2013. Disponível em:

<https://www.alimentosonline.com.br/arquivos/1166/cp.pdf>. Acesso em 28 de Junho de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA.

Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. 22 de dezembro de 2016. 18p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA.

Resolução - RDC Nº 460, de 21 de dezembro de 2020. Dispõe sobre os requisitos sanitários das fórmulas dietoterápicas para erros inatos do metabolismo. Disponível em:

<https://alimentosconsultoria.com.br/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-no-460-de-21-de-dezembro-de-2020-anvisa/>. Acesso em 18 de Abril de 2021.

BURITI, F.C.A.; FREITAS, S.C.; EGITO, A.S.; 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, n.1, p. 196-203, 2014.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P.; RAMOS, A.; CAL-VIDAL, J. Effect of carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization.

Innovative Food Science and Technology, v.6, n.4, p.420-428, 2005.

CARULLI, S.; CALVANO, C.D.; PALMISANO, F. MALDI-TOF MS characterization of glycation products of whey proteins in a glucose/galactose model system and lactose-free milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p. 1793-1803, 2011.

CASTRO, W.F.; CRUZ, A.G.; BISINOTTO, M.S.; GUERREIRO, L.M.R.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A.; CUNHA, R.L.; DELIZA, R. Development of probiotic dairy beverages: Rheological properties and application of mathematical models in sensory evaluation. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n.1, p.16-25, 2013.

CAVICCHIOLI, V.Q.; SCATAMBURLO, T.M.; YAMAZI, A.K.; PIERI, F.A.; NERO, L.A. Occurrence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and enterotoxigenic *Staphylococcus* in goat milk from small and medium-sized farms located in Minas Gerais State, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v.98, n. 12, p. 8386-8390, 2015.

CHEN, T.; LIU, X.; MA, L.; HE, W.; LI, W.; CAO, Y.; LIU, Z. Food allergens affect the intestinal tight junction permeability in inducing intestinal food allergy in rats. **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, v.32, p. 345-353, 2014.

CHOI, J.H.; MOON, C.M.; SHIN, T.S.; KIM, E.K.; DOWELL, A.M.; JO, M.; JOO, Y.H.; KIM, S.; JUNG, H.; SHIM, K.; JUNG, S.; KIM, Y. Lactobacillus paracasei-derived extracellular vesicles attenuate the intestinal inflammatory response by augmenting the endoplasmic reticulum stress pathway. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 52, p.423-437, 2020.

COSTA, A.V.S.; NICOLAU, E.S.; TORRES, M.C.L.; FERNANDES, P.R.; ROSA, S.I.R.; NASCIMENTO, R.C. Desenvolvimento e caracterização físico-química, microbiológica e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/ espessantes. **Semina: Ciências Agrárias**, v.4, n.1, p. 209-226, 2013.

COSTA, G.M.; SILVA, J. V.C.; MINGOTTI, J.D.; BARÃO, C.E.; KLOSOSKI, S.J.; PIMENTEL, T.C. Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on *L. paracasei* viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 195-201, 2017.

COSTA, W.K.A.; SOUZA, E.L.; BELTRÃO FILHO, E.M.; VASCONCELOS, G.K.V.; QUEIROGA, R.C.R.E.; MAGNANI, M. Comparative protein composition analysis of goat milk produced by the alpine and saanen breeds in Northeastern Brazil and related antibacterial activities. **Plos One**, v.9, n.3, p. 1-8, 2014.

COSTA, F.R.; MARICATO, E.; DIAS, A.M.N.; BAPTISTA, E.B. Proteínas do soro do leite: propriedades funcionais e benefícios para a saúde humana. **Lecturas: Educación Física y Deportes**, v.25, n.272, p.106-120, 2021.

CUELLO-GARCIA, C.A.; BROZEK, J.L.; FIOCCHI, A.; PAWANKAR, R.; YEPES-NUNEZ, J.J.; TERRACCIANO, L.; GANDHI, S.; AGARWAL, A.; ZHANG, Y.; SCHÜNEMANN, H.J. Probiotics for the prevention of allergy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 136, n.4, p. 952-961, 2015.

DAS, B.; ROY, A.P.; BHATTACHARJEE, S.; CHAKRABORTY, S.; BHATTACHARJEE, C. Lactose hydrolysis by β -galactosidase enzyme: optimization using response surface methodology. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 121, p. 244-252, 2015.

DELGADO, K.; VIEIRA, C.; DAMMAK, I.; FRASÃO, B.; BRÍGIDA, A.; COSTA, M.; CONTE-JUNIOR, C. Different ultrasound exposure times influence the physicochemical and microbial quality properties in probiotic goat milk yogurt. **Molecules**, v.25, n.20, p.1-22, 2020.

DE PIERRO, F.; BERTUCCIOLI, A.; MARINI, E.; IVALDI, L. A pilot trial on subjects with lactose and/or oligosaccharides intolerance treated with a fixed mixture of pure and entericcoated α - and β -galactosidase. **Clinical and Experimental Gastroenterology**, v.8, p. 95-100, 2015.

DE SIMONE, C. The Unregulated Probiotic Market. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n.5, p. 809-817, 2019.

DEKKER, P.J.T.; KOENDERS, D.; BRUINS, M.J. Lactose-free dairy products: market developments, production, nutrition and health benefits. **Nutrients**, v.10, n.558, p. 1-14, 2019.

DESFOSSÉS-FOUCAULT, E.; POINTE, G.; ROY, D. Transcription profiling of interactions between *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK11 and *Lactobacillus paracasei* ATCC 334 during Cheddar cheese simulation. **International Journal of Food Microbiology**, v.178, p. 76-86, 2014.

DI CERBO, A.; PALMIERI, B. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19; a farmacogenomic and clinical update. **Nutricion Hospitalaria**, v.28, n.6, p.1842-1850, 2013.

DUARTE, M.C.K.H.; CORTEZ, N.M.S.; MACEDO, N.C.; CORTEZ, M.A.S.; FRANCO, R.M. Ação antagonista de *Lactobacillus acidophilus* frente a estirpes patogênicas inoculadas em leite fermentado. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.3, n.1, p. 1-10, 2016.

FAI, A.E.C.; PASTORE, G.M. Galactooligossacarídeos: Produção, Benefícios à saúde, aplicação em alimentos e perspectivas. **Scientia Agropecuaria**, v. 6, n.1, p. 69-81, 2015.

FEITOSA, B.F.; FEITOZA, J.V.F.; ARAÚJO, J.S.F.; XAVIER, L.E.; SOARES, W.K.A.; CAVALCANTI, M.T. Prospecções científica e tecnológica aplicadas a queijos caprinos. **Cadernos de Prospecção**, v. 14, n. 2, p. 573-588, 2021.

FERREIRA, S.; PINTO, M.; CARVALHO, P.; GONÇALVES, J.P.; LIMA, R.; PEREIRA, F. Alergia às proteínas do leite de vaca com manifestações gastrointestinais. **Nascer e Crescer**, v.23, n.2, p. 72-79, 2014.

FIGUEIREDO, J.S.B.; SANTOS, G.L.M.; LOPES, J.P.A.; FERNANDES, L.B.; SILVA, F.N.; FARIA, R.B.; ROCHA, A.C.S.; FARIAS, P.K.S.; LIMA, W.J.N.; DURÃES, C.A.F.; XAVIER, A.R.E.O.; CARVALHO, B.M.A.; CARELI, R.T.; ALMEIDA, A.C.; BRANDI, I.V. Sensory evaluation of fermented dairy beverages supplemented with iron and added by Cerrado fruit pulps. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p.410-414, 2019.

FIORENTINI, A.M.; BALLUS, C.A.; OLIVEIRA, M.L.; CUNHA, M.F.; KLAJN, V.M. The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract during refrigerated storage. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p.597- 607, 2011.

FRANCIS, F. J. Analvsis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181-207.

GALANT, A. L.; KAUFMAN, R. C.; WILSON, J. D. Glucose: Detection and analysis. **Food**

Chemistry, v. 188, p. 149-160, 2015.

GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BARBOSA, W. L. R.; VINCIERI, F. F. Polyphenolic Constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí palm). **Cromatographia**, v. 59, n.11, p. 739-743, 2004.

GAJO, F.F.S.; GAJO, A.A.; SILVA, R.B.V.; FERREIRA, E.B. Diagnóstico da destinação do soro de leite na mesorregião do campo das vertentes – Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 1, p. 26-37, 2016.

GARBALLO-RUBIO, A.; SOTO-CHINCHILLA, J.; MORENO, A.; ZAFRA-GÓMEZ, A. Determination of residual lactose in lactose-free cow milk by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, p. 39-45, 2018.

GENNARI, A.; MOBAYED, F.H.; RAFAEL, R.S.; CATTO, A.L.; BENVENUTTI, E.V.; RODRIGUES, R.C.; SPEROTTO, R.A.; VOLPATO, G.; SOUZA, C.F.V. Stabilization study of tetrameric *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase by immobilization on imobead: thermal, physico-chemical, textural and catalytic properties. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.36, n.4, p. 1403-1417, 2019.

GIBBERT, L.; BERTIN, R.; KRUGER, C.H. Breve revisão da espécie *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry como fonte de compostos bioativos. **Visão Acadêmica**, v.18, n.4, p.140-152, 2017.

GILLE, D.; WALTHER, B.; BADERTSCHER, R.; BOSSHART, A.; BRÜGGER, C.; BRÜHLHART, M.; GAUCH, R.; NOTH, P.; VERGÈRES, G.; EGGER, L. Detection of lactose in products with low lactose content. **International Dairy Journal**, v. 83, p. 17-19, 2018.

GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. E. **Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy**. New York: John Wiley e Sons. (Current Protocols in Food Analytical Chemistry), 2001.

GOMES, J.J.L.; DUARTE, A.M.; BATISTA, A.S.M.; FIGUEIREDO, R.M.F.; SOUSA, E.P.; SOUZA, E.L.; QUEIROGA, R.C.R.E. 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.

GUEIMONDE, M.; SÁNCHEZ, B.; REYES-GAVILÁN, C.G.; MARGOLLES, A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v.4, p. 1- 6, 2013.

HARJU, M.; KALLIOINEN, H.; TOSSAVAINEN, O. Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects. **International Dairy Journal**, v. 22, n.2, p. 104-109, 2012.

HEIDTMANN, R.B.; DUARTE, S.H.; PEREIRA, L.P.; BRAGA, A.R.C. KALIL, S.J. Caracterização cinética e termodinâmica de β -galactosidase de *Kluyveromyces marxianus*

CCT 7082 fracionada com sulfato de amônio. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 41- 49, 2012.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GOMEZ-RUIZ, J.A. Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. **Small Ruminant Research**, v.101, n.1-3, p. 196-204, 2011.

HILL, C.; GUARNER, F.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D.J, POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEN, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. Expert consensus document. Te 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, n.8, p. 506-514, 2014.

HUPPERTZ, T.; GAZI, I. Lactose in dairy ingredients: Effect on processing and storage stability. **Journal of Dairy Science**, v.99, n. 8, p. 6842- 6851, 2016.

HUSAIN, Q. β Galactosidases and their potential applications: a review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 30, n.1, p. 41- 62, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário IBGE 2017. Produção de leite de cabra. Disponível em: <https://www.caprilvirtual.com.br/censo-caprinos-leite.php>. Acesso em 30 de Março de 2020.

ISLAM, M. A.; AKTER, F.; AZIZ, M.G.; UDDIN, M.B. Development of probiotic milk drinks using probiotic strain isolated from local yogurt. **Fundamental and Applied Agriculture**, v.3, n.2, p. 446 - 452, 2018.

JANSSON T.; CLAUSEN, M.R.; SUNDEKILDE, U.K.; EGGERS, N.; NYEGAARD, S.; LARSEN, L.B.; RAY, C.; SUNDGREN, A.; ANDERSEN, H.J.; BERTRAM, H.C. Lactose-hydrolyzed milk is more prone to chemical changes during storage than conventional ultra-high-temperature (UHT) milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p.7886-7896, 2014.

JIN, L.; LI, Y.; REN, X.H.; LEE, J.H. Immobilization of lactase onto various polymer nanofibers for enzyme stabilization and recycling. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.25, n.8, p. 1291-1298, 2015.

JUNG, T.; YUN, S.; LEE, W.J.; KIM, J.W.; HA, H.; YOO, M.; HWANG, H.; JEON, W.; HAN, K. Hydrolysis by Alcalase Improves hypoallergenic properties of goat milk protein. **Korean Journal for Food Science of Animal**, v.36, n. 4, p. 516-522, 2016.

KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINOMEN, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n.8, p. 4076-4082, 2001.

KANCHAN, K.; CLAY, S.; IRIZAR, H.; BUNYAVANICH, S.; MATHIAS, R.A. Current insights into the genetics of food allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.147, n.1, p.15-28, 2021.

KIRTHIGA, O.M.; SIVASANKARI, M.; VELLAIAMMAL, R.; RAJENDRAN, L. Theoretical analysis of concentration of lactose hydrolysis in a packed bed reactor using immobilized β -galactosidase. **Ain Shams Engineering Journal**, v. 3, p.1- 6, 2016.

KOSSEVA, M. R.; PANESAR, P. S.; GURPREET KAUR, K. J. F. Use of immobilized biocatalysts in the processing of cheese whey. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 45, n.5, p. 437- 447, 2009.

KRÓLCZYK, J.B.; DAWIDZIUK, T.; JANISZEWSKA-TURAK, E.; SOŁOWIEJ, B. Use of whey and whey preparations in the food industry - A Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 66, n. 3, p. 157-165, 2016.

KUMAR, H.; YADAV, D.; KUMAR, N.; SETH, R.; GOYAL, A.K. Nutritional and nutraceutical properties of goat milk - A review. **Indian Journal of Dairy Science**, v.69, n.5, p. 513-518, 2016.

LARA, F.J.P.; BERGES, A.F.; MOYA, R.M.; MORENO, A.R.; MUÑOZ, H.O. Could a poor outcome of gastro-oesophageal reflux surgery be related to lactase deficiency? **Esophagus**, v.13, p.234-236, 2016.

LAWLIS, T.; BAKONY, S.; WILLIAMS, L.T. Food allergy in schools: The importance of government involvement. **Nutrition & Dietetics**, v. 74: p. 82-87, 2017.

LAZARIDOU, A.; SERAFEIMIDOU, A.; BILIADERIS, C.G.; MOSCHAKIS, T.; TZANETAKIS, N. Structure development and acidification kinetics in fermented milk containing oatb-glucan, a yogurt culture and a probiotic strain. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 204-214, 2014.

LEE, A.; LEE, Y.J.; YOO, H.J.; KIM, M.; CHANG, Y.; LEE, D.S.; LEE, J.H. Consumption of dairy yogurt containing *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* and heat-treated *Lactobacillus plantarum* improves immune function including natural killer cell activity. **Nutrients**, v.9, n.58, p. 2-9, 2017.

LIANG, X.; YANG, H.; SUN, J.; CHENG, J.; LUO, X.; WANG, Z.; YANG, M.; TAO, D.B.; YUE, X.; ZHENG, Y. Effects of enzymatic treatments on the hydrolysis and antigenicity reduction of natural cow milk. **Food Science & Nutrition**, v.9, n.2, p-985-993, 2021.

LI, G.; ZHANG, Y.; WU, P.; CHEN, N.; WWU, Z.; YANG, L.; QIU, R.; WANG, G.; LI, Y. New phloroglucinol derivatives from the fruit tree *Syzygium jambos* and their cytotoxic and antioxidant activities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 10257-10262, 2015.

LIMA, L.R.N.; NEGREIROS, I.F.L.; SILVA, E.F.; RAMOS, L.S.N. Características físico-químicas do leite de cabra submetidos à diferentes períodos de congelamento. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p.1-10, 2021.

LIMA, M.A.; FREITAS, M.F.M.; GONÇALVES, L.R.B.; SILVA JUNIOR, I.J. Recovery and purification of a *Kluyvermyces lactis* - galactosidase by mixed mode chromatography. **Journal of Chromatography**, v.1015, p.181-191, 2016a.

LIMA, A.V.S.C.; NICOLAU, E.S.; REZENDE, C.S.M.; TORRES, M.C.L.; NOVAIS, L.G.; SOARES, N.R. Characterization and sensory preference of fermented dairy beverages

prepared with different concentrations of whey and araticum pulp. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 4011- 4026, 2016b.

LIMA, M.C.; SOUZA, M.C.C.; ESPESCHIT, I.F.; MACIEL, P.A.C.C.; SOUSA, J.E.; MORAES, G.F.; RIBEIRO FILHO, J.D.; MOREIRA, M.A.S. Mastitis in dairy goats from the state of Minas Gerais, Brazil: profiles of farms, risk factors and characterization of bacteria. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 38, n.9, p.1742-1751, 2018.

LIN, Y.; SUN, X.; HOU, X.; Qu, B.; Gao, X.; Li, Q. Effects of glucose on lactose synthesis in mammary epithelial cells from dairy cow. **Veterinary Research**, v.12, n. 81, p. 1-11, 2016.

LIFSCHITZ, C.; SZAJEWSKA, H. Cow's milk allergy: evidence-based diagnosis and management for the practitioner. **European Journal of Pediatrics**, v.174, n.2, p.141-150, 2015.

LIN, C.; CHEN, Y.H.; TSAI, T.Y.; PAN, T.M. Effects of deep sea water and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 on hypercholesterolemia hamsters gut microbiota. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n.1, p.321-329, 2017.

LISBOA, C.R.; COSTA, F.A.A.; BURKERT, J.F.M.; BURKERT, C.A.V. Síntese de galactooligosacarídeos a partir de lactose usando β -galactosidase comercial de *Kluyveromyces lactis*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 30 - 40, 2012.

LOBATO, L.P.; BENASSI, M.T.; GROSSMANN, V.E. Adição de inulina em géis de amido e leite utilizando planejamento experimental de misturas. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, n. 2, p. 134-140, 2012.

LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; DELADINO, L.; AGUDELO-MESA, L.; MARTINO, M. Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage. **Journal of Food Engineering**, v.124, p.158-165, 2014.

LOZINSKY, A.C.; MEYER, R.; ANAGNOSTOU, K.; DZIUBAK, R.; REEVE, K.; GODWIN, H.; FOX, A.T.; SHAH, N. Cow's milk protein allergy from diagnosis to management: A very different journey for general practitioners and parents. **Children**, v.2, n.3, p.317-329, 2015.

LUTHY, K.E.; LARIMER, S.G.; FREEBORN, D.S. Differentiating between lactose intolerance, celiac disease, and irritable bowel syndrome-diarrhea. **The Journal for Nurse Practitioners**, v.13, n.5, p. 348-353, 2017.

MACWAN, S.R.; DABHI, B.K.; PARMAR, S.C.; APARNATHI, K.D. Whey and its Utilization. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v.5, n.8, p.134-155, 2016.

MAEDA, M.; IMAI, T.; ISHIKAWA, R.; NAKAMURA, T.; KAMIYA, T.; KIMURA, A.; FUGITA, S.; AKASHI, K.; TADA, H.; MORITA, H.; MATSUMOTO, K.; KATSUNUMA, T.; Effect of oral immunotherapy in children with milk allergy: The ORIMA study. **Allergology International**, v.70, n.2, p.223-228, 2021.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G.V.; CARR, B.T. **Sensory Evaluation Techniques**. London, CRP Press, Inc., 1991. 287 p.

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

MENDONÇA, K.R.C.; NASCIMENTO, L.P.; MANSOUR, I.B.; SILVA, A.L.S.F.; NOBRE, A.L.N.; NASCIMENTO, L.P. Custos diretos dos responsáveis pelos pacientes portadores de alergia alimentar à proteína do leite de vaca em uma unidade básica de saúde em Belém. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n.5, p. 12684-12699, 2020.

MILLER, B.A.; LU, C.D. Current status of global dairy goat production: an overview. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 32, n. 8, p.1219-1232, 2019.

MOHAMMADI, A.A. JAZAYERI, S.; KHOSRAVI-DARANI, K.; SOLATI, Z.; MOHAMMADPOUR, N.; ASEMI, Z.; ADAB, Z.; DJALALI, M.; TEHRANI-DOOST, M.; HOSSEINI, M.; EGHTESEADI, S. The effects of probiotics on mental health and hypothalamic–pituitary–adrenal axis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. **Nutritional Neuroscience**, v.19, n. 9, p. 387-395, 2016.

MORELLI, L.; CAPURSO, L. FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 46 Suppl, S1-2, 2012.

MOREIRA, K. M.M.; COELHO, L.H.; PERINI, C.C.; RAPACCI, M.; KARAM, L.B. Produção de doce de leite com teor reduzido de lactose por β -galactosidase. **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 7, n.4, p. 375-382, 2009.

MOREIRA, T.C.; SILVA, A.T.; FAGUNDES, C.; FERREIRA, S.M.R.; CÂNDIDO, L.M.B.; PASSOS, M.; KRÜGE, C.C.H. Elaboration of yogurt with reduced level of lactose added of carob (*Ceratonia siliqua L.*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p.326-329, 2017.

MORIYAMA, T. Diversity of Food Allergy. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**. v.61, p. 106-108, 2015.

MORRIL, W.B.B.; ROLIM, M.M.; BEZERRA NETO, E.; PEDROSA, E.M.R.; OLIVEIRA, V.S.; ALMEIDA, G.L.P. Produção e nutrientes minerais de milho forrageiro e sorgo sudão adubado com soro de leite. **Revista brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16 n.2, p. 182-188, 2019.

MÖRSCHBÄCHER, A.P.; VOLPATOI, G.; SOUZA, C.F.V. *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase immobilization in calcium alginate spheres and gelatin for hydrolysis of cheese whey lactose. **Ciência Rural**, v.46, n.5, p.921-926, 2016.

MORLOCK, G. E.; MORLOCK, L. P.; LEMO, C. Streamlined analysis of lactosefree dairy products. **Journal of Chromatography A**, v. 1324, p. 215-223, 2014.

NARDI, J.; MORAS, P.B.; KOEPPE, C.; DALLEGRAVE, E.; LEAL, M.B.; ROSSATO-GRANDO, L.G. Prepubertal subchronic exposure to soy milk and glyphosate leads to endocrine disruption. **Food and Chemical Toxicology**, v. 100, p. 247-252, 2017.

NÓBREGA, E.; OLIVEIRA, E.; GENOVESE, M.; CORREIA, R. The impact of hot air drying on the physical-chemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata*) residue. **Journal of Food Processing and Preservation**, p.1745-4549, 2014.

NOCERINO, R.; PAPARO, L.; TERRIN, G.; PEZZELLA, V.; AMOROSO, A.; COSENZA, L.; CECERE, G.; MARCO, G.; MICILLO, M.; ALBANO, F.; NUGNES, R.; FERRI, P.; CICCARELLI, G.; GIACCIO, G.; SPADARO, R.; MADDALENA, Y.; CANANI, F.B.; CANANI, R.B. Cow's milk and rice fermented with *Lactobacillus paracasei* CBA L74 prevent infectious diseases in children: A randomized controlled trial. **Clinical Nutrition**, v.36, n.1, p.118-125, 2017.

NUNES, P.C.; AQUINO, J.S.; ROCKENBACH, I.; STAMFORD, T.L.M. Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. **Plos One**, v. 11, n.6, p.1-11, 2016.

NUNES, P. C. Caracterização física, química e avaliação da capacidade antioxidante do fruto jambo vermelho (*Syzygium malaccense*). Dissertação (Mestrado em Nutrição - Ciência dos Alimentos), Universidade Federal de Pernambuco, 2015. 100p.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O.; TAYLOR, S.J. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, p.209-15, 1997.

OLIVEIRA, F.I.P. Estudo do processo de produção de jambo desidratado sob aplicação de ultra-som. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal do Ceará. 2010. 93p.

OLIVEIRA, J.F.; CASSOLI, A.C.; COELHO, E.M.S.; VALENTE, R.F.; BARBOSA, G.H.O.; SILVA, L.T.; CORREA, A.C.; REZENDE, L.F.C.; SANTOS, A.L.F.; LADEIRA, J.A.; WERNEQUE, I.C.; CARMO, A.L.S.; PÊGO, S.M.; CARVALHO, A.S.; RIBEIRO, T.V.; PACHECO, I.B.; SANTOS, A.C.S.; PASSOS, A.R.O. Diagnóstico e manejo da intolerância a lactose. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.29, n.1, p.111-115, 2020.

ORTAKCI, F.; BROADBENT, J.R.; MCMANUS, W.R.; MCMAHON, D.J. Survival of microencapsulated probiotic *Lactobacillus paracasei* LBC-1e during manufacture of mozzarella cheese and simulated gastric digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n.11, p.6274-6281, 2012.

PARK, Y.W.; HAENLEIN, G.F.W. A2 bovine milk and caprine milk as a means of remedy for milk protein allergy, **Dairy**, v.2, n.2, p. 191-201, 2021.

PASOTTI, L.; ZUCCA, S.; CASANOVA, M.; MICOLI, G.; ANGELIS, M.G.C.; MAGNI, P. Fermentation of lactose to ethanol in cheese whey permeate and concentrated permeate by engineered *Escherichia coli*. **BMC Biotechnology**, v. 17, n.48, p.1-12, 2017.

PEDERSEN, S.M.M.; NEBEL, C.; NIELSEN, N.C.; ANDERSEN, H.J.; OLSSON, J.; SIMREN, M.; ÖHMAN, L.; SVENSSON, U.; BELTRAM, H.C.; MALMENDAL, A. A GC–MS-based metabonomic investigation of blood serum from irritable bowel syndrome patients undergoing intervention with acidified milk products. **European Food Research and Technology**, v.233, p.1013-1021, 2011.

PEIXOTO, F.M.; FERNANDES, I.; GOUVÊA, A.C.M.S.; SANTIAGO, M.C.P.A.; BORGUINI, R.G.; NUNO, M.; FREITAS, V.; GODOY, R.L.O.; FERREIRA, I.M.P.L.V.O. Simulation of *in vitro* digestion coupled to gastric and intestinal transport models to estimate absorption of anthocyanins from peel powder of jabuticaba, jamelão and jambo fruits. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 373-38, 2016.

PEREIRA, M.C.S.; BRUMANO, L.P.; KAMIYAMA, C.M.; PEREIRA, J.P.F.; RODARTE, M.P.; PINTO, M.A.O. Lácteos com baixo teor de lactose: Uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.67, n.389, p. 57-65, 2012.

PEREIRA, P.C. Milk nutritional composition and its role in human health. **Nutrition**, v. 30, n.6, p. 619-627, 2014.

PERRIN, Y.; NUTTEN, S.; AUDRAN, R.; BERGER, B.; BIBILONI, R.; WASSENBERG, J.; BARBIER, N.; AUBERT, V.; MOULIN, J.; SINGH, A.; MAGLIOLA, C.; MERCENIER, A.; SPERTINI, F. Comparison of two oral probiotic preparations in a randomized crossover trial highlights a potentially beneficial effect of *Lactobacillus paracasei* NCC2461 in patients with allergic rhinitis. **Clinical and Translational Allergy**, v.4, n.1, p.1-12, 2014.

PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S.H. Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v.65, n. 1, p. 104-110, 2012.

PIMENTEL, T.C.; MADRONA, G.S.; GARCIA, S.; PRUDENCIO, S.H. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 415-422, 2015.

POON, T.; JUANA, J.; NOORI, D.; JEANSEN, S.; PIERUCCI-LAGHA, A.; MUSA-VELOSO, K. Effects of a fermented dairy drink containing *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* CNCM I-1518 (*Lactobacillus casei* CNCM I-1518) and the standard yogurt cultures on the incidence, duration, and severity of common infectious diseases: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrients**, v. 12, n. 3443, p.1-29, 2020.

PRAJAPATI, D.B.; KAPADIYA, D. B.; JAIN, A.K.; MEHTA, B.M.; DARJI, V.B.; APARNATHI, K.D. Comparison of surti goat milk with cow and buffalo milk for

physicochemical characteristics, selected processing-related parameters and activity of selected enzymes. **Veterinary World**, v. 10, n.5, p.477- 484, 2017.

PROSSER, C.G. Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. **Journal of Food Science**, v.86, n.2, p.257-265, 2021.

PU, F.; GUO, Y.; LI, M.; ZHU, H.; WANG, S.; SHEN, X.; HE, M.; HUANG, C.; HE, F. Yogurt supplemented with probiotics can protect the healthy elderly from respiratory infections: A randomized controlled open-label trial. **Clinical Interventions in Aging**, v. 8, n. 12, p.1223-1231, 2017.

RACHID, R.; STEPHEN-VICTOR, E.; CHATILA, T.A. The microbial origins of food allergy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 147, n.3, p.808-813,2020.

RAMOS, A.C.S.M.; STAMFORD, T.L.M.; MACHADO, E.C.L.; LIMA, F.R.B.; GARCIA, E.F.; ANDRADE, S.A.C.; SILVA, C.G.M. Elaboração de bebidas lácteas fermentadas: aceitabilidade e viabilidade de culturas probióticas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2817-2828, 2013.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; BAINES, S. K.; BALTHAZAR, C. F.; CRUZ, A. G.; ESMERINO, E. A.; FREITAS, M. Q.; PIMENTEL, T. C.; WITTEWER, A. E.; NAUMOVSKI, N.; GRAÇA, J. S.; SANT'ANA, A. S.; AJLOUNI, S.; VASILJEVIC, T. Probiotics in goat milk products: Delivery capacity and ability to improve sensory attributes. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.18, p.867-882, 2019.

RANGEL, A. H. N.; SALES, D. C.; URBANO, S. A.; GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; ANDRADE NETO, J. C. MACÊDO, C. S. Lactose intolerance and cow's milk protein allergy. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 179-187, 2016.

RITTHAGOL, W.; SAETANG, C.; TEANPAISAN, R. Effect of probiotics containing *Lactobacillus paracasei* SD1 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in orthodontic cleft patients: A double-blinded, randomized, placebo-controlled study. **Cleft Palate-Craniofacial Journal**, v 51, n.3, p.257-263, 2014.

RIZZO, P.V.; HARWOOD, W.S.; DRAKE, M.A.; Consumer desires and perceptions of lactose-free milk. **Journal of Dairy Science**, v.103, n.8, p.6950-6966, 2020.

ROCHA, J.C.G.; MENDONÇA, A.C.; VIANA, K.W.C.; MAIA, M.P.; CARVALHO, A.F.; MINIM, V.P.R.; STRINGHETA, P.C. Bebidas formuladas com proteína de soro e luteína adicionada. **Ciência Rural**, v.47, n.3, p. 1-7, 2017.

SAH, B.N.P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O.N. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p.978-986, 2016.

SANTANA, G.L.; JESUS, M.S.; SANTOS, A.S.; SANTOS, R.E.M.; BRANDÃO, T.M.; COSTA, I.M.N.B.C.; REINOSO, A.C.L.; AMORIM, E.O.C. Elaboração de kefir à base de leite de cabra: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.3, p. 29533-29551, 2021.

SANTONOCITO, C.; SCAPATICCI, M.; GUARINO, D.; ANNICCHIARICO, E.B.; LISCI, R.; PENITENTE, R.; GASBARRINI, A.; ZUPPI, C.; CAPOLUONGO, E. Lactose intolerance genetic testing: Is it useful as routine screening? Results on 1426 south-central Italy patients. **Clinica Chimica Acta**, v. 439, N. 15, p.14-17, 2015.

SANTOS, P.H.; SILVA, L.H.M.; RODRIGUES, A.M.C.; SOUZA, J.A.R. Influence of temperature, concentration and shear rate on the rheological behavior of malay apple (*Syzygium malaccense*) juice. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.19, p. 1-9, 2016.

SANTOS, G.J.; ROCHA, R.; SANTANA, G.O. Lactose intolerance: what is a correct management? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.65, n.2, p. 270-275, 2019.

SANTOS, B.O.; LIMA, L.F.; Galactosemia, intolerância à lactose e alergia à proteína do leite: compreensão dos mecanismos fisiopatológicos na primeira infância e suas respectivas prescrições nutricionais. **Temas em Educação e Saúde**, v. 16, n. 2, p. 500-512, 2020.

SANTOS, A.C.; ALENCAR, L.A.C.; TALMA, S.V.; LADEIRA, S.A.; LIMA, J.S. Caracterização de bebida láctea tipo cappuccino com diferentes concentrações de soro de queijo caprino. **Diversitas Journal**, v.6, n.1, p. 48-65, 2021.

SAQUETI, B.H.F.; DONADONE, D.B.S.; SAMPAIO, A.R.; BOLANHO, B.C.; RUIZ, S.P. Efeito da adição de farinha de bagaço da maçã e hidrolato da canela encapsulado sobre as propriedades físico-químicas, sensoriais e reológicas de bebida láctea. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 12, p.30036-30054, 2019.

SCHMIDT, C.; MENDE, S.; JAROS, D.; ROHM, H. Fermented milk products: effects of lactose hydrolysis and fermentation conditions on the rheological properties. **Dairy Science & Technology**, v. 96, p.199-211, 2016.

SELVARAJAN, E.; MOHANASRINIVASAN, V.; DEVI, C.S.; DOSS, C.G.P. Immobilization of β -galactosidase from *Lactobacillus plantarum* HF571129 on ZnO nanoparticles: characterization and lactose hydrolysis. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n.9, p.1655-1669, 2015.

SHARMA, P.; TOMAR, S. K.; GOSWAMI, P.; SANGWAN, V.; SINGH, R. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. **Food Research International**, v.57, p. 176 -195, 2014.

SHORI, A.B. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages, **Food Bioscience**, v.13, n.1, p.1-8, 2016.

SILVA, G.G.; LOPES, L.A. Intolerância a lactose e galactosemia: importância dos processos metabólicos. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.11, n.4, p.57- 62, 2015.

SILVA, K.C.M.; GAMA NETTO, G.; SOUZA, L.B.A.; STEPHANI, R.; CARVALHO, A.F.; PERRONE, I.T. Determinação da lactose ante as metodologias contemporâneas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 75, n. 1, p. 59-71, 2020.

SILVA, A.M.L.; MONTEIRO, G.R.S.S.; TAVARES, A.N.S.; PEDROSA, Z.V.R.S. La introducción alimentaria precoz y el riesgo de alergias: Revisión de la literatura. **Enfermería Global**, v.18, n.54, p.485-498, 2019.

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

SIQUEIRA, A.M.O.; MACHADO, E.C.L.; STAMFFORD, T.L.M. Bebidas lácteas com soro de queijos e frutas. **Ciência Rural**, v.43, n.9, p. 1693-1700, 2013.

SOUZA, H.F.; BORGES, L.A.; LOPES, J.P.A.; CARVALHO, B.M.A.; SANTOS, S.H.S.; ALMEIDA, A.C.; LIMA, W.J.N.; BRANDI, I.V. Elaboration, evaluation of nutritional information and physical-chemical stability of dairy fermented drink with caju-mango pulp. **Ciência Rural**, v.50, n.1, p. 1-7, 2020.

SOUZA, F.R.M.; SANTOS, N.G.S.; PADILHA, D.M.M.; BEZERRA, D.S.; FELIPE, M.B.M.C.; RAMALHO, H.M.M. Bebida probiótica de leite fermentado adicionado de polpa de caju (*Anacardium occidentale*): formulação, características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p.1-24, 2020.

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

SKRYPLONEK, K.; JASIŃSKA, M. Fermented probiotic beverages based on acid whey. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v.14, n.4, p.397-405, 2015.

SPOHNER, S.C.; SCHAUM, V.; QUITMANN, H.; CZERMAK, P. *Kluyveromyces lactis*: An emerging tool in biotechnology. **Journal of Biotechnology**, v.222, p.104-116, 2016.

SUDHARSHAN, R.R.; RAMACHANDRA, C.T. Physico-chemical properties of osmanabadi goat milk. **International Journal of Science and Nature**, v.7, n.4, p. 799-801, 2016.

SÜLE, J.; KÖRÖSI, T.; HUCKER, A.; VARGA, L. Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.3, p. 1023-1030, 2014.

SUN, J.; BUYS, N. Effects of probiotics consumption on lowering lipids and CVD risk factors: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Annals of Medicine**, v.47, n.6, p. 430-440, 2015.

- SURI, S.; KUMARA,V.; PRASADA, R.; TANWARB, B.; GOYALC, A.; KAUR, S.; GAT, Y.; KUMAR, A.; KAUR, J.; SINGHD, D. Considerations for development of lactose-free food. **Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism**, v. 15, p.27-34, 2019.
- SRIVASTAVA, A.; TRIPATHI, R.; VERMA, S.; SRIVASTAVA, N.; RAWAT, A. K. S.; DEEPAK, D. A novel method for quantification of lactose in mammalian milk through HPTLC and determination by a mass spectrometric technique. **Analytical Methods**, v.6, n.18, p.7268-7276, 2014.
- TAHERI, S.; KHOMEIRI, M.; AALAMI, M.; MOAYEDI, A. Non-fermented synbiotic drink based on lactic cheese whey which incorporates *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus paracasei*. **International Journal of Food Studies**, v.8, p. 93-104, 2019.
- TEANPAISAN, R.; PIWAT, S. *Lactobacillus paracasei* SD1, a novel probiotic, reduces mutans streptococci in human volunteers: a randomized placebo-controlled trial. **Clinical Oral Investigations**, v.18, n.3, p. 857-862, 2014.
- TEANPAISAN, R.; PIWAT, S.; TIANVIWAT, S.; SOPHATHA, B.; KAMPOO, T. Effect of long-term consumption of *Lactobacillus paracasei* SD1 on reducing mutans streptococci and caries risk: A randomized placebo-controlled trial. **Dentistry Journal**, v.3, n.2, p.43-54, 2015.
- TRAUTVETTER, U.; DITSCHIED, B.; KIEHNTOFF, M.; JAHREIS, G. A combination of calcium phosphate and probiotics beneficially influences intestinal lactobacilli and cholesterol metabolism in humans. **Clinical Nutrition**, v. 31, n.2, p. 230-237, 2012.
- TREVISAN, A. P. Influência de diferentes concentrações de enzimas lactase e temperaturas sobre a hidrólise da lactose em leite pasteurizado. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, 2008. 60p.
- 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.
- VALENCIA, M. S.; SALGADO, S.M.; ANDRADE, S.A.C.; PADILHA, V.M.; LIVERA, A.V.S.; STAMFORD, T.L.M. Development of creamy milk chocolate dessert added with fructooligosaccharide and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81. **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 104-109, 2016.
- VASCONCELOS, K.C.; PEREIRA, M.K.; SANTOS, R.P.B.; MOURTHÉ, P.M.C.; DELVIVO, F.M.; MONTEZE, N.M.; LIMA, A.R. Análise residual de lactose em leites rotulados como “Zero Lactose” comercializados em Belo Horizonte-MG e implicações. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p.16317-16326,2020.
- VINDEROLA, C.G.; REINHEIMER, J.A. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. **International Dairy Journal**, v.10, n. 4, p.271-275, 2000.
- VUOLOA, M.M.; BATISTAA, A.G.; BIASOTOC, A.C.T.; CORREAC, L.C.; MAROSTICA JUNIOR, M.R.; LIU, R.H. Red-jambo peel extract shows antiproliferative activity against HepG2 human hepatoma cells. **Food Research International**, v.124, p.93-100, 2019.

WEDAJO, B. Lactic acid bacteria: Benefits, selection criteria and probiotic potential in fermented food. **Journal Probiotics & Health**, v. 3, n.2, p.2-9, 2015.

WENDLING, L.K.; WESCHENFELDER, S. Probiotics and fermented dairy foods - a review. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.68, p.49-57, 2013.

YADAV, A.K.; SINGH, J.; YADAV, S.K. Composition, nutritional and therapeutic values of goat milk: A review. **Asian Journal Dairy & Food Research**, v.35, n.2, p.96-102, 2016.

YAO, F.; JIA, R.; HUANG, H.; YU, Y.; MEI, L.; BAI, L.; DING, Y.; ZHENG, P. Effect of *Lactobacillus paracasei* N1115 and fructooligosaccharides in nonalcoholic fatty liver disease. **Archives of Medical Science**, v.15, n.5, p.1336-1344, 2019.

YEONG, H.S.A.; G, W. P.B.; JONG-IN, H. Efficient lactulose production from cheese whey using sodium carbonate. **Food Chemistry**, v. 173, p. 1167-1171, 2015.

ZOELLNER, S.S.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; BOLINI, H.M.A.; MOURA, M.R.L.; CARVALHO, L.M.J.; SANT'ANA, A.S Whey beverage with açai pulp as a food carrier of probiotic bacteria. **Australian Journal of Dairy Technology**, v.64, n.2, p.165-169, 2009.

ZOLNERE, K.; CIPROVICA, I. The comparison of commercially available β -galactosidases for dairy industry: review. **Research for Rural Development**, v.1, p.215-222, 2017.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos nesta pesquisa estão apresentados em formato de artigos, de acordo com as normas estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFPB (Resolução nº 15/2019).

ARTIGO 1: Efeito da temperatura e concentração de beta-galactosidase na composição de leite caprino pasteurizado com teor reduzido de lactose

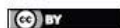
Publicado no periódico Food Science and Technology/ Qualis Referência 2017-2020 B1

ARTIGO 2: Extração de compostos bioativos da polpa de jambo com diferentes tipos de solventes

Submetido ao periódico Research, Society and Development / Qualis Referência 2017-2020 A3

ARTIGO 3: Bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo como fonte de bioativos

Submetido ao Journal of Food Processing and Preservation / Qualis Referência 2017-2020 A4



Effect of temperature and concentration of β -galactosidase on the composition of reduced lactose pasteurized goat milk

Nkarthe Guerra ARAÚJO¹, José Barros da SILVA², Ricardo Targino MOREIRA¹, Haíssa Roberta CARDARELLI^{3*} 

Abstract

This study evaluated the influence of temperature and β -galactosidase concentration on lactose hydrolysis and on the composition of pasteurized goat milk. Goat milk was pasteurized at 75 °C/15 s and cooled to 10 °C and 30 °C, received 0 (control); 0.04%; 0.07%; 0.20% (v/v) β -galactosidase and was incubated for 5 h, followed by enzymatic inactivation at 85 °C. The hydrolysis degree, pH and acidity were evaluated hourly. Physico-chemical parameters were determined after hydrolysis. The maximum hydrolysis degree (100%) has been reached in 4 h when using 0.07% and 0.20% lactase concentrations at 30 °C; however, the minimum hydrolysis percentage of 70% has been reached at 10 °C for all lactase concentrations tested since 1 h of incubation. The degree of hydrolysis and the total acidity of pasteurized goat milk increased with temperature. Low lactase concentrations resulted in an increase in protein levels, total casein, density, total and defatted dry extract. Therefore, combination of low lactase levels and hydrolysis at 10 °C promoted positive changes in lactose-free pasteurized goat milk. This study was the first reporting the changes resulting from enzymatic hydrolysis in the composition of pasteurized goat milk.

Keywords: cryoscopic index; lactose intolerance; enzymatic hydrolysis; caprine milk.

Practical Application: Quality lactose-free goat milk using low temperature and β -galactosidase concentration.

1 Introduction

Goat milk production and commercialization is traditional in South America; however, it has been affected by continuous regional economic fluctuations. The establishment of commercial exploitations and the implementation of programs to improve this activity have driven milk production and adequate technology that is currently available makes it possible to continue improving the conditions of traditional goat production systems (Ramón et al., 2018). Moreover, consumers expect high food quality, sensory attractiveness and appropriate nutritional value of food, associated to health-promoting properties, which are also present in goat milk products (Barłowska et al., 2018; Mituniewicz-Malek et al., 2019).

The prevalence of diseases related to the consumption of certain foods has increased considerably in recent years, with lactose intolerance and bovine milk protein allergy being the most frequent. Excluding this product from the diet is the main recommendation of health professionals. Goat milk is recognized for its nutritional and hypoallergenic properties, being indicated in the diet for children allergic to bovine milk (Pradeep Prasanna & Charalampopoulos, 2019; Beltrán et al., 2017). Research related to goat milk has also indicated that its proteins as well as the peptides produced from them have important biological activity such as antimicrobial, immunomodulator, antioxidant, hypocholesterolemic and antihypertensive activities (Medeiros et al., 2018; Mal et al., 2018). It has better digestibility, greater bioavailability of iron and magnesium and higher calcium

and copper content than bovine milk (Lucatto et al., 2020; Fangmeier et al., 2019). The composition of long-chain fatty acids in its fraction of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (ω -6 and ω -3 fatty acids, eicosapentaenoic acid- EPA and docosahexaenoic acid- DHA, and medium-chain triglycerides) present in goat milk which are considered beneficial to human physiology surpasses bovine milk, (Hodgkinson et al., 2018); and is also rich in niacin, thiamine, riboflavin, and pantothenate (Ranadheera et al., 2019).

Caprine (goat) milk also possesses potential for successful delivery of probiotics, and despite its less appealing flavor in some products, the use of goat milk as a probiotic carrier has rapidly increased over the last decade (Ranadheera et al., 2019). Dairy products with goat milk have been developed, as for instance yogurt (Hadjimbei et al., 2020), 'dulce de leche' (Chaves et al., 2018), cheese (Shabbir et al., 2019; Öztürk & Akin, 2018), cream cheese (Fangmeier et al., 2019) and fermented reconstituted whey (Santos et al., 2019).

Despite the advantages, goat milk is not indicated in the diet of lactose intolerant individuals, with the main alternative for this differentiated group being the consumption of milk and derivatives which are free of and/or low in sugar. Lactose intolerance is due to the lack or low content of β -galactosidase (lactase) present in the body capable of hydrolyzing lactose after ingestion of milk or milk products (Nardi et al., 2017). According to Zolnere &

Received 05 Feb., 2020

Accepted 26 Apr., 2020

¹ Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil

² Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Macaíba, RN, Brasil

³ Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil

*Corresponding author: hrcarda@gmail.com

Extração de compostos bioativos da polpa de jambo com diferentes tipos de solventes
Extraction of bioactive compounds from jambo pulp with different types of solvents
Extracción de compuestos bioactivos de pulpa de jambo con diferentes tipos de solventes

Nkarthe Guerra Araújo

<https://orcid.org/0000-0002-6506-051X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

nkarthe@gmail.com

Lucivânia Assis de Oliveira Navarro

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

lucivania_nf@hotmail.com

Cláudia Souza Macêdo

<https://orcid.org/0000-0002-3173-1821>

Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

csmacedo.ufrn@gmail.com

Ricardo Targino Moreira

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

ricardo.ufpb@gmail.com

Haíssa Roberta Cardarelli

<https://orcid.org/0000-0002-8087-3017>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

hrcarda@gmail.com

Resumo

Este trabalho teve por objetivo definir o melhor solvente extrator dos compostos bioativos da polpa de jambo, armazenada pelos métodos de congelamento e liofilização. Para tanto, frutos de *Syzygium malaccensis*, provenientes do Estado do Rio Grande do Norte-RN foram processados, as polpas obtidas foram congeladas ou liofilizadas e também caracterizadas físico-quimicamente, enquanto seus teores de compostos bioativos foram determinados.

Verificou-se aumento significativo nos teores de proteínas, lipídeos, cinzas, açúcares redutores, sólidos solúveis, ácido ascórbico e carotenoides totais da polpa liofilizada quando comparada à congelada. A polpa liofilizada apresentou ainda, atividade antioxidante significativamente superior ($24,19 \mu\text{mol TE g} \pm 0,09$) à congelada ($17,10 \mu\text{mol TE g}^{-1} \pm 0,56$) e resultados satisfatórios de solubilidade (67,03%) e higroscopicidade (9,38%). Os teores de flavonoides amarelos, antocianinas monoméricas totais e de compostos fenólicos totais variaram conforme o tipo de solvente utilizado e a proporção de suas misturas. O metanol-HCl 1,5 M foi o solvente mais eficaz na extração de compostos fenólicos totais e de antocianinas, enquanto a água pura destacou-se na extração de flavonoides amarelos. Ambos os processos indicaram que o jambo é fonte de compostos bioativos, todavia, a liofilização preservou melhor a estabilidade dos compostos estudados, sugerindo-se esse método como o mais apropriado para obtenção da polpa de jambo, a fim de preservar melhor o potencial funcional deste fruto.

Palavras-chave: ácido ascórbico; antocianinas; compostos fenólicos totais.

Abstract

This work aimed to define the best solvent extracting bioactive compounds from the jambo pulp, stored by the methods of freezing and lyophilization. For this purpose, *Syzygium malaccensis* fruits from the State of Rio Grande do Norte-RN were processed, the pulps obtained were frozen or lyophilized and also physicochemically characterized, while their contents of bioactive compounds were determined. There was a significant increase in the contents of proteins, lipids, ash, reducing sugars, soluble solids, ascorbic acid and total carotenoids of the lyophilized pulp when compared to the frozen one. The lyophilized pulp also presented significantly higher antioxidant activity ($24.19 \mu\text{mol TE g} \pm 0.09$) than the frozen one ($17.10 \mu\text{mol TE g}^{-1} \pm 0.56$) and satisfactory solubility results (67.03%) and hygroscopicity (9.38%). The contents of yellow flavonoids, total monomeric anthocyanins and total phenolic compounds varied according to the type of solvent used and the proportion of their mixtures. 1.5 M methanol-HCl was the most effective solvent for extracting total phenolic compounds and anthocyanins, while pure water stood out for extracting yellow flavonoids. Both processes indicated that jambo is a source of bioactive compounds, however, lyophilization better preserved the stability of the studied compounds, suggesting this method

as the most appropriate for obtaining jambo pulp, in order to better preserve its functional potential fruit.

Keywords: ascorbic acid; anthocyanins; total phenolic compounds.

Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo definir el mejor solvente extrayendo compuestos bioactivos de la pulpa de jambo, almacenada por los métodos de congelación y liofilización. Para ello se procesaron frutos de *Syzygium malaccensis* del Estado de Rio Grande do Norte-RN, se congelaron o liofilizaron las pulpas obtenidas y también se caracterizaron fisicoquímicamente, mientras se determinaba su contenido en compuestos bioactivos. Hubo un aumento significativo ($p < 0.05$) en el contenido de proteínas, lípidos, cenizas, azúcares reductores, sólidos solubles, ácido ascórbico y carotenoides totales de la pulpa liofilizada en comparación con la congelada. La pulpa liofilizada también presentó actividad antioxidante significativamente mayor ($24,19 \mu\text{mol TE g} \pm 0,09$) que la congelada ($17,10 \mu\text{mol TE g}^{-1} \pm 0,56$) y resultados satisfactorios de solubilidad (67,03%) e higroscopicidad (9,38%). Los contenidos de flavonoides amarillos, antocianinas monoméricas totales y compuestos fenólicos totales variaron según el tipo de disolvente utilizado y la proporción de sus mezclas. El metanol-HCl 1,5 M fue el solvente más efectivo para extraer compuestos fenólicos totales y antocianinas, mientras que el agua pura se destacó por extraer flavonoides amarillos. Ambos procesos indicaron que el jambo es fuente de compuestos bioactivos, sin embargo, la liofilización preservó mejor la estabilidad de los compuestos estudiados, sugiriendo este método como el más apropiado para la obtención de pulpa de jambo, con el fin de preservar mejor su potencial funcional.

Palabras clave: ácido ascórbico; antocianinas; compuestos fenólicos totales.

1. Introdução

Diversas pesquisas têm evidenciado o potencial antioxidante de uma variedade de frutas. O consumo frequente destas tem sido associado à baixa incidência de doenças degenerativas, tais como câncer, doenças cardíacas, inflamatórias e do sistema imunológico, além de disfunções neurológicas. Essas evidências estão relacionadas com a presença de compostos antioxidantes variados presentes nas mesmas (Milani et al., 2012; Kibe et al., 2017; Rocha et al., 2021).

O jameiro vermelho (*Syzygium malaccensis*) é uma árvore frutífera pertencente à família *Myrtaceae*, da qual diferentes partes da planta são utilizadas para consumo e fins medicinais (Li et al., 2015). A facilidade de cultivo e condições climáticas favoráveis permitiu uma expansão significativa de sua produção no Brasil, principalmente nas regiões Sudeste, Norte e Nordeste (Nunes et al., 2016). No entanto, seu fruto é utilizado para consumo direto apenas nas regiões produtoras, o que resulta num grande desperdício na época da safra devido à reduzida vida útil dos frutos e escassez de informações relacionadas à viabilidade tecnológica para sua industrialização (Augusta et al., 2010). Neste sentido, a produção de polpa a partir do fruto é alternativa para o seu aproveitamento na época da safra, permitindo a oferta também nos períodos de entressafra, evitando problemas relacionados à sazonalidade.

Estudos referentes à caracterização do jameiro vermelho das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil realizados por Batista et al. (2016) e Nunes et al. (2016), reportaram variações nos teores de antocianinas de 12,90 e 1045 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹, compostos fenólicos totais de 14,81 e 1293 mg EAG 100g⁻¹, e na atividade antioxidante de 674.75 e 25,92 µmol TEg⁻¹, respectivamente. Entretanto, pesquisas referentes à caracterização da polpa de jameiro vermelho oriundo do Estado do Rio Grande do Norte (RN) e de seu conteúdo de compostos bioativos antioxidantes são escassas.

Um dos fatores mais importantes que afetam a extração de compostos bioativos de matrizes vegetais é o solvente de extração utilizado (Van Ngo et al., 2017), dado que a solubilidade dos compostos bioativos em um solvente específico é uma característica peculiar dos fitoquímicos presentes na matriz avaliada, o que justifica a inexistência de um procedimento universal para sua determinação (Santos; Gonçalves, 2016). Tradicionalmente, a extração de polifenóis é realizada usando misturas de solventes orgânicos voláteis tais como metanol, etanol, acetona, acetonitrila e suas combinações, podendo incluir diferentes proporções de água (Rajbhar et al., 2015). Entretanto, não há relatos na literatura referentes à definição do melhor solvente extrator de compostos bioativos da polpa de jameiro vermelho, sendo este, o primeiro estudo com esta finalidade.

Processos de desidratação que não empregam o calor como mecanismo de remoção da água, como a liofilização, são eficientes para minimizar a degradação dos compostos termolábeis dos alimentos (Silva-Espinoza et al. 2019). A liofilização apresenta também outras vantagens como redução de custos com embalagem, armazenamento e transporte, abrangendo tanto a indústria alimentícia como farmacêutica (Oyinloye; Yoon, 2020). Todavia, dentre as alternativas de conservação para polpa de fruta, o congelamento ainda é o procedimento mais utilizado (Carvalho et al., 2017).

Assim, este trabalho teve por objetivo definir o melhor solvente extrator dos compostos bioativos antioxidantes da polpa de jambo armazenada pelos métodos de congelamento e liofilização.

2. Material e Métodos

O jambo vermelho (42,5 kg) foi adquirido na Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus de Macaíba-RN. Os frutos foram colhidos manualmente em estágio fisiológico de maturação completo considerando a coloração da casca vermelha intensa, foram higienizados em água corrente, sanitizados em água clorada a 100 ppm por 15 min, secos a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, e pesados. Posteriormente sofreram corte longitudinal para remoção da semente, foram fracionados com casca (forma aproximada de retângulos de aproximadamente 4,5 cm) e despulpados em despulpadeira de frutas semi-industrial Modelo 0,25 dF (Itametal, Itabuna, Bahia, Brasil) com peneira de 1,5 mm de diâmetro. A polpa obtida (30,0 kg) foi pesada, dividida em duas porções, uma sendo encaminhada para liofilização, e outra acondicionada em embalagens de *nylon*-polietileno de 150 g e submetida ao congelamento lento em freezer horizontal (Eletrolux, São Paulo, Brasil) a -18°C para análises posteriores.

A polpa liofilizada foi obtida dispondo-se 100g da polpa de jambo fresca em bandejas de aço em inox de 18 cm e acondicionando a $-18^\circ\text{C}/48$ h. Após congelamento, as bandejas foram transferidas para o liofilizador Modelo LT 1500 (Terroni, São Carlos, São Paulo, Brasil). As condições de operação foram: temperatura de -30°C por tempo de 48h, velocidade constante de 1mm/h, vácuo variando de 80 μHg até 200 μHg . Os pós obtidos foram acondicionados em embalagens de *nylon*-polietileno, selados a vácuo, e em seguida acondicionados em embalagens metalizadas, onde foram armazenados em temperatura ambiente ($28 \pm 1^\circ\text{C}$) ao abrigo da luz.

2.1 Caracterização das polpas

As polpas foram submetidas às análises de acidez titulável (AOAC 942.15), sólidos solúveis totais (AOAC 932.12), pH (AOAC 947.05), açúcares redutores (AOAC 923.09), umidade (AOAC 934.06), cinzas (AOAC 940.26), teores de lipídeos (AOAC 920.39), proteínas (AOAC 960.52) e de ácido ascórbico (AOAC 967.21) (AOAC, 2000). A análise de atividade de água foi realizada em medidor AQUALAB modelo CX2 (Decagon Devices, Washington, EUA) segundo as recomendações do fabricante. Análises de solubilidade (Cano-Chauca et al., 2005) e higroscopicidade (López-Córdoba et al., 2014) foram realizadas apenas na polpa liofilizada.

As análises de compostos fenólicos totais (Obanda et al., 1997), flavonoides amarelos (Francis, 1982) e antocianinas monoméricas totais (Giusti; Wrolstad, 2001) foram realizadas após a obtenção dos extratos com diferentes tipos de solventes: água destilada, metanol e etanol PA (Neon, São Paulo, Brasil) e ácido clorídrico PA (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil), enquanto os carotenóides totais foram extraídos com acetona PA (Lichtenthaler; Buschmann, 2001) e a atividade antioxidante (Brand-Williams et al., 1995) nos extratos hidroetanólicos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.2 Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante

2.2.1 Obtenção dos extratos

A determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos e de antocianinas monoméricas totais foi realizada com base em testes preliminares, empregando-se 5,0g e 1,5g, respectivamente da polpa de jambo congelada e liofilizada, macerando-as com 25 mL dos diferentes tipos de solventes: água destilada; metanol e etanol (99,9% v/v); etanol/HCl; metanol/HCl e água destilada/HCl (85:15 v/v) (Francis, 1982), metanol/água destilada e etanol/água destilada (70:30 v/v) (Borges et al., 2011). Após maceração, as amostras foram transferidas para balões de 50 mL e seus volumes foram ajustados com os respectivos solventes. Transferiu-se para tubos de centrífuga do tipo *Falcon* onde permaneceram ao abrigo da luz a 8 ± 2 °C por 24 h. Transcorrido o período, os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo e analisados posteriormente.

2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos, carotenoides totais e antocianinas monoméricas totais

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi quantificado conforme descrito por Obanda et al. (1997). Para tanto, alíquotas de 0,5 mL e de 0,3 mL dos extratos das polpas congelada e liofilizada respectivamente, foram transferidas para tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 1mL do reagente Folin-Ciocalteau 1:3N (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), 2 mL de carbonato de sódio a 20% (m/v) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e 2 mL de água destilada. Após reação por 30 min em câmara escura a 28 ± 1 °C, as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro digital Modelo 722N (Edutech, São Paulo, Brasil) no comprimento de onda de 700 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por cem gramas da amostra ($\text{mg EAG } 100\text{g}^{-1}$).

A análise de flavonoides amarelos foi realizada segundo metodologia proposta por Francis (1982), na qual a absorbância dos extratos foi mensurada a 374 nm. Já os carotenoides totais foram extraídos misturando-se 5,0 g das respectivas polpas com 25 mL de acetona PA (Anidrol, Diadema, São Paulo, Brasil). Os extratos obtidos foram imediatamente filtrados em papel de filtro qualitativo e analisados em espectrofotômetro Modelo 722N (Edutech, São Paulo, Brasil) nos comprimentos de onda de 470, 646 e 663 nm (Lichtenthaler; Buschmann, 2001). Os resultados de ambos os compostos foram expressos em miligramas por cem gramas de amostra ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$).

O conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) foi determinado por diferença de pH, conforme descrito por Giusti; Wrolstad (2001), no qual foram adicionados 1,6 mL das soluções tampão de cloreto de potássio 0,025 M (pH = 1) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), ou acetato de sódio 0,4 M (pH= 4,5) (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil) a 0,4 mL do extrato. As amostras foram homogeneizadas e mantidas na ausência da luz a 28 ± 1 °C por 30 min. A leitura foi realizada em espectrofotômetro digital Modelo 722N (Edutech, São Paulo, Brasil) na faixa de 510 nm e a 700 nm. O conteúdo de AMT foi calculado conforme Equação 1.

$$\text{AMT} = A \times \text{MW} \times 1000 / (\epsilon \times C) \quad (1)$$

Sendo:

A: Absorbância ($A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$) pH 1,0 - ($A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}}$) pH 4,5;

MW: massa molecular da cianidina-3-glicosídeo = 490 g mol^{-1} ;

ϵ : Absortividade molar de cianidina-3-glicosídeo = $26900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

C: Concentração do tampão (mg mL^{-1})

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em desativar o radical estável DPPH•, segundo metodologia adaptada de Brand-Williams et al. (1995). Para tanto, utilizou-se em substituição à solução metanólica, solução etanólica de DPPH (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e as determinações foram realizadas em microplacas de poliestireno com 96 poços (TPP, Suíça), para onde foram adicionados 40 μL de extrato preparado com etanol:água destilada (70:30 v/v) e 200 μL da solução de DPPH. As leituras das absorbâncias foram realizadas após 60 min de reação no escuro a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, em espectrofotômetro Modelo Cary 50 (Walnut Creeck, USA) a 515 nm. A capacidade antioxidante das amostras foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil).

2.3 Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos foram realizados empregando o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os resultados analisados por análise de variância (ANOVA), com comparação das médias dos tipos de solventes utilizados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando-se o software Statistica versão 7.0. A comparação das médias dos dois tipos de polpa distintos utilizou o teste t-Student, ao nível de 5% de significância.

3. Resultados e discussão

3.1 Caracterização físico-química das polpas

A Tabela 1 apresenta os resultados da caracterização físico-química da polpa de jambo submetida aos dois processos de conservação distintos. Verificou-se aumento significativo ($p < 0,05$) nos teores de proteínas, lipídeos, cinzas, açúcares redutores, sólidos solúveis, ácido ascórbico e carotenoides totais da polpa liofilizada quando comparada à congelada. Do mesmo modo, foi observada redução significativa nos parâmetros, atividade de água e umidade. A redução destes é, contudo, desejável e uma característica típica de produtos obtidos por processos de desidratação (liofilização), enquanto o aumento nos teores de ácido

ascórbico e carotenoides totais comprova a eficiência deste processo na retenção dos nutrientes.

Tabela 1 – Composição centesimal das polpas de jambo congelada e liofilizada expressa em percentual (mg 100g⁻¹).

Parâmetros	Polpa de jambo congelada	Polpa de jambo liofilizada
Umidade	91,09 ^a ±0,32	8,75 ^b ±0,24
Proteínas	0,71 ^b ±0,03	2,02 ^a ±0,11
Lipídeos	0,45 ^b ±0,39	1,98 ^a ±0,41
Cinzas	0,23 ^b ±0,07	4,60 ^a ±0,15
Açúcares redutores	3,21 ^b ±0,25	42,53 ^a ±4,69
Sólidos solúveis	7,70 ^b ±0,00	80,00 ^a ±0,00
pH	3,36 ^b ±0,15	3,67 ^a ±0,19
Atividade de água	0,941 ^a ±0,00	0,259 ^b ±0,00
Ácido ascórbico	118,00 ^b ±0,00	161,90 ^a ±0,42
Carotenoides totais	42,30 ^b ±0,86	44,99 ^a ±1,55
Solubilidade	ND	67,03 ±0,51
Higroscopicidade	ND	9,38 ±0,30

Letras diferentes na mesma linha indica diferença estatisticamente significativa pelo teste t-Student (p < 0,05). ND indica que o parâmetro não foi determinado.

Os teores de proteínas, lipídeos e açúcares redutores da polpa liofilizada foram inferiores aos valores relatados por Batista et al. (2016), para os mesmos parâmetros: 5,33%, 2,62% e 49,55%, respectivamente, no mesmo tipo de polpa, oriunda de frutos de jameiro provenientes do Sudeste do Brasil. Já o teor de umidade, lipídeos, açúcares redutores e sólidos solúveis da polpa congelada foram superiores, e o teor proteico, de cinzas e o pH ligeiramente inferiores aos resultados obtidos por Nunes et al. (2016), em análise da composição de frutos de jambo vermelho provenientes da cidade de Sapé-PB, indicando, portanto, diferenças também, na composição dos frutos da mesma região.

Conforme apresentado na Tabela 1, a polpa de jambo liofilizada apresentou teor elevado de solubilidade e baixo teor de higroscopicidade. Estes resultados são considerados satisfatórios tendo em vista que durante o processo de liofilização não foi adicionado nenhum adjuvante de secagem a polpa. Krumreich et al. (2016) avaliando polpa de ubaia liofilizada com adição de maltodextrina, obtiveram resultados inferiores de higroscopicidade (4,58%) e de solubilidade (49,79%). Estudos que avaliaram os mesmos parâmetros em polpas desidratadas de *Syzygium malaccensis*, entretanto, não foram encontrados durante esta pesquisa.

A polpa congelada apresentou resultado inferior no conteúdo de ácido ascórbico em relação à liofilizada ($p < 0,05$). Todavia, os teores de ácido ascórbico para ambas foram elevados, indicando que independentemente do método de obtenção da polpa, o jambo vermelho destaca-se como fonte desta vitamina. Conteúdo inferior foi relatado por Shajib et al. (2013) para o *Syzygium cumini* (25,7 mg 100g⁻¹) fresco e por Gordon et al. (2011), para o jambolão liofilizado (93,5 mg 100g⁻¹).

O teor de carotenoides totais obtidos a partir da extração com acetona PA foi superior aos achados de Batista et al. (2016), que avaliando o mesmo composto a partir da extração com isopropanol e hexano obtiveram 0,046 mg 100g⁻¹ de carotenoides totais para a polpa de jambo obtida no Sudeste do Brasil. Fatores como a existência de vários tipos de carotenoides e a variação nas quantidades de carotenoides dentro de um mesmo alimento, a distribuição não uniforme deste composto entre amostras, a natureza variável das matrizes alimentícias, dentre outros, são fatores que afetam sua determinação (Nellis et al., 2017), o que poderia explicar a variação entre os resultados obtidos para o mesmo tipo de fruto proveniente de regiões distintas.

3.2 Extração de compostos bioativos com diferentes tipos de solventes, sua determinação e avaliação da atividade antioxidante

Os resultados mostraram que os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides amarelos e antocianinas monoméricas totais variaram significativamente ($p < 0,05$) entre a polpa congelada e a liofilizada e conforme o tipo de solvente utilizado e a proporção de suas misturas ($p < 0,05$) (Tabelas 2, 3 e 4).

O conteúdo total de compostos fenólicos (Tabela 2), diferiu significativamente entre a polpa congelada e liofilizada e corroboram os achados de Batista et al. (2016) em extratos hidrometanólicos (20:80 v/v) de polpa de jambo submetida ao mesmo método de obtenção.

Conforme observado na Tabela 2, o metanol acidificado foi o solvente mais eficiente na extração de compostos fenólicos totais, para ambas as polpas, seguido pelos resultados obtidos a partir da extração com água pura e etanol acidificado. O emprego da água como solvente parece mais indicado, pois além da eficiência na extração, quando comparada ao metanol e etanol PA, apresenta vantagens por evitar riscos de exposição do analista a reagentes tóxicos e reduz gastos com reagentes químicos. Moura Filho et al. (2017) também

obtiveram maior eficiência na extração de compostos fenólicos em polpa de buriti usando água pura, quando comparado à extração com metanol e etanol PA. Estudos referentes à determinação de polifenóis, flavonoides e antocianinas em polpa de jambo utilizando a água pura como solvente de extração até o momento não foram reportados na literatura.

Tabela 2 – Conteúdo total de compostos fenólicos em polpa de jambo obtidos a partir de diferentes solventes.

Solventes	Polpa congelada mg EAG 100g⁻¹	Polpa liofilizada mg EAG 100g⁻¹
Água	34,60 ^{Bb} ±0,13	370,28 ^{Ab} ±0,63
Metanol/HCl 1,5N (85:15 v/v)	35,18 ^{Ba} ±0,11	388,93 ^{Aa} ±1,25
Etanol/HCl 1,5N (85: 15 v/v)	34,11 ^{Bb} ±0,07	300,68 ^{Ac} ±1,26
Água/ HCl 1,5N (85:15 v/v)	27,01 ^{Bd} ±0,06	249,60 ^{Af} ±1,13
Etanol/água (70:30 v/v)	34,05 ^{Bb} ±0,57	262,71 ^{Ae} ±0,31
Metanol/água (70:30 v/v)	25,59 ^{Be} ±0,41	292,09 ^{Ad} ±0,83
Etanol (99,9%)	33,01 ^{Bc} ±0,19	160,67 ^{Ah} ±0,83
Metanol (99,9%)	32,95 ^{Bc} ±0,52	231,18 ^{Ag} ±2,50

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tipos de polpa pelo teste t-Student ($p < 0,05$). Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre os tipos de solvente, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A extração de fenólicos com etanol puro de ambas as polpas foi significativamente inferior ($p < 0,05$) quando comparado aos resultados dos extratos hidroetanólicos, todavia, a polpa de jambo congelada apresentou teor significativamente superior de compostos fenólicos com metanol puro ($p < 0,05$) em comparação ao extrato hidrometanólico. A solubilidade dos compostos fenólicos em um determinado solvente está relacionada com a composição química da matriz do alimento de onde são extraídos, apontando para a necessidade de seleção criteriosa do método de extração (Milani et al., 2012).

Os teores de flavonoides amarelos da polpa congelada foram baixos e significativamente inferiores à liofilizada ($p < 0,05$) (Tabela 3). Entretanto, esses resultados são satisfatórios quando comparado aos achados de Silva et al. (2014) que investigando o conteúdo de flavonoides amarelos em diferentes frutos tropicais (polpas de abacaxi, acerola,

caju, goiaba, graviola, mamão e manga), não constatarem a presença desse fitoquímico na composição.

Tabela 3 – Conteúdo de flavonoides amarelos em polpa de jambo obtidos a partir de diferentes solventes.

Solventes	Polpa congelada mg 100g ⁻¹	Polpa liofilizada mg 100g ⁻¹
Água	3,60 ^{Ba} ±0,02	34,86 ^{Aa} ±0,03
Metanol/HCl 1,5N (85:15 v/v)	2,82 ^{Bb} ±0,03	24,15 ^{Ab} ±0,18
Etanol/HCl 1,5N (85: 15 v/v)	2,84 ^{Bb} ±0,01	22,26 ^{Ac} ±0,15
Água/ HCl 1,5N (85:15 v/v)	2,57 ^{Bc} ±0,02	20,04 ^{Ad} ±0,09
Etanol/água (70:30 v/v)	2,13 ^{Bd} ±0,02	15,88 ^{Ae} ±0,07
Metanol/água (70:30 v/v)	ND	13,49 ^f ±0,06
Etanol (99,9%)	1,73 ^{Be} ±0,01	9,24 ^{Ah} ±0,08
Metanol (99,9%)	ND	11,04 ^g ±0,17

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tipos de polpa pelo teste t-Student ($p < 0,05$). Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre os tipos de solvente, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ND indica leituras abaixo de 0,20 nm (resultado não detectado).

A água pura destacou-se como o melhor solvente extrator de flavonoides amarelos na polpa congelada e liofilizada, seguido por metanol/HCl e etanol/HCl (Tabela 3). Os teores de flavonoides amarelos obtidos utilizando-se solventes com polaridades distintas para a polpa congelada foram inferiores aos valores reportados por Batista et al. (2016), utilizando o metanol (80%) como solvente extrator para a polpa de jambo vermelho fresca (12,86 mg 100g⁻¹), proveniente da região Sudeste do Brasil.

O teor de antocianinas monoméricas totais da polpa congelada variou de 10,35 ±0,05 a 18,44 ±0,06 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹ enquanto para a polpa liofilizada a variação foi de 41,69 ±0,23 a 138,83 ±0,41 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹ (Tabela 4). Esses resultados aproximam-se dos achados de Batista et al. (2016), para a polpa de jambo fresca (12,90 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹) e liofilizada (126,95 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹) proveniente da cidade de Campinas-SP.

O solvente mais eficiente para a extração das antocianinas tanto da polpa congelada quanto da liofilizada, foi o metanol acidificado, seguido pelo solvente hidrometanólico. A água e o etanol puro foram os menos eficazes para essa extração. Borges et al. (2011)

avaliaram diferentes tipos de solventes na extração de antocianinas da polpa de jussara (*Euterpe edulis*) e verificaram que o metanol/HCl (1,5M) e o etanol/HCl (1,5M) apresentaram-se mais eficientes quando comparados a combinações de outros solventes como água/HCl (0,01M) ou solventes isolados como o metanol e/ou etanol puro. A maior eficiência do metanol acidificado na extração de antocianinas pode ser explicada pela maior estabilidade das mesmas em um solvente de maior polaridade e em pH ácido (Bennemann et al., 2018).

Tabela 4 –Conteúdo total de antocianinas monoméricas em extratos de polpa de jambo obtidas a partir de diferentes solventes.

Solventes	Polpa congelada mg cianidina-3 glicosídeo 100g ⁻¹	Polpa liofilizada mg cianidina -3-glicosídeo 100g ⁻¹
Água	10,35 ^{Bg} ±0,05	57,68 ^{Af} ±0,20
Metanol/HCl 1,5N (85:15 v/v)	18,44 ^{Ba} ±0,05	138,83 ^{Aa} ±0,41
Etanol/HCl 1,5N (85: 15 v/v)	15,22 ^{Bd} ±0,11	127,22 ^{Ab} ±0,42
Água/ HCl 1,5N (85:15 v/v)	15,82 ^{Bbc} ±0,09	121,29 ^{Ac} ±0,02
Etanol/água (70:30 v/v)	12,04 ^{Bi} ±0,05	112,17 ^{Ad} ±0,23
Metanol/água (70:30 v/v)	16,14 ^{Bb} ±0,06	137,10 ^{Aa} ±0,11
Etanol (99,9%)	14,24 ^{Be} ±0,09	41,69 ^{Ag} ±0,23
Metanol (99,9%)	16,06 ^{Bb} ±0,29	62,27 ^{Ae} ±0,00

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tipos de polpa pelo teste t-Student ($p < 0,05$). Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferença estatisticamente significativa entre os tipos de solvente, pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A polpa liofilizada apresentou atividade antioxidante significativamente superior (24, 19 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$) à congelada (17, 10 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$) e ao reportado por Nunes et al. (2016), que obtiveram 22,20 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ para a polpa de jambo liofilizada frente ao radical livre DPPH empregando Metanol/água (8:2 v/v) como solvente de extração. Correia et al. (2012) apontam que os fenólicos e as antocianinas seriam os principais responsáveis pela atividade antioxidante em resíduos de frutas tropicais em pó, o que reforça a teoria de que também tenham sido os responsáveis pela atividade antioxidante neste estudo.

Segundo Melo et al. (2011), diferenças entre variedades, região geográfica, safra, condições climáticas, peculiaridades de processamento e métodos de extração podem interferir nos resultados do teor de compostos fenólicos, bem como na expressão da atividade

antioxidante de materiais vegetais. Nesta pesquisa estes fatores também impactaram os teores de flavonoides amarelos e o conteúdo total de antocianinas monoméricas da polpa de jambo vermelho.

4. Conclusões

O metanol acidificado (85:15 v/v) foi o melhor solvente na extração de compostos fenólicos e de antocianinas monoméricas totais da polpa de jambo, enquanto a água pura destacou-se na extração de flavonoides amarelos. Assim, este estudo pode ser utilizado como referência para escolha de tipos e combinações de solventes mais apropriados para a extração de bioativos de frutos de jambo.

As polpas liofilizada e congelada obtidas sem aditivos sintéticos apresentaram características tecnológicas adequadas para industrialização e destacaram-se especialmente como fonte de compostos bioativos. Todavia, a liofilização preservou melhor a estabilidade dos compostos bioativos estudados, sugerindo-se esse método como o mais apropriado para obtenção da polpa de jambo, a fim de preservar melhor o potencial funcional deste fruto.

Referências

- AOAC Association Official Analytical Chemists. (2000). Official Methods of Analysis. 12 ed. Washington D.C.
- Augusta, I.M., Resende, J.M., Borges, S.V., Maia, M.C.A., & Couto, M.A.P.G. (2010). Caracterização física e química da casca e polpa de jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*, (L) Merryl & Perry). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(4), 928-932.
- Batista, A.G., Silva, J.K., Cazarin C.B.B., Biasoto., Sawaya, A.C.H.F., Prado, M.A., & Maróstica Júnior, M.R. (2016). Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 284-291.
- Bennemann, G.D., Botelho, R.V., Torres, Y.R., Camargo, L.A., Khalil, N.M., Oldoni, T.L.C., & Silva, D.H. (2018). Compostos bioativos e atividade antirradicalar em farinhas de bagaço de uvas de diferentes cultivares desidratadas em liofilizador e em estufa. *Brazilian Journal of Food Technology*, 21, 1-10.
- Borges, G.S., Vieira, F.G.K., Copetti, C., Gonzaga, L.V., & Fett, R. (2011). Optimization of the extraction of flavanols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. *Food Research International*, 44(3), 708-715.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28(1), 25-30.
- Cano-Chauca, M., Stringheta, P.C., Ramos, A.M., & Cal-Vidal, J. (2005). Effect of carriers on the microstructure of mango powder spray drying and its functional characterization. *Innovative Food Science and Technology*, 6(4), 420-428.
- Carvalho, A.V., Mattietto, R.A., & Beckman, J.C. (2017). Estudo da estabilidade de polpas de frutas tropicais mistas congeladas utilizadas na formulação de bebidas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, 1-9.
- Correia, R.T.P., Borges, K.C., Medeiros, M.F., & Genovese, M.I. (2012). Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. *Food Science Technology International*, 2012; 18(16), 539-547.
- Francis, F.J. (1982). Analysis of anthocyanins. In: Markakis, P. Anthocyanins as food colors. London: Academic Press; New York.
- Giusti, M., & Wrolstad, R.E. (2001). Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Suppl:S1-13.
- Gordon, A., Jungfer, E., Silva, B.A., Maia, J.G.S., & Marx, A. (2011). Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the amazon region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7688-7699.
- Li, G., Zhang, Y., Wu, P., Chen, N., Wu, Z., Yang, L., Qiu, R., Wang, G., & Li, W. (2015). New phloroglucinol derivatives from the fruit tree *Syzygium jambos* and their cytotoxic and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (1), 10257-10262.
- Lichtenthaler, H.K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Suppl:S1-8.
- López-Córdoba, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L., & Martino, M. (2014). Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage. *Journal of Food Engineering*, 124, 158-165.
- Melo, P.S., Bergamaschi, K.B., Tiveron, A.P., Massarioli, A.P., Oldoni, T.L.C., Zanús, M.C., Pereira, G.E., & Alencar, S.M. (2011). Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. *Ciência Rural*, 41(6), 1088-1093.
- Milani, L.I.G., Terra, N.N., Fries, L.L.M, Cichoski, A.J., Rezer, A.P.S., Backers, A.M., & Parodia, C.G. (2012). Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15(2), 118-124.
- Moura Filho, J.M., Nagai, L.Y., Nascimento, L.C.S., Cavalcante Neto, A.A., & Penna, A.L.B. (2017). Determinação do solvente ótimo para extração dos compostos fenólicos do fruto de buriti. *Brazilian Journal of Food Research*, 8(3), 22-28.

Nellis, S.C., Correia, A.F.K., & Spoto, M.H.F. (2017). Extração e quantificação de carotenoides em minitomate desidratado (*Sweet Grape*) através da aplicação de diferentes solventes. *Brazilian Journal of Food Technology*, 20, 1-5.

Nunes, P.C., Aquino, J.S., Rockenbach, I., & Stamford, T.L.M..(2016). Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. *PloS One*, 11(6), 1-11.

Van Ngo, T., Scarlett, C.J., Bowyer, M.C., Ngo, P.D., & Vuong, Q.V. (2017).Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *salacia chinensis*. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-8.

Obanda, M., Owuor, P.O., & Taylor, S.J. (1997). Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74(2), 209-215.

Oyinloye, T.M., & Yoon, W.B. (2020). Effect of freeze-drying on quality and grinding process of food produce: a review. *Processes*, 8(354), 1-23.

Kibe, M.N., Konyole, S., Nguka, G., Oloo, M.O., Kathure, D., & Wangari, P.M. (2017).The role of phytochemicals in prevention and control of chronic diseases. *International Journal of Current Research*, 9(12), 62540-62543.

Krumreich, F., D'Avila, R.F., Freda, S.S., Chim, J.F., & Chaves, F.C. (2016). Análises físico-químicas e estabilidade de compostos bioativos presentes em polpa de uvaia em pó obtidos por métodos de secagem e adição de maltodextrina e goma arábica. *Revista Thema*, 2016; 13(2), 4-17.

Rajbhar, K., Dawda, H., & Mukundan, U. (2015). Polyphenols: methods of extraction. [*Scientific Reviews & Chemical Communications*](#), 5(1), 1- 6.

Rocha, B.R., Maciel, E.A., Oliveira, S.R.M., Terence, Y.S., & Silva. B.A. (2021). **Influência dos alimentos funcionais na incidência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT)**. *Intercontinental Journal on Physical Education*, 3(1), 1-20.

Santos, M.C.P., & Gonçalves, E.C.B.A. (2016). Effect of different extracting solvents on antioxidant activity and phenolic compounds of a fruit and vegetable residue flour. *Scientia Agropecuaria*, 2016, 7 (1), 07-14.

Shajib, M.T.I., Kawser, M., Miah, M.N., Begum, P., Bhattacharjee, L., Hossain, A., Fomsgaard, I.S., & Islam, S.N. (2013). Nutritional composition of minor indigenous fruits: cheapest nutritional source for the rural people of Bangladesh. *Food Chemistry*, 140, 466-470.

Silva-Espinoza, M.A., Ayed, C., Foster, T., Camacho, M.M., & Martínez-Navarrete, N. (2020). The impact of freeze-drying conditions on the physico-chemical properties and bioactive compounds of a freeze-dried orange puree. *Foods*, 9 (32), 1-15.

Silva, L.M.R., Figueiredo, E.A.T., Silva, R.N.M.P., Vieira, I.G.P., Figueiredo, R.W., & Brasil, I.M. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 398-04.

SUBMITTED

ARTIGO 3

Bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo como fonte de bioativos

Nkarthe Guerra Araújo^a, Thamirys Lorrane Santos Lima^b, Idiana Macêdo Barbosa^c; Ricardo Targino Moreira^a, Haíssa Roberta Cardarelli^{d*}

^aPrograma de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil

^bPrograma de Pós-graduação em Tecnologia Agroalimentar, Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias, Departamento de Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Bananeiras, PB, Brasil

^cUnidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Macaíba, RN, Brasil

^{d*}Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, João Pessoa, PB, Brasil

Resumo: Esta pesquisa teve por objetivo desenvolver e caracterizar diferentes formulações de bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose bem como determinar a concentração de polpa de jambo mais apropriada para sua obtenção. As bebidas foram desenvolvidas com variações nas concentrações de leite caprino isento de lactose e de polpa de jambo congelada (12, 15 e 18% m/v) e liofilizada (3, 6 e 9% m/v), correspondendo às formulações F1 a F6, respectivamente. Houve redução significativa nas contagens médias do probiótico de 8,23 para 7,38 log UFC mL⁻¹, no índice de sinérese, no pH e aumento concomitante da acidez total durante o armazenamento. As formulações com maiores proporções de polpa congelada (F3) e liofilizada (F6) respectivamente, destacaram-se pelos teores mais elevados de compostos fenólicos (47,63 e 72,08 mg EAG 100 g⁻¹), antocianinas (10,04 e 50,80 mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹), ácido ascórbico (12,23 e 41,68 mg 100 g⁻¹), e atividade antioxidante (12,10 e 16,21 µmol TE g⁻¹). F3 apresentou aceitação global e intenção de compra superiores às demais formulações testadas. Contudo, confirmou-se através da ACP, que o PC1 associado aos compostos bioativos sobressaiu sobre os atributos sensoriais, destacando-se como mais importante para a qualidade das bebidas, sendo, portanto, F6 com a adição de 9 % de polpa liofilizada a formulação cuja concentração e o tipo de polpa são mais apropriados para sua obtenção.

Palavras-chave: *Lacticaseibacillus paracasei*, compostos bioativos, *Syzygium malaccensis*, lácteo fermentado, beta-galactosidase

1. Introdução

A busca por alimentos que atendam à demanda dos consumidores por uma alimentação saudável impacta diretamente a indústria alimentícia, que visa o fornecimento de novos produtos com características funcionais atraentes, conveniência e qualidade sensorial adequada (Costa, Soares Júnior, Rosa, Caliari, & Pimentel, 2017). A utilização de probióticos na obtenção de produtos lácteos vem ao encontro dessa necessidade, o que justifica pesquisas contínuas sobre esse tipo de alimento e seus aspectos funcionais (Antunes et al., 2021).

Culturas probióticas são usadas como ingredientes na produção em larga escala de alimentos lácteos funcionais devido aos diversos benefícios à saúde associados ao seu consumo (Al-Hindi; Ghani, 2020). Todavia, alérgicos às proteínas do leite bovino e intolerantes à lactose não podem consumir os produtos lácteos obtidos (Valero-Cases et al., 2020). O leite caprino, reconhecido por suas propriedades nutricionais e hipoalergênicas, pode ser indicado para a alimentação de consumidores alérgicos às proteínas do leite bovino (Santana et al., 2021), porém, não é recomendado na dieta de intolerantes à lactose. A principal alternativa a este grupo diferenciado é o consumo de leite e derivados isentos desse açúcar obtidos através da hidrólise enzimática (Facioni et al., 2020). A lactose destaca-se também como o principal componente do soro de leite, dificultando seu aproveitamento (Argenta et al., 2021).

O soro de leite é reconhecido pela qualidade nutricional aliada ao elevado volume produzido e baixo custo e, se descartado de forma inadequada, pode causar prejuízos ambientais. Diante disso, a identificação de alternativas para um adequado aproveitamento deste subproduto é fundamental e vem sendo investigada (Macwan et al., 2016). Várias pesquisas abordam sua utilização na obtenção de bebidas lácteas com adição de frutos tropicais como goiaba e graviola (Buriti, Freitas, Egito, & Santos, 2014), mamão e laranja (Andrade, Martins, Rosenthal, Hauck, & Deliza, 2019), cajá-manga (Cheuczuk, Rocha, Busanello, Castro-Cislaghi, & Machado-Lunkes, 2018) e açaí (Zoellner et al., 2009). Todavia, não há relatos na literatura sobre a utilização do soro de leite caprino na elaboração de bebida láctea probiótica isenta de lactose e com adição de polpa de jambo vermelho, sendo esta a primeira pesquisa com tal finalidade.

O jambo vermelho (*Syzygium malaccensis*) é um fruto tropical caracterizado por apresentar quantidades significativas de antocianinas (12,90 mg cianidina 3 - glicosídeo 100g⁻¹), flavonoides totais (12,86 mg 100g⁻¹) compostos fenólicos totais (14,81 mg EAG 100 g⁻¹)

(Batista et al., 2016), teores de ácido ascórbico ($171,14 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) e uma significativa atividade antioxidante ($25,92 \text{ } \mu\text{mol TE g}^{-1}$) (Nunes, Aquino, Rockenbach, & Stamford, 2016). Destaca-se também pela coloração atrativa, com potencial aplicação como corante natural em alimentos e bebidas. Entretanto, é utilizado apenas para consumo direto nas regiões produtoras, resultando em grande desperdício na época da safra (AUGUSTA et al., 2010). Neste sentido, a adição do jambo vermelho em forma de polpa na formulação de bebidas lácteas probióticas constitui uma alternativa para a inserção do fruto na cadeia alimentar.

Diante deste contexto, objetivou-se com esta investigação desenvolver e caracterizar através de análises físico-químicas, microbiológicas e sensoriais diferentes formulações de bebida láctea probiótica caprina isenta de lactose durante o período de armazenamento refrigerado, bem como determinar a concentração de polpa de jambo mais apropriada para sua obtenção, visando ampliar a oferta de produtos probióticos à base de leite e frutas, direcionado a dois grupos de consumidores com necessidades especiais: intolerantes à lactose e alérgicos às proteínas do leite bovino.

2. Material e métodos

2.1. Culturas láctica e probiótica

Lacticaseibacillus paracasei (anteriormente denominado *Lactobacillus paracasei*) (BGP 1), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* liofilizados (Y450B) foram obtidos da SACCO Brasil (Campinas, São Paulo, Brasil). Antes da elaboração das formulações, foi preparado o inóculo que consistiu na pesagem e diluição de 1 g das culturas em 250 mL de leite caprino (previamente pasteurizado a 90°C , tratado com 0,07 % v/v de lactase por 5 h, e submetido a novo tratamento térmico a 85°C para inativação enzimática) e incubação a $42^\circ\text{C} / 2 \text{ h}$.

2.2. Obtenção e processamento das matérias-primas

O leite caprino e o jambo vermelho foram adquiridos na Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Campus de Macaíba-RN.

As polpas foram obtidas a partir de frutos que foram higienizados em água corrente, sanitizados em água clorada a 100 ppm por 15 min e secos a 28 ± 1 °C. Posteriormente sofreram corte longitudinal para remoção da semente, foram fracionados com casca (forma de retângulos de aproximadamente $3 \times 4,5$ cm) e despulpados em despulpadeira de frutas semi-industrial (Itametal, Itabuna, Bahia, Brasil). A polpa obtida foi pesada, dividida em duas porções, uma sendo encaminhada para liofilização, e outra acondicionada em embalagens de nylon-polietileno de 150 g e armazenada em freezer horizontal (Eletrolux, São Paulo, Brasil) a -18 °C.

A polpa liofilizada foi obtida dispondo-se 100 g da polpa de jambo fresca em bandejas de aço inox de 18 cm e acondicionando a -18 °C / 48 h. Após congelamento as bandejas contendo as polpas frescas foram transferidas para o liofilizador (Terroni, São Paulo, Brasil). As condições de operação foram: temperatura de -30 °C por tempo de 48 h, velocidade constante de 1 mm / h, vácuo variando de 80 µHg até 200 µHg. Os pós obtidos foram acondicionados em embalagens de nylon-polietileno, seladas a vácuo, e armazenadas em temperatura ambiente (28 ± 1 °C) ao abrigo da luz.

2.3. Obtenção do leite e soro caprino isentos de lactose

O leite caprino *in natura* foi pasteurizado a 75 °C / 15 s, resfriado a 10 °C e adicionado de 0,07 % (v/v) de beta-galactosidase (Prozyn, São Paulo, Brasil) proveniente da levedura *Kluyveromyces lactis* com atividade de lactase de 50.000 ONPGU / g. Após incubação a 10 °C / 5 h, o leite caprino hidrolisado foi submetido a um tratamento térmico a 85 °C para inativação da enzima. O soro de leite caprino foi obtido a partir da produção de queijo de coalho. A hidrólise da lactose do soro, após tratamento térmico a 65 °C e resfriamento a 10 °C, envolveu a adição de 0,07 % (v/v) de beta-galactosidase. Após incubação a 10 °C / 5 h, o soro caprino com a lactose hidrolisada foi submetido a um tratamento térmico a 65 °C / 30 min para inativação da lactase, seguido de resfriamento a 10 °C. O teor de lactose foi avaliado conforme descrito por Burgner & Feinberg (1992), por cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando-se um cromatógrafo líquido da marca Agilent Technologies (Infinity 1260, EUA), com amostrador automático (injeção de 20 µL), sistema quaternário de solventes, forno de coluna e detector por espalhamento de luz evaporativo (ELSD). A lactose não foi detectada no soro e no leite caprinos com adição de β -

galactosidase, ambos sendo, portanto, considerados isentos de lactose (Brasil, 2017) e utilizados posteriormente nas formulações das bebidas lácteas.

2.4. Elaboração das bebidas lácteas

Foram elaboradas seis formulações de bebidas lácteas probióticas, utilizando-se soro e leite caprinos isentos de lactose, sacarose (Alegre, Mamanguape, Brasil), mistura estabilizante (65 % de amido modificado e 35 % de gelatina) (Gemacon Tech, Natal, Brasil), cultura *starter* composta por *S. thermophilus* e *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, cultura probiótica (*L. paracasei*) (Sacco, Campinas, Brasil) e polpa de jambo vermelho. As formulações constaram da variação nas concentrações de polpa de jambo congelada, liofilizada e de leite caprino isento de lactose. Adicionalmente, foi elaborada uma formulação controle (F0) na qual nenhuma polpa foi adicionada a fim de avaliar os efeitos sobre a viabilidade da cultura probiótica.

A elaboração das bebidas lácteas consistiu da adição de sacarose (10 % m/v) e da mistura estabilizante (0,6 % m/v) ao soro caprino (40 % v/v) e ao leite caprino isento de lactose (Tabela S1), e, em seguida, a mistura foi homogeneizada, pasteurizada (65 °C / 30 min) e resfriada a 42 °C, quando foram adicionados os inóculos da cultura *starter* (0,5 % v/v) e da probiótica (1 % v/v) previamente preparados. As bases lácteas obtidas foram incubadas em estufa (Tecnal, São Paulo, Brasil) a 42°C até atingir o pH 4,6 (aproximadamente 4 h). Posteriormente, foram resfriadas a 10 °C e adicionadas de diferentes concentrações de polpa de jambo congelada 12 %, 15 % e 18 % (m/v) que foram previamente descongeladas em temperatura de refrigeração a 5 °C / 15 h, e de polpa liofilizada 3 %, 6 % e 9 % (m/v), correspondendo às formulações F1, F2, F3, F4, F5 e F6, respectivamente. As bebidas foram acondicionadas em embalagens de polietileno esterilizadas, com capacidade de 900 mL, cor rosa, e armazenadas a 5 °C / 28 dias para análises posteriores, a serem realizadas em diferentes intervalos de tempo (1, 7, 14, 21 e 28 dias).

2.5. Análises físico-químicas e de compostos bioativos das formulações

As diferentes formulações de bebidas lácteas elaboradas foram inicialmente caracterizadas através das análises de lipídios (AOAC 2000.18), proteínas (AOAC 939.02), açúcares redutores (AOAC 923.09), cinzas (AOAC 930.22) e umidade (AOAC 950.46).

Durante o armazenamento refrigerado (1, 7, 14, 21 e 28 dias) foram realizadas análises de pH (AOAC 947.05), acidez total (AOAC 920.124), ácido ascórbico (AOAC 967.21) (AOAC, 2000) e índice de sinérese (Riener, Noci, Cronin, Morgan, & Lyng, 2010). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.6. Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante das formulações

2.6.1. Obtenção dos extratos

A determinação de compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e de flavonoides amarelos foi realizada com base em testes preliminares, diluindo-se 5 g das formulações elaboradas com polpa congelada e liofilizada em 25 mL etanol/ água destilada (70: 30 v/v) (Neon, São Paulo, Brasil). Após homogeneização, os extratos foram acondicionados em tubos de centrífuga do tipo *Falcon* de 50 mL onde permaneceram ao abrigo da luz a 8 ± 2 °C por 24 h. Transcorrido este período, os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo e posteriormente analisados.

2.6.2. Determinação de compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e flavonoides amarelos

O conteúdo de compostos fenólicos totais foi determinado usando o método de Folin-Ciocalteu de acordo com Obanda, Owuor, & Taylor (1997) e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por cem gramas da amostra (mg EAG 100g⁻¹). O conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT) foi determinado por diferença de pH, conforme descrito por Giusti & Wrolstad (2001) e calculado como apresentado na Equação 1.

$$AMT = A \times MW \times 1000 / (\epsilon \times C) \quad (1)$$

Sendo:

A: Absorbância (A_{510nm} - A_{700nm}) pH 1,0 - (A_{510nm} - A_{700nm}) pH 4,5;

MW: massa molecular da cianidina-3-glicosídeo = 490 g mol⁻¹;

ϵ : Absortividade molar de cianidina-3-glicosídeo = 26900 M⁻¹ cm⁻¹;

C: Concentração do tampão (mg mL⁻¹)

A análise de flavonoides amarelos foi realizada segundo metodologia proposta por Francis (1982) e os resultados foram expressos em miligramas por cem gramas de amostra ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$). Todas as análises foram realizadas em triplicata em espectrofotômetro digital (modelo 722N, Edutec, São Paulo, Brasil), durante todo o período de armazenamento das bebidas (1, 7, 14, 21 e 28 dias). A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nas amostras em desativar o radical estável DPPH•, segundo metodologia descrita por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995) e os resultados calculados em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil).

2.7. Análises microbiológicas das formulações de bebida láctea

As formulações elaboradas foram inicialmente submetidas às análises de coliformes totais e a 45 °C (NMP mL^{-1}) e pesquisa de *Salmonella* spp, (APHA, 2001), enquanto a viabilidade das bactérias lácticas foi determinada durante todo o período de armazenamento das bebidas (1, 7, 14, 21 e 28 dias). *L. paracasei* foi enumerado em profundidade, utilizando o meio de cultura ágar MRS acrescido de propionato de sódio (0,3 % m/v) e cloreto de lítio (0,2 % m/v) em anaerobiose a 37 °C / 72 h, conforme descrito por Vinderola & Reinheimer (2000). *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foi cultivado em profundidade em meio ágar MRS em anaerobiose a 45 °C / 48h, e *Streptococcus thermophilus* cultivado em superfície no meio ágar M-17 a 45 °C / 24 h em condições de aerobiose conforme proposto por Pimentel, Garcia, & Prudencio (2012).

2.8. Análises sensoriais

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (número do parecer: 2.063.798/ CAAE: 65937117.3.0000.5537). As diferentes formulações desenvolvidas foram submetidas ao teste de aceitação e intenção de compra, durante todo o período de armazenamento (1, 7, 14, 21 e 28 dias), sendo considerado como critério de aceitação global a média $\geq 7,0$ (escala hedônica).

A intenção de compra foi avaliada por meio de escala de cinco pontos (5 = certamente compraria; 1 = certamente não compraria) e os atributos, cor, aroma, consistência, sabor e aceitação global através de teste afetivo laboratorial com uso de escala hedônica de nove

pontos (9 = gostei muitíssimo, 1 = desgostei muitíssimo) (Meilgaard, Civille, & Carr, 1991). As análises foram realizadas com os mesmos julgadores (n=57), durante todo o período de armazenamento de avaliação das bebidas. Ambos os testes sensoriais foram realizados a partir de cerca de 25 mL das formulações que foram servidas em copos descartáveis de 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos. Foram oferecidos aos julgadores biscoitos tipo *cream cracker* e água mineral para eliminar o sabor residual entre as amostras.

2.9. Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos foram realizados empregando o delineamento inteiramente casualizado (DIC) e os resultados analisados por análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % de significância.

A análise de componentes principais (ACP) foi realizada com os compostos bioativos e os parâmetros sensoriais do 1º e 28º dias de armazenamento através dos preceitos metodológicos estabelecidos por Sneath & Sokal (1973), a fim de auxiliar na definição da concentração de polpa mais apropriada para obtenção das bebidas. Os componentes principais foram obtidos pela matriz de correlação utilizando-se o método de rotação ortogonal varimax, visando conferir aos fatores maior potencial de interpretabilidade.

Empregou-se o software Statistica versão 7.0 (Statsoft, Tulsa, EUA) para a realização da ANOVA e da ACP.

3. Resultados e discussões

3.1. Caracterização físico-química das formulações

Os maiores teores de lipídeos, proteínas e açúcares redutores foram observados nas formulações de bebidas com maiores concentrações de leite caprino, enquanto os teores de cinzas foram superiores nas formulações com maior concentração de polpa liofilizada ($P < 0,05$) (Tabela 1). Estes resultados são esperados tendo em vista que os frutos normalmente são fontes de minerais, apresentam elevada atividade de água e um baixo teor de proteínas e gordura. Teores semelhantes de lipídeos e cinzas e inferiores de proteínas foram relatados por Buriti et al. (2014) em bebida láctea probiótica caprina elaborada com adição de polpa de goiaba.

Tabela 1 – Caracterização físico-química¹ das formulações de bebida láctea caprina probiótica isenta de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada).

Componentes	Formulações					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Umidade	80,77 ^b ±0,01	81,31 ^a ±0,03	81,74 ^a ±0,03	78,65 ^c ±0,33	77,59 ^d ±0,22	75,22 ^e ±0,2
Açúcares redutores	17,09 ^{ab} ±0,05	15,00 ^{ab} ±0,05	13,86 ^b ±0,06	18,55 ^a ±2,78	16,25 ^{ab} ±1,61	14,14 ^{ab} ±1,7
Proteínas	2,40 ^c ±0,02	2,22 ^d ±0,11	2,04 ^e ±0,02	2,95 ^a ±0,04	2,83 ^{ab} ±0,06	2,74 ^b ±0,03
Lipídeos	1,26 ^b ±0,05	1,22 ^b ±0,01	1,17 ^b ±0,01	1,47 ^a ±0,08	1,44 ^a ±0,03	1,41 ^a ±0,10
Cinzas	0,45 ^d ±0,02	0,46 ^d ±0,01	0,47 ^d ±0,03	0,59 ^c ±0,01	0,77 ^b ±0,01	0,87 ^a ±0,02

¹ Resultados expressos em percentual (mg 100 g⁻¹). F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey (P < 0,05). Média ± desvio padrão, n = 3.

As formulações F4, F5 e F6 apresentaram teores de proteínas, gordura e cinzas significativamente superiores (P < 0,05) a F1, F2 e F3 (Tabela 1) como resultado das diferentes composições das polpas, submetidas ao congelamento ou à liofilização. Semelhantemente, Bezerra, Araújo, Santos & Correia (2015) haviam reportado valores mais elevados de açúcares redutores e cinzas em frozen iogurte probiótico caprino com adição de polpa de jambolão em pó, em relação ao adicionado de polpa de jambolão congelada.

O teor de umidade das formulações elaboradas com a polpa de jambo congelada foi mais elevado com o aumento de sua concentração (F3 > F2 > F1), enquanto o oposto foi observado para as bebidas formuladas com a polpa liofilizada (F6 < F5 < F4). Verificou-se, ainda, que de modo geral as bebidas com adição da polpa de jambo congelada apresentaram teor de umidade superior (P < 0,05) à das formulações contendo a polpa liofilizada (Tabela 1). Estes valores inferiores são esperados e decorrentes do processo de obtenção da polpa liofilizada adicionada às bebidas, que apresentou 8,75 % de umidade em relação a 91,09 % de umidade da polpa congelada (artigo submetido).

Os valores de pH e acidez total das bebidas lácteas formuladas com diferentes proporções de polpa diferiram significativamente (P < 0,05). Os valores de pH diminuíram (p < 0,05) e a acidez total aumentou em relação às diferentes concentrações de leite caprino utilizadas e ao tipo da polpa adicionada durante o armazenamento (Tabela 2), o que também foi verificado por Gomes et al. (2013), em análise de bebida láctea caprina formulada com adição de gelatina de goiaba durante o período de armazenamento (28 dias), e por Vénica,

Wolf, Bergamini, & Perotti (2016) em iogurte com reduzido teor de lactose, utilizando *Lactobacillus acidophilus* La-5 como cultura probiótica durante 21 dias.

Tabela 2 – Valores de pH, acidez total e índice de sinérese (%) de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.

		1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
pH	F1	4,58 ^{Aa} ±0,06	4,54 ^{ABa} ±0,02	4,51 ^{Ba} ±0,01	4,30 ^{Ca} ±0,02	4,25 ^{Ca} ±0,07
	F2	4,56 ^{Aab} ±0,01	4,52 ^{ABa} ±0,02	4,50 ^{Ba} ±0,03	4,24 ^{Cb} ±0,02	4,17 ^{Dab} ±0,02
	F3	4,54 ^{Ab} ±0,13	4,52 ^{Ba} ±0,07	4,50 ^{Ba} ±0,06	4,19 ^{Cc} ±0,03	4,10 ^{Dbc} ±0,01
	F4	4,46 ^{Ac} ±0,01	4,32 ^{Bb} ±0,03	4,26 ^{Cb} ±0,01	4,21 ^{Dbc} ±0,01	4,11 ^{Ebc} ±0,01
	F5	4,42 ^{Ad} ±0,01	4,29 ^{Bbc} ±0,01	4,21 ^{Cc} ±0,06	4,12 ^{Dd} ±0,02	4,08 ^{Dbc} ±0,03
	F6	4,30 ^{Ae} ±0,01	4,26 ^{Ac} ±0,01	4,18 ^{Ad} ±0,01	4,05 ^{Be} ±0,06	4,01 ^{Bd} ±0,10
Acidez total	F1	0,55 ^{Dd} ±0,01	0,57 ^{Cd} ±0,05	0,60 ^{Bd} ±0,01	0,61 ^{Ad} ±0,01	0,62 ^{Af} ±0,00
	F2	0,56 ^{Bd} ±0,01	0,58 ^{Bd} ±0,05	0,62 ^{Ac} ±0,01	0,62 ^{Ad} ±0,05	0,64 ^{Ae} ±0,01
	F3	0,60 ^{Cc} ±0,02	0,62 ^{BCc} ±0,01	0,64 ^{Bc} ±0,01	0,67 ^{Ac} ±0,01	0,68 ^{Ad} ±0,05
	F4	0,65 ^{Db} ±0,01	0,66 ^{CDb} ±0,01	0,68 ^{BCb} ±0,01	0,70 ^{ABb} ±0,01	0,71 ^{Ac} ±0,01
	F5	0,67 ^{Db} ±0,01	0,69 ^{Ca} ±0,01	0,71 ^{BCa} ±0,01	0,72 ^{ABab} ±0,01	0,74 ^{Ab} ±0,01
	F6	0,71 ^{Ba} ±0,01	0,71 ^{Ba} ±0,01	0,72 ^{Ba} ±0,01	0,73 ^{Ba} ±0,01	0,76 ^{Aa} ±0,09
Índice de sinérese	F1	47,50 ^{Aa} ±1,29	45,70 ^{ABa} ±0,53	42,32 ^{CDb} ±1,16	44,25 ^{BCb} ±0,12	41,09 ^{Db} ±1,01
	F2	49,87 ^{Aa} ±1,59	47,01 ^{Ba} ±1,00	43,90 ^{Cab} ±0,66	46,63 ^{Ba} ±0,57	47,43 ^{ABa} ±0,51
	F3	50,14 ^{Aa} ±1,62	48,33 ^{ABa} ±2,08	45,23 ^{Ca} ±1,08	47,53 ^{ABa} ±0,50	48,27 ^{ABa} ±1,42
	F4	26,90 ^{Ab} ±1,82	26,17 ^{Ab} ±1,76	26,08 ^{Ac} ±0,41	25,57 ^{Ac} ±0,51	25,93 ^{Ac} ±0,85
	F5	24,57 ^{Ab} ±0,51	24,67 ^{Ab} ±1,52	23,13 ^{ABd} ±0,81	22,67 ^{ABd} ±0,58	20,78 ^{Bd} ±1,06
	F6	16,67 ^{Ac} ±1,53	16,60 ^{Ac} ±0,69	15,77 ^{Ae} ±1,36	16,40 ^{Ae} ±0,53	15,17 ^{Ae} ±1,30

F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento das bebidas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Média ± desvio padrão, $n = 3$.

O aumento da acidez total e a redução do pH das bebidas decorreu do aumento da concentração da polpa (Tabela 2) cujo baixo pH (3,67) é característico da mesma assim como já descrito por Espírito Santo et al. (2010) em iogurte probiótico adicionado de polpa de açaí liofilizada durante 28 dias de armazenamento. Tal comportamento é interessante desde que não interfira na qualidade sensorial e nas características tecnológicas das bebidas, pois, valores de acidez mais elevados inibem o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes, prolongando a vida útil do produto (Costa et al., 2017).

As bebidas F1, F2 e F3 elaboradas com adição de polpa congelada apresentaram maior índice de sinérese ($P < 0,05$) em oposição às formulações F4, F5 e F6, adicionadas de polpa liofilizada (Tabela 2). A sinérese é um problema tecnológico e os resultados obtidos nesta

pesquisa são satisfatórios quando comparados a estudos anteriores conduzidos por Bezerra, Souza, & Correia (2012) e aos achados de Fiorentini, Ballus, Oliveira, Cunha, & Klajn (2011) que, analisando três formulações de bebidas lácteas elaboradas com concentração inferior de soro (30%) e com a combinação de diferentes culturas probióticas obtiveram valores superiores. Durante o período de armazenamento, as formulações F1, F2, F3 e F5 avaliadas apresentaram redução significativa da sinérese em função do tempo ($P < 0,05$) (Tabela 2), o que também foi reportado por Silva et al. (2017) em iogurte caprino probiótico.

3.1.2. Compostos bioativos e atividade antioxidante

As bebidas com adição da polpa liofilizada apresentaram concentração superior de compostos fenólicos totais, antocianinas totais, flavonoides amarelos e ácido ascórbico se comparadas às formulações elaboradas com a polpa de jambo congelada ($P < 0,05$) (Tabela 3). Isto sugere que o processo de liofilização empregado para obtenção das polpas em pó foi eficaz, preservando os compostos bioativos presentes na polpa utilizada na formulação das bebidas (F4, F5 e F6).

Tabela 3 – Teores de compostos fenólicos totais^{*}, antocianinas monoméricas totais^{**}, flavonoides amarelos^{***}, e ácido ascórbico^{****} presentes em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.

		1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Compostos fenólicos totais	F1	41,50 ^{At} ± 1,41	39,59 ^{Ad} ± 0,99	35,46 ^{Bd} ± 1,99	35,34 ^{Bi} ± 0,13	33,23 ^{Be} ± 0,22
	F2	44,76 ^{Ae} ± 0,55	40,73 ^{Bcd} ± 0,77	37,55 ^{Cd} ± 1,00	34,27 ^{De} ± 0,15	32,04 ^{Ee} ± 0,01
	F3	47,63 ^{Ad} ± 0,29	42,57 ^{Bc} ± 1,00	41,63 ^{Bc} ± 0,84	38,67 ^{Cd} ± 1,20	37,42 ^{Cd} ± 0,68
	F4	67,14 ^{Ac} ± 0,03	62,97 ^{Bb} ± 0,98	61,10 ^{Cb} ± 0,20	59,53 ^{Dc} ± 0,47	59,06 ^{Dc} ± 0,03
	F5	69,38 ^{Ab} ± 0,30	67,13 ^{Ba} ± 0,33	67,30 ^{Ba} ± 0,10	63,83 ^{Cb} ± 0,32	61,17 ^{Db} ± 0,17
	F6	72,08 ^{Aa} ± 0,98	68,31 ^{Ba} ± 0,35	68,11 ^{Ba} ± 0,88	67,45 ^{Ba} ± 0,75	66,03 ^{Ba} ± 0,97
Antocianinas totais	F1	8,48 ^{Ae} ± 0,25	8,41 ^{Ade} ± 0,31	7,44 ^{Be} ± 0,22	6,27 ^{Df} ± 0,21	6,13 ^{Dd} ± 0,09
	F2	8,97 ^{Ae} ± 0,12	7,89 ^{Be} ± 0,09	7,83 ^{Bde} ± 0,01	7,03 ^{Ce} ± 0,17	6,60 ^{Dd} ± 0,20
	F3	10,04 ^{Ae} ± 0,03	9,03 ^{Bd} ± 0,47	9,01 ^{Bd} ± 0,11	8,92 ^{Bd} ± 0,06	8,73 ^{Bc} ± 0,18
	F4	44,82 ^{Ac} ± 0,82	41,70 ^{Bc} ± 0,30	38,13 ^{Cc} ± 0,36	35,27 ^{Dc} ± 0,58	31,18 ^{Ed} ± 1,09
	F5	46,14 ^{Ab} ± 1,14	44,09 ^{Bb} ± 0,09	40,10 ^{Cb} ± 0,86	38,19 ^{Db} ± 0,12	36,83 ^{Da} ± 0,15
	F6	50,80 ^{Aa} ± 0,20	44,89 ^{Ba} ± 0,09	42,17 ^{Ca} ± 0,48	39,16 ^{Da} ± 0,09	37,19 ^{Ea} ± 1,01
Flavonoides amarelos	F1	1,63 ^{Ac} ± 0,02	1,62 ^{Ae} ± 0,06	1,60 ^{Ac} ± 0,03	1,58 ^{Ac} ± 0,01	1,52 ^{Ae} ± 0,05
	F2	1,74 ^{Ac} ± 0,04	1,72 ^{ABde} ± 0,06	1,64 ^{ABc} ± 0,03	1,61 ^{ABc} ± 0,06	1,57 ^{Be} ± 0,10
	F3	1,94 ^{Ac} ± 0,04	1,93 ^{Ad} ± 0,06	1,90 ^{Ac} ± 0,20	1,87 ^{A c} ± 0,02	1,84 ^{Ad} ± 0,05
	F4	4,70 ^{Ab} ± 0,90	4,33 ^{Ac} ± 0,01	4,69 ^{Ab} ± 0,63	4,61 ^{Ab} ± 0,01	4,60 ^{Ac} ± 0,01
	F5	5,24 ^{Ab} ± 0,74	5,12 ^{Ab} ± 0,07	5,10 ^{Ab} ± 0,90	5,07 ^{Ab} ± 0,17	5,02 ^{Ab} ± 0,00
	F6	6,95 ^{Aa} ± 0,85	6,83 ^{Aa} ± 0,22	6,86 ^{Aa} ± 0,17	6,78 ^{Aa} ± 0,55	6,41 ^{Aa} ± 0,09

Ácido Ascórbico	F1	9,87 ^{Ae} ±0,36	8,79 ^{Be} ±0,01	8,35 ^{B^{Ce}} ±0,06	8,21 ^{Ce} ±0,19	7,94 ^{Ce} ±0,15
	F2	10,63 ^{Ade} ±0,31	9,47 ^{Be} ±0,10	9,34 ^{Bde} ±0,08	8,73 ^{Ce} ±0,09	7,81 ^{De} ±0,22
	F3	12,23 ^{Ad} ±0,02	11,30 ^{Bd} ±0,20	10,18 ^{Cd} ±0,02	9,85 ^{Dd} ±0,01	9,81 ^{Dd} ±0,03
	F4	25,10 ^{Ac} ±0,09	24,30 ^{B^c} ±0,10	23,47 ^{Cc} ±0,01	22,19 ^{Dc} ±0,00	22,07 ^{Dc} ±0,01
	F5	33,40 ^{Ab} ±0,35	32,09 ^{Ab} ±1,00	32,83 ^{ABb} ±0,90	30,57 ^{BCb} ±0,52	30,02 ^{Cb} ±0,02
	F6	41,68 ^{Aa} ±1,36	40,23 ^{ABa} ±0,2	39,27 ^{Ba} ±0,22	38,70 ^{BCa} ±0,30	37,25 ^{Ca} ±0,15

Resultados expressos em: *mg EAG 100 g⁻¹; ** mg cianidina-3-glicosídeo 100g⁻¹; *** mg 100 g⁻¹. F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento das bebidas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey (P < 0,05). Média ± desvio padrão, n = 3.

O maior teor de compostos fenólicos das bebidas adicionadas de polpa congelada e liofilizada foi observado nas formulações F3 (47,63 mg EAG 100 g⁻¹) e F6 (72,08 mg EAG 100 g⁻¹) respectivamente. Todavia, durante 28 dias de armazenamento, as formulações apresentaram redução significativa nestes valores (P < 0,05) (Tabela 3). Este efeito pode estar relacionado com a decomposição dos compostos fenólicos poliméricos na presença de bactérias lácticas durante o armazenamento refrigerado (Cho et al., 2017), bem como com a interação entre esses compostos com as proteínas do leite, formando complexos insolúveis (Raikos, Ni, Hayes, & Ranawana, 2019). Esses resultados corroboram os relatos de Karaaslan, Ozden, Vardin, & Turkoglu (2011), que também verificaram redução no conteúdo de compostos fenólicos de iogurte adicionado de extrato de uva em decorrência do tempo de armazenamento.

O teor de antocianinas totais também diminuiu durante o período de armazenamento e diferiu significativamente entre todas as formulações avaliadas (P < 0,05) (Tabela 3). Esse efeito já era esperado, visto que as antocianinas são pigmentos altamente reativos e dependentes de fatores como pH, atividade enzimática e ação microbiana, podendo se degradar rapidamente durante o armazenamento (Raikos et al., 2019). Além disso, em produtos à base de leite, esses compostos podem formar complexos com macromoléculas, reduzindo sua disponibilidade (Geraldini, Tulini, Souza, & Martinis, 2018). Estes achados são consistentes com uma pesquisa anterior realizada por Silva et al. (2017), que obtiveram redução no teor de antocianinas totais de iogurte caprino probiótico de uva durante 28 dias de armazenamento.

Já os teores de flavonoides amarelos, com exceção da formulação F2, não foram significativamente afetados durante o armazenamento (P > 0,05) e foram os mais baixos dentre todos os compostos bioativos avaliados. Todavia, os valores encontrados

correspondem aos resultados relatados por Perna, Intaglietta, Simonetti, & Gambacorta (2014), em iogurtes formulados com a adição de mel.

Verificou-se, ainda, que as bebidas apresentaram redução significativa no conteúdo de ácido ascórbico durante o período de armazenamento ($P < 0,05$) (Tabela 3). Esse efeito possivelmente está relacionado com fatores que afetam a estabilidade do ácido ascórbico, tais como a presença de oxigênio e de enzimas, luz, pH, atividade de água (Santos & Silva, 2008), tempo de armazenamento e temperatura de refrigeração, que mesmo de forma lenta, pode promover sua degradação (Kaleem et al., 2016). Apesar dessa redução, os valores obtidos são superiores aos observados por Vosgan et al. (2016) em iogurte de cereja.

A formulação F6 com adição de 9 % de polpa de jambo liofilizada apresentou atividade antioxidante significativamente superior ($16,21 \mu\text{mol TE g}^{-1}$) à F3, com adição de 18 % de polpa de jambo congelada ($12,10 \mu\text{mol TE g}^{-1}$) ($P < 0,05$), sendo consistentes com os teores de compostos bioativos apresentados. Os resultados de ambas são, todavia, destacáveis, quando comparados à atividade antioxidante de alguns frutos tropicais (Rufino et al., 2010) e se comparados à escassez da atividade antioxidante de bebida láctea probiótica sem adição de polpa (Cheuczuk et al., 2018).

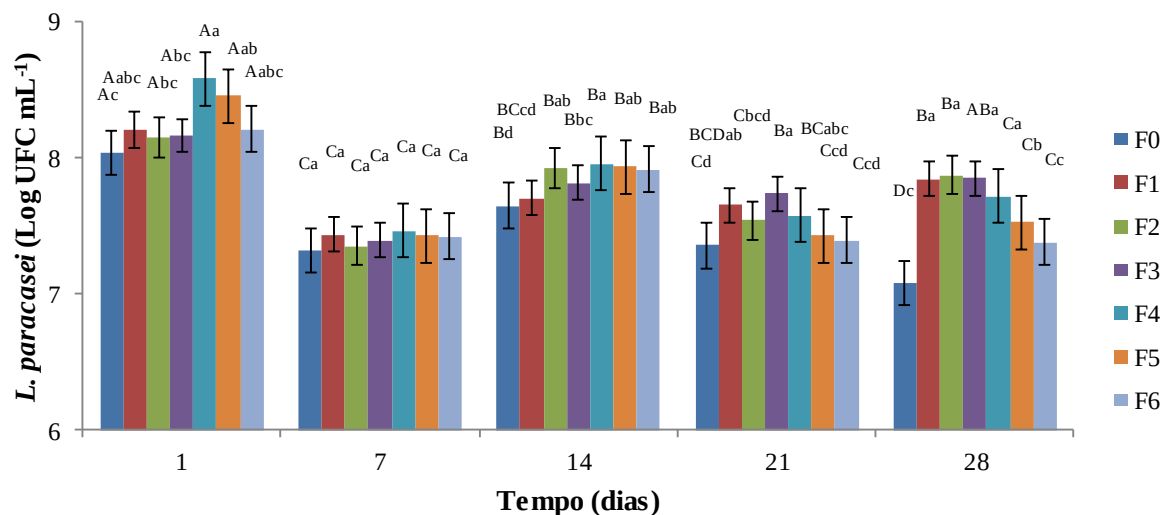
3.2. Análises microbiológicas das formulações

Não foi constatada a presença de coliformes a 35°C, a 45°C e de *Salmonella* spp, indicando eficiência no processo de pasteurização e uso das boas práticas de fabricação na elaboração das bebidas lácteas avaliadas nesta pesquisa.

A Figura 1 apresenta a contagem de células viáveis de *L. paracasei* durante o período de armazenamento refrigerado das bebidas. As contagens probióticas variaram entre 8,23 a 7,85 log UFC mL⁻¹ nas formulações com adição de polpa congelada, enquanto nas formuladas com polpa liofilizada variaram de 8,58 a 7,38 log UFC mL⁻¹ durante 28 dias de armazenamento, indicando uma redução significativa ($P < 0,05$) da cultura probiótica em decorrência do tempo, para todas as formulações testadas. Este efeito está relacionado com a redução do pH e concomitante aumento da acidez total, resultante do processo fermentativo durante o armazenamento, o que também foi relatado por outros pesquisadores (Sah et al., 2015; Kumar & Kumar, 2016). Contudo, apesar desta redução, as contagens da cultura probiótica permaneceram dentro do limite mínimo recomendado que varia entre 7 a 8 log UFC

mL⁻¹ no produto final (Shori, 2016; Ranadheera et al., 2019), enquadrando-se na categoria de alimentos funcionais, que podem promover efeitos benéficos a saúde dos consumidores.

Figura 1 – Viabilidade de *L. paracasei* em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo durante 28 dias de armazenamento.



F0 (Controle), F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes nos intervalos de tempo distintos indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento para cada bebida. Letras minúsculas diferentes no mesmo período indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Média $\pm$ desvio padrão, $n = 3$.

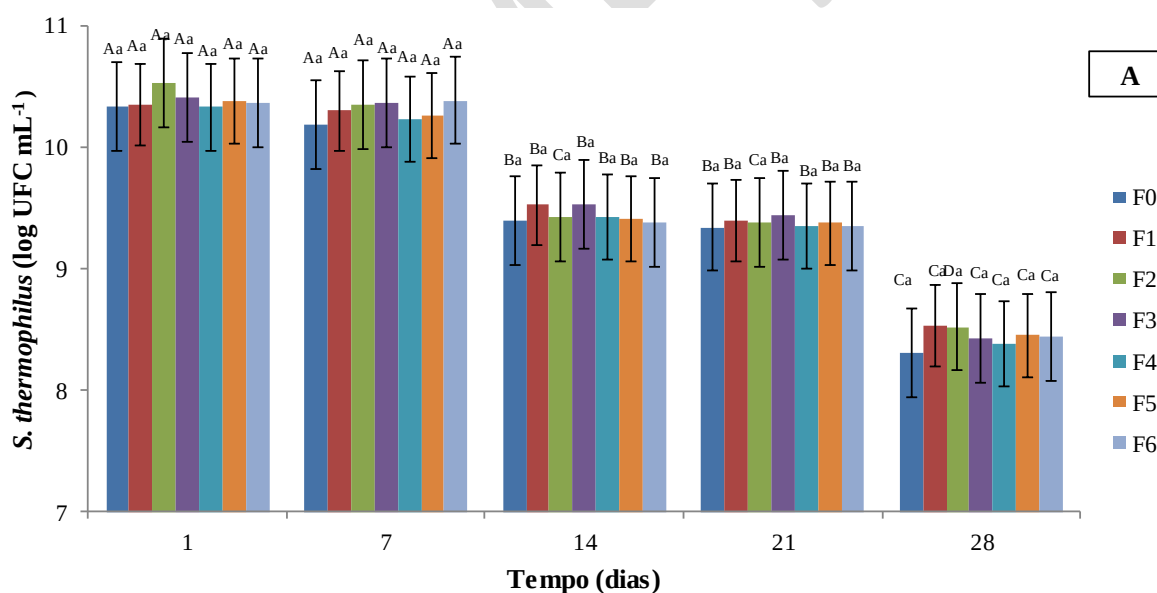
Estes resultados diferem dos relatos de Pimentel et al. (2012) que verificaram um sensível aumento na viabilidade do *L. paracasei* (*L. casei* 01) durante o mesmo período de armazenamento em iogurte desnatado elaborado com leite bovino, e aproximam-se dos achados de Andrade et al. (2019), que constataram redução na viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em bebida láctea adicionada de polpa de mamão e laranja, em decorrência do tempo, comprovando-se que a manutenção da cepa probiótica varia segundo o tipo de matriz e a cultura utilizada (Ranadheera, Evans, Adams, & Baines (2012).

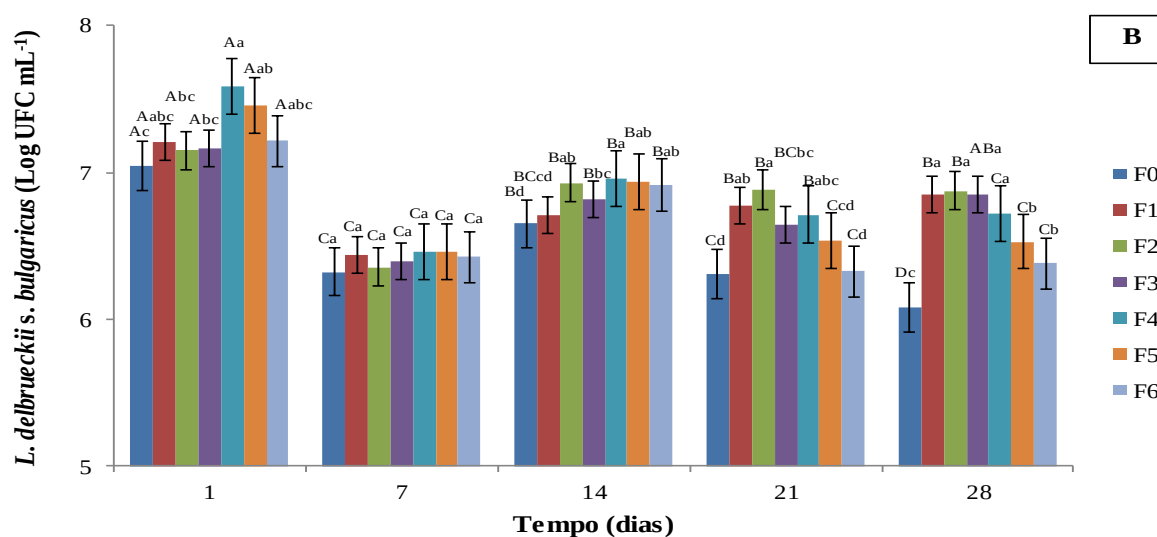
Observou-se também que a adição de polpa de jambo não apresentou influência negativa na viabilidade da cultura probiótica nem da cultura *starter* (Figura 2: A e B), tendo em vista que a amostra controle (F0) não apresentou contagens superiores ($P > 0,05$) às das formulações saborizadas. Kumar & Kumar (2016) também não observaram influência significativa da adição da polpa sobre a viabilidade da cultura probiótica quando a formulação

de iogurte probiótico elaborado com leite bovino e polpa de jambolão foi comparada com a amostra controle. Já Tabasco et al. (2011) relataram uma notável sensibilidade de *S. thermophilus* aos extratos de uvas ricas em fenólicos, apesar de nenhum efeito prejudicial sobre *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ter sido registrado.

A Figura 2 apresenta a viabilidade da cultura *starter* durante o período de armazenamento refrigerado das bebidas avaliadas nesta pesquisa. Verificou-se que, ao contrário de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, a viabilidade do *S. thermophilus* das sete formulações não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$), todavia, uma redução significativa em decorrência do tempo de armazenamento para ambas as cepas foi registrada ($P < 0,05$).

Figura 2 – Viabilidade de *S. thermophilus* (A) e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (B) em bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo durante 28 dias de armazenamento.





F0 (Controle), F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes nos intervalos de tempo distintos indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento para cada bebida. Letras minúsculas diferentes no mesmo período indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Média $\pm$ desvio padrão, $n = 3$.

As contagens médias de *S. thermophilus* das formulações com adição da polpa de jambo congelada e liofilizada reduziram no decorrer do período de armazenamento e corroboram os achados de Buriti et al. (2014), que também observaram redução significativa na viabilidade de *S. thermophilus* (T-40) em bebida láctea caprina probiótica com adição de polpa de goiaba durante 21 dias. Já as populações celulares de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foram inferiores às de *S. thermophilus*, variando de 7,21 a 6,84 log UFC mL⁻¹ nas bebidas com adição de polpa congelada, e de 7,58 a 6,38 log UFC mL⁻¹ nas adicionadas de polpa liofilizada. Sah, Vasiljevic, Mckechnie, & Donkor (2015), obtiveram resultados superiores ao analisarem iogurte elaborado com leite desnatado reconstituído contendo cultura *starter* e probiótica composta por *L. casei* (ATCC 393), *L. paracasei* (ATCC BAA52) e *L. acidophilus* (ATCC 4356). Contagens baixas de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* são, todavia, mais interessantes, visto que esta cultura é a principal responsável pela redução do pH de produtos fermentados durante o armazenamento a ponto de afetar a viabilidade da cultura probiótica (Pimentel, Garcia, & Prudencio, 2012).

3.3. Análises sensoriais

As bebidas elaboradas apresentaram diferenças significativas para os atributos cor, aroma e sabor em função do período de armazenamento e entre as formulações avaliadas ($P < 0,05$) (Tabela 4). A redução dos escores médios do atributo cor em função do tempo pode estar associada à redução na coloração devido à degradação das antocianinas presentes na polpa utilizada na saborização das bebidas, enquanto que a redução apresentada para os atributos sabor e aroma são provavelmente decorrentes do aumento da acidez dos produtos (previamente confirmada por meio da análise de acidez total das formulações), induzida pela ação das bactérias lácticas no decorrer do tempo. Estes resultados são consistentes com os achados de Silva et al. (2017), que avaliando o iogurte caprino probiótico adicionado de 15 %, 20 % e 25 % de preparado de uva durante 28 dias de armazenamento, obtiveram redução nas médias dos mesmos atributos.

Tabela 4 - Valores dos atributos cor, aroma, sabor e consistência de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.

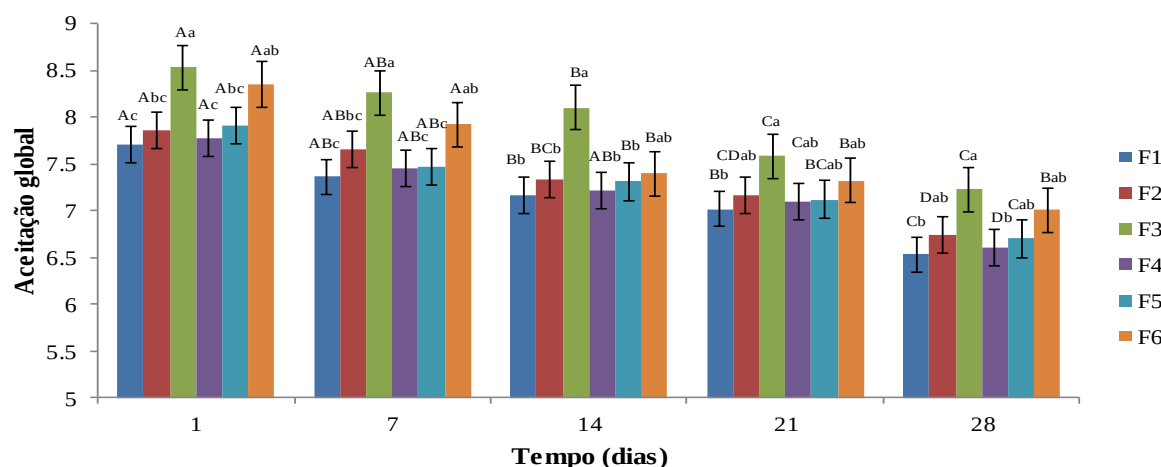
		1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias
Cor	F1	7,74 ^{Ad} ± 1,22	7,67 ^{Ac} ± 1,59	7,19 ^{ABbc} ± 0,63	6,84 ^{Bb} ± 1,06	6,67 ^{Bbc} ± 0,81
	F2	8,30 ^{Abc} ± 0,68	7,84 ^{Bbc} ± 1,03	7,42 ^{BCb} ± 0,90	7,03 ^{CDb} ± 0,75	6,81 ^{Dabc} ± 0,72
	F3	8,89 ^{Aa} ± 0,31	8,46 ^{Ba} ± 0,60	8,10 ^{Ca} ± 0,57	7,58 ^{Da} ± 0,70	7,14 ^{Ea} ± 0,66
	F4	7,98 ^{AcD} ± 1,08	7,38 ^{Bc} ± 1,14	7,03 ^{BCbc} ± 0,84	6,82 ^{Cb} ± 0,78	6,63 ^{Cc} ± 0,73
	F5	8,44 ^{Ab} ± 0,59	7,58 ^{Bc} ± 1,44	6,89 ^{Cc} ± 0,65	7,01 ^{Cb} ± 1,14	6,93 ^{Cabc} ± 0,94
	F6	8,96 ^{Aa} ± 0,18	8,38 ^{Bab} ± 0,65	7,30 ^{Cb} ± 0,80	7,16 ^{Cab} ± 0,90	7,07 ^{Cab} ± 0,70
Aroma	F1	7,44 ^{Ab} ± 1,25	7,24 ^{Ab} ± 1,30	6,98 ^{ABc} ± 0,72	6,61 ^{Bab} ± 0,99	6,56 ^{Bbc} ± 0,63
	F2	7,79 ^{Aab} ± 0,94	7,51 ^{Aab} ± 1,36	7,35 ^{Aabc} ± 0,77	6,72 ^{ABab} ± 1,30	6,70 ^{Babc} ± 0,88
	F3	7,84 ^{Aab} ± 1,01	7,73 ^{Aa} ± 0,93	7,36 ^{ABabc} ± 1,03	7,16 ^{Ba} ± 1,24	7,07 ^{Ba} ± 1,25
	F4	7,53 ^{Aab} ± 0,86	7,35 ^{Ab} ± 1,20	7,09 ^{ABc} ± 0,43	6,47 ^{Bb} ± 1,02	6,44 ^{Bb} ± 0,71
	F5	7,81 ^{Aab} ± 0,93	7,61 ^{Aab} ± 1,33	7,37 ^{ABab} ± 0,64	6,95 ^{Bab} ± 1,09	6,91 ^{Babc} ± 0,95
	F6	8,02 ^{Aa} ± 0,69	7,98 ^{Aa} ± 0,83	7,53 ^{Ba} ± 0,50	7,05 ^{Ca} ± 0,61	7,01 ^{Cab} ± 0,84
Sabor	F1	7,47 ^{Ab} ± 1,67	7,35 ^{ABc} ± 0,89	6,95 ^{ABCb} ± 0,77	6,84 ^{BCb} ± 0,70	6,51 ^{Cab} ± 0,85
	F2	7,91 ^{Aab} ± 1,07	7,51 ^{ABbc} ± 0,68	7,28 ^{Bab} ± 0,94	7,07 ^{Bab} ± 0,73	6,56 ^{Cab} ± 1,00
	F3	8,24 ^{Aa} ± 0,95	7,95 ^{ABa} ± 0,99	7,49 ^{BCa} ± 0,83	7,31 ^{CDa} ± 0,83	7,01 ^{Da} ± 0,90
	F4	7,88 ^{Aab} ± 1,00	7,72 ^{ABabc} ± 0,95	7,26 ^{Bab} ± 0,94	6,75 ^{Cb} ± 0,76	6,26 ^{Db} ± 1,04
	F5	7,93 ^{Aab} ± 0,86	7,84 ^{Aab} ± 0,62	7,15 ^{Bab} ± 1,11	6,91 ^{Bb} ± 0,66	6,89 ^{Bab} ± 1,02
	F6	8,23 ^{Aa} ± 0,98	7,88 ^{Aab} ± 0,57	7,17 ^{Bab} ± 0,85	7,09 ^{Bab} ± 0,71	6,95 ^{Ba} ± 1,06
Consistência	F1	7,70 ^{Aa} ± 0,81	7,44 ^{ABa} ± 0,69	7,35 ^{ABa} ± 0,74	7,30 ^{ABa} ± 0,59	7,10 ^{Ba} ± 0,83
	F2	7,54 ^{Aa} ± 0,78	7,33 ^{ABa} ± 1,02	7,17 ^{ABa} ± 0,91	7,14 ^{ABa} ± 0,19	7,03 ^{Ba} ± 0,34
	F3	7,51 ^{Aa} ± 0,93	7,28 ^{ABa} ± 0,64	7,14 ^{ABa} ± 0,87	7,10 ^{ABa} ± 0,72	7,02 ^{Ba} ± 0,66
	F4	7,60 ^{Aa} ± 0,54	7,49 ^{ABa} ± 0,90	7,35 ^{ABa} ± 0,91	7,19 ^{ABa} ± 0,15	7,07 ^{Ba} ± 0,24
	F5	7,72 ^{Aa} ± 0,19	7,51 ^{ABa} ± 0,56	7,42 ^{ABa} ± 1,07	7,33 ^{ABa} ± 0,47	7,17 ^{Ca} ± 0,30
	F6	7,80 ^{Aa} ± 0,35	7,60 ^{ABa} ± 1,32	7,56 ^{ABa} ± 0,93	7,47 ^{ABa} ± 0,56	7,18 ^{Ca} ± 1,10

F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento das bebidas. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Média ± desvio padrão, n = 57.

As maiores médias iniciais dentre os atributos analisados corresponderam à cor e os melhores escores foram das formulações com maior concentração de polpa congelada (F3) e liofilizada (F6). Sabor e aroma também apresentaram aumento nos escores em função do aumento da concentração de polpa de jambo. Assim, a adição das polpas resultou na cor das bebidas mais atrativa e os atributos sabor e aroma mais agradáveis, influenciando positivamente na aceitação. Já para o atributo consistência, as médias diferiram significativamente em decorrência do tempo de armazenamento, mas não entre as formulações avaliadas ($P > 0,05$). Estes resultados corroboram os reportados por Buriti et al. (2014), para os mesmos atributos em bebida láctea probiótica caprina com adição de 15 % de polpa de goiaba.

A aceitação global diminuiu significativamente em decorrência do tempo de armazenamento e diferiu entre as formulações avaliadas ($P < 0,05$). As bebidas só foram consideradas aceitas quando apresentaram médias $\geq 7,0$ para esse quesito (Costa et al., 2016). Seguindo este critério, todas as formulações apresentaram aceitação satisfatória durante 21 dias de armazenamento, todavia, a formulação F3 destacou-se das demais durante todo o período avaliado com escores variando de 8,5 a 7,2 (Figura 3). Médias de aceitação inferiores às obtidas nesta pesquisa utilizando escala hedônica de 9 pontos foram registradas por Ranadheera et al. (2012), em iogurte probiótico caprino natural e com adição de suco misto de frutas, após uma semana de armazenamento.

Figura 3 – Aceitação global de bebidas lácteas probióticas isentas de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada) durante 28 dias de armazenamento.



F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada). Letras maiúsculas diferentes nos intervalos de tempo distintos indicam diferenças significativas entre os períodos de armazenamento para cada bebida. Letras minúsculas diferentes no mesmo período indicam diferenças significativas entre as formulações pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Média $\pm$ desvio padrão, $n = 57$.

As bebidas apresentaram diferença significativa em função do período de armazenamento e entre as formulações avaliadas ($P < 0,05$) quanto à intenção de compra, sendo que a formulação F3 apresentou pontuações superiores às demais, com médias variando entre 4,72 a 4,02 durante 28 dias, correspondendo aos termos hedônicos “sempre compraria” e “compraria frequentemente”, ratificando a boa aceitação atribuída e apontando para as perspectivas de consumo, no caso de uma produção comercial. As demais formulações atingiram médias inferiores, variando entre 4,35 a 3,49. Esses resultados aproximam-se dos reportados por Silva et al. (2017), em análise de intenção de compra de iogurte caprino probiótico adicionado de 15 % de preparado de uva, durante 28 dias de armazenamento.

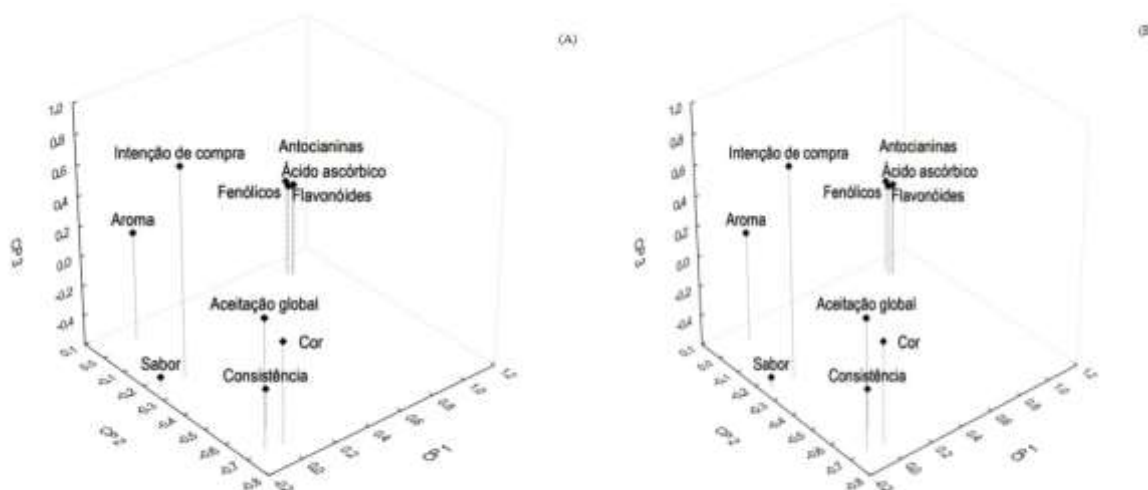
3.4. Análise Multivariada

Os quatro primeiros componentes principais contribuíram para explicar 75,67 % da variação total dos compostos bioativos e dos parâmetros sensoriais das formulações (Figura 4 A, sendo o CP1 (39,24 %), CP2 (14,99 %), CP3 (10,97 %) e CP4 (10,47 %) considerados suficientes para representar a dispersão entre as amostras no 1º dia de armazenamento refrigerado. Quatro das variáveis analisadas foram as mais importantes para a variação total no primeiro componente (CP1): compostos fenólicos totais (0,97), antocianinas monoméricas totais (0,98), flavonoides amarelos (0,99) e ácido ascórbico (0,99), pois a correlação entre essas variáveis (fator de carga) estava acima de 0,70 (Cruz & Regazzi, 2003). Já a intenção de compra e o aroma foram as variáveis sensoriais mais importantes para explicar as variações do CP3 (10,97 %) e do CP4 (10,47 %), respectivamente.

Os quatro primeiros componentes principais contribuíram para explicar 71,97 % da variação dos dados após 28 dias de armazenamento (Figura 5B), valor inferior à encontrada para o 1º dia, confirmando que ocorreram modificações nas concentrações dos compostos bioativos e nas respostas para os atributos sensoriais das bebidas ao longo do armazenamento. A variação dos dados foi distribuída entre o CP1 (37,37 %), CP2 (13,32 %), CP3 (11,24 %) e CP4 (10,0), e as variáveis pertencentes aos compostos bioativos com maior importância para a variação total também se agruparam no CP1: compostos fenólicos totais (0,89), antocianinas monoméricas totais (0,98), flavonoides amarelos (0,99) e ácido ascórbico (0,99), enquanto as variáveis mais importantes para a variação do CP2 foram o sabor (0,74) e no CP3 a aceitação

global (0,73), indicando alterações nos atributos relacionados com a qualidade sensorial das bebidas.

Figura 4- Análise de Componentes Principais (PCA) de compostos bioativos e parâmetros sensoriais do 1º dia (A) e após 28 dias (B) de armazenamento.



De acordo com Sameer, Ganguly, Khetra, & Sabikhi (2020), a quantidade máxima da variação de dados é associada ao 1º CP e progressivamente, uma menor variação é associada a outros componentes subsequentes. Nesse estudo, durante o período de armazenamento das bebidas, o CP1 associado aos compostos bioativos destacou-se como mais importante para a qualidade das bebidas em relação aos demais componentes principais relacionados aos atributos sensoriais. Pode-se, assim, a partir das ACPs realizadas, considerar que o maior teor de compostos bioativos é parâmetro suficiente para confirmar que F6 destacou-se em relação à F3, apesar desta ter apresentado aceitação global e intenção de compra superior.

4. Conclusões

As formulações de bebida láctea caprina adicionadas de polpa de jambo apresentaram características tecnológicas relevantes e destacaram-se especialmente como fonte de compostos bioativos e atividade antioxidante.

A adição de polpa de jambo vermelho nas formulações da bebida não influenciou negativamente na viabilidade de *L. paracasei*, portanto, pode ser considerada uma matriz propícia para a manutenção de viabilidade satisfatória dessa cultura probiótica.

Considera-se que a formulação F6, com a adição de 9% m/v de polpa liofilizada, é a formulação cuja concentração e o tipo de polpa são mais apropriados para obtenção da bebida.

Esta pesquisa foi a primeira a relatar a aplicação bem sucedida do *L. paracasei* associado à cultura *starter* em bebida láctea caprina isenta de lactose com adição de polpa de jambo vermelho.

Referências

- Al-Hindi, R.R., & Ghani, S.A.E. (2020). Production of functional fermented milk beverages supplemented with pomegranate peel extract and probiotic lactic acid bacteria. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-9.
- Andrade, M.R., Martins, T.R., Rosenthal, A., Hauck, J.T., & Deliza, R. (2019). Fermented milk beverage: formulation and process. *Ciência Rural*, 49,1-12.
- Antunes, A.R., Fariña, L.O., Kottwitz, L.B.M., Vasconcelos, H.L. (2021). Evaluation of antioxidant potential on fermented dairy beverages prepared with *Lactobacillus acidophilus*: A systematic review. *Brazilian Journal of Health Review*, 4, 5195-5208.
- AOAC. Association Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 12 ed. Washington D.C; 2000.
- APHA. American Public Health Association. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (4.ed.) Washington DC.
- Argenta, A.B., Nogueira, A., Scheer, A.P. (2021). Hydrolysis of whey lactose: *Kluyveromyces lactis* β -galactosidase immobilisation and integrated process hydrolysis-ultrafiltration. *International Dairy Journal*, 117, 1-6.
- Batista, A.G., Silva, J.K., Cazarin, C.B.B., Biasoto, A.C.T., Sawaya, A.C.H., Prado, M.A., et al. (2016). Red-jambo (*Syzygium malaccense*): Bioactive compounds in fruits and leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 1-8.
- Bezerra, M.F., Souza, D.F.S., & Correia, R.T.P. (2012). Acidification kinetics, physicochemical properties and sensory attributes of yoghurts prepared from mixtures of goat and buffalo milks. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 437-443.
- Bezerra, M., Araújo, A., Santos, K. & Correia, R. (2015). Caprine frozen yoghurt produced with fresh and spray dried jambolan fruit pulp (*Eugenia jambolana* Lam) and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BI-07. *LWT- Food Science and Technology*, 62, 1099-1104.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30.

BRASIL. (2017). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 135, de 8 de fevereiro de 2017. http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2955920/RDC_136_2017_.pdf/535da2bb-67f6-47a6-a2f1-befe2e4a8576. Acesso em 15.06. 2017.

Burgner, E., & Feinberg, M. (1992). Determination of mono-and disaccharides in foods by interlaboratory study: quantification of bias components for liquid chromatography. *Journal of AOAC International*, 75,443-464.

Buriti, F.C.A., Freitas, S.C., Egito, A.S., & Santos, K.M.O. (2014). 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*, 59, 196-203.

Cheuczuk, F., Rocha, L.A., Busanello, M.P., Castro-Cislaghi, F.P., & Machado-Lunkes, A. (2018). Physicochemical, antioxidant and sensory properties of fermented milk beverage with added prebiotic and caja-manga pulp. *Científica*, 46, 207-214.

Cho, W., Yeon, S., Hong, G., & Kim, J. (2017). Antioxidant activity and quality characteristics of yogurt added green olive powder during storage Tseng-Ayush, C.; LEE, C. *Korean Journal for Food Science of Animal*, 37, 865-872.

Costa, R.G., Beltrão Filho, E.M., Sousa, S., Cruz, G.R.B., Queiroga, R.C.R.E., & Cruz, E.N. (2016). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurts made from goat and cow milk. *Animal Science Journal*, 87,703-709.

Costa, K.K.F.D., Soares Júnior, M.S.S., Rosa, S.I.R., Caliari, M.C. & Pimentel T.C. (2017). Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. *LWT - Food Science and Technology*, 78, 23-30.

Cruz, C.D., & Regazzi, A.J. (2003). Biometric models applied to genetic improvement, (3rd ed.), University Press.

Espírito Santo, A.P.E., Silva, R.C., Soares, F.A.S.M., Anjos, D., Gioielli, L.A., & Oliveira, M.N. (2010). Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *International Dairy Journal*, 20,415-422.

Facioni, M.S., Raspini, B., Pivari, F., Dogliotti, E., Cena, H. (2020). Nutritional management of lactose intolerance: the importance of diet and food labelling, *Journal of Translational Medicine*, 18, 1-9.

Fiorentini, A.M., Ballus, C.A., Oliveira, M.L., Cunha, M.F., & Klajn, V.M. (2011). The influence of different combinations of probiotic bacteria and fermentation temperatures on the microbiological and physicochemical characteristics of fermented lactic beverages containing soybean hydrosoluble extract during refrigerated storage. *Food Science and Technology*, 31, 597- 607.

Francis, F. J. (1982) Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, 181-207.

Geraldi, M.V., Tulini, F.L., Souza, V.M., & Martinis, E.C.P. (2018). Development of yoghurt with juçara pulp (*Euterpe edulis* M.) and the probiotic *Lactobacillus acidophilus* La5. *Probiotics and Antimicrobial. Proteins*, 10, 71-76.

Giusti, M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. New York: John Wiley e Sons. Current Protocols in Food Analytical Chemistry.

Gomes, J.J.L., Duarte, A.M., Batista, A.S.M., Figueiredo, R.M.F., Sousa, E.P., & Souza, E.L. (2013). 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*, 54,18-24.

Granato, D., Santos, J.S., Escher, G.B., Ferreira, B.L & Maggio, R.M. (2018). Use of principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) for multivariate association between bioactive compounds and functional properties in foods: A critical perspective. *Trends in Food Science & Techology*, 72, 83-90.

Kaleem, A., Nazir, H., Pervaiz, S., Iqtedar, M., Abdullah, R., Aftab, M., et al. (2016). Investigation of the effect of temperature on vitamin C in fresh and packed fruit juices. *Fuuast Journal of Biology*, 6,117-120.

Karaaslan, M., Ozden, M., Vardin, H., & Turkoglu, H. (2011). Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 44,1065-1072.

Macwan, S.R., Dabhi, B.K., Parmar, S.C., & Aparnathi, K.D. (2016). Whey and its Utilization. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5,134-155.

Meilgaard, M., Civille, G., & Carr, B. (1999). Sensory evaluation techniques. Boca Raton: CRC Press.

Nunes, P.C., Aquino, J.S., Rockenbach, I., & Stamford, T.L.M. (2016). Physico-chemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry]. *Plos One*, 11, 1-11.

Obanda, M., Owuor, P.O., & Taylor, S.J. (1997). Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 209-15.

Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2014). Antioxidant activity of yogurt made from milk characterized by different casein haplotypes and fortified with chestnut and sulla honeys. *Journal of Dairy Science*, 97, 6662-6670.

Pimentel, T.C., Garcia, S., & Prudencio, S.H. (2012). Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65, 104-110.

Kumar, A., & Kumar, D. (2016). Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* culture. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 667-675.

Raikos, V., Ni, H., Hayes, H., & Ranawana, V. (2019). Antioxidant properties of a yogurt beverage enriched with salal (*Gaultheria shallon*) berries and blackcurrant (*Ribes nigrum*) pomace during cold storage. *Journal Beverages*, 5, 1-11.

Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C., & Baines, S.K. (2012). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135, 1411-1418.

Ranadheera, C.S.; Evans, C.A.; Baines, S.K.; Balthazar, C.F. Cruz, A.G.; Esmerino, E.A., et al. (2019). Probiotics in goat milk products: Delivery capacity and ability to improve sensory attributes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, 867-882.

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.

Rufino, M.S.N., Alves, R.E., Brito, E.S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil, *Food Chemistry*, 121, 998-1002.

Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., Mckechnie, S., & Donkor, O.N. (2015). Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel. *Journal of Dairy Science*, v. 98, 5905-5916.

Sameer, B., Ganguly, S., Khetra, Y., & Sabikhi, L. (2020). Development and characterization of probiotic buffalo milk ricotta cheese, *LWT-Food Science and Technology*, 121, 108944.

Santos, P.H.S., & Silva, M.A. (2008). Retention of vitamin C in drying processes of fruits and vegetables - A review. *Drying Technology*, 26, 1421-1437.

Silva, F.A., Oliveira, E.G., Figueiredo, R.M.F., Sampaio, K.B., Souza, E.L., Oliveira, C.E.V., et al. (2017). The effect of Isabel grape addition on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic goat milk yogurt. *Food & Function*, 8, 2121-2132.

Sneath, P.H., & Sokal, R.R. (1973). Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification, San Francisco, CA: W.H. Freeman and Company.

Tabasco, R., Sánchez-Patán, F., Monagas, M., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M., Peláez, C., et al. (2011). Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. *Food Microbiology*, 28, 1345-1352.

Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J., Frutos, M. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12, 1-18.

Vénica, C.I., Wolf, I.V., Bergamini, C.V., & Perotti, M.C. (2016). Influence of lactose hydrolysis on galacto-oligosaccharides, lactose, volatile profile and physicochemical parameters of different yogurt varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 4929-4939.

Vinderola, C.G., & Reinheimer, J.A. (2000). Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 10, 271-275.

Vosgan, Z., Dumuta, A., Mihali, C., Mihalescu, L., Dippong, T., & Moldovan, A. (2016). The influence of the fruit's addition on the quality characteristics of yogurt. *Animal Science and Biotechnologies*, 49, 86-90.

Zoellner, S.S., Cruz, A.G., Faria, J.A.R., Bolini, H.M.A., Moura, M. R. L., Carvalho, L.M.J., et al. (2009). Whey beverage with acai pulp as food carrier of probiotic bacteria. *Australian Journal of Dairy Technology*, 64, 165-169.

Tabela S1- Proporção dos ingredientes utilizados nas formulações de bebida láctea caprina probiótica isenta de lactose com adição de polpa de jambo (congelada e liofilizada).

%	Formulações						
	F0	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Sacarose	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Mistura estabilizante	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
<i>L. paracasei</i>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cultura starter	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
¹ Polpa JL	-	-	-	-	3,00	6,00	9,00
² Polpa JC	-	12,00	15,00	18,00	-	-	-
³ Soro CIL	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00	40,00
⁴ Leite CIL	47,90	35,90	32,90	29,90	44,90	41,90	38,90

¹Polpa de jambo liofilizada; ²Polpa de jambo congelada; ³Soro de leite caprino isento de lactose; ⁴Leite caprino isento de lactose. F0 (controle/ sem adição de polpa); F1, F2 e F3 (bebida láctea com adição de 12 %, 15 % e 18 % de polpa de jambo congelada); F4; F5 e F6 (bebida láctea com adição de 3 %, 6 % e 9 % de polpa de jambo liofilizada).

5 CONCLUSÕES GERAIS

As bebidas lácteas probióticas caprinas isentas de lactose com adição de polpa de jambo vermelho apresentaram viabilidade do probiótico suficiente para promover benefícios à saúde do consumidor, ao longo do período de armazenamento. Também apresentaram aceitação sensorial satisfatória, características tecnológicas relevantes, teores consideráveis de compostos bioativos e uma significativa atividade antioxidante, mostrando-se como produto promissor aos consumidores com restrições alimentares (intolerantes à lactose e alérgicos as proteínas do leite bovino). Dentre as bebidas elaboradas, F6, com adição de 9% de polpa liofilizada de jambo foi à formulação cuja concentração e o tipo de polpa resultaram nos melhores resultados. Assim, essa bebida destaca-se como alternativa para agregar maior valor econômico ao jambo vermelho, bem como para fomentar a cadeia de produtos à base de leite de cabra, sendo este o primeiro estudo a relatar a aplicação bem sucedida do *L. paracasei* associado à cultura *starter* na obtenção desse tipo de produto.

ANEXO

Certidão nº 01/2020 - CEP Central/UFRN

Certifico que o protocolo de pesquisa intitulado ***“Desenvolvimento e caracterização de bebida láctea probiótica caprina com reduzido teor de lactose, saborizada com polpa de jambo”***, CAAE nº 65937117.3.0000.5537, tendo como pesquisadora responsável a senhora Nkarthe Guerra Araújo, foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) Lagoa Nova Campus Central/UFRN, com parecer consubstanciado de aprovação nº 2.063.798 disponibilizado em 15/05/2017. Lembramos que o site da Plataforma Brasil<<http://plataformabrasil.saude.gov.br/>>, na aba “PÚBLICO”, sem a necessidade de cadastro, contém ferramenta para confirmar a autenticidade dos pareceres de aprovação e das pesquisas analisadas pelo sistema CEP/Conep.

Natal (RN), 15 de abril de 2020.



Profa. Dra. Lélia Maria Guedes Queiroz
Coordenadora do CEP Lagoa Nova Campus Central/UFRN (5537)

Comitê de Ética em Pesquisa UFRN - Lagoa Nova Campus Central (CEP Central/UFRN)
Rua das Artes, s/n. Campus Central UFRN. Lagoa Nova. Natal/RN. CEP: 59075-000.
<http://www.cep.propesq.ufrn.br> | cepufnr@reitoria.ufrn.br

+55 (84) 3215.3135 | +55 (84) 9.9193.6266