

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO

MARCIA GABRIELLE SILVA VIANA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE CREMES DE RICOTA CAPRINOS
ADICIONADOS DE CEPAS PROBIÓTICAS AUTÓCTONE E COMERCIAL**

João Pessoa

2022

MARCIA GABRIELLE SILVA VIANA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE CREMES DE RICOTA CAPRINOS
ADICIONADOS DE CEPAS PROBIÓTICAS AUTÓCTONE E COMERCIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Nutrição do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Nutrição.

Orientadora: Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira.

João Pessoa

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

V614d Viana, Marcia Gabrielle Silva.

Desenvolvimento de formulações de cremes de ricota caprinos adicionados de cepas probióticas autóctone e comercial / Marcia Gabrielle Silva Viana. - João Pessoa, 2022.

119 f. : il.

Orientação: Maria Elieidy Gomes de Oliveira.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Derivado lácteo caprino. 2. Alimentos funcionais. 3. Lactobacillus spp. 4. Soro lácteo. 5. Aspectos tecnológicos. 6. Composição nutricional. 7. Compostos voláteis. I. Oliveira, Maria Elieidy Gomes de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 637.1(043)

MARCIA GABRIELLE SILVA VIANA

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE CREMES DE RICOTA CAPRINOS
ADICIONADOS DE CEPAS PROBIÓTICAS AUTÓCTONE E COMERCIAL**

Tese aprovada em 27 de setembro de 2022

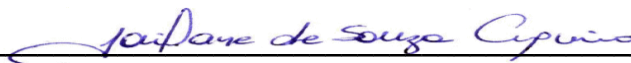
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira
Orientadora/Presidente da Banca Examinadora DN/CCS/UFPB



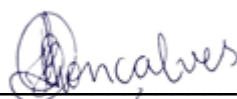
Profa. Dra. Estefânia Fernandes Garcia
Examinador Interno DG/CTDR/UFPB



Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino
Examinador Interno DN/CCS/UFPB



Profa. Dr^a. Juliana Késsia Barbosa Soares
Examinador Externo a Instituição UAS/CES/UFCG



Profa. Dr^a. Ingrid Conceição Dantas Gonçalves
Examinador Externo DG/CTDR/UFPB

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida.

Aos meus pais, Everaldo Luiz e Maria José, por me proporcionarem tudo que eu precisava para me tornar quem eu sou hoje.

Ao meu esposo, Júnior Viana, por todo amor, paciência, dedicação, renúncia e companheirismo de sempre, e em todos os momentos, inclusive pelos finais de semana no laboratório, pelas palavras de incentivo, por tornar essa jornada mais leve. Sem você nada disso seria possível.

A minha filha, Laura, que nem imagina a força e alegria que nos proporciona desde que nasceu, por toda compreensão e por sempre ser luz em meio a momentos de escuridão. Ao meu filho, João Guilherme, sinal da graça de Deus, que veio para completar nossa família e nos renovar de amor e esperança

A minha irmã, pela amizade e parceria, pelo amor incondicional e torcida.

A minha orientadora, Maria Elieidy Gomes de Oliveira, pelo exemplo de paciência, amizade e cuidado que dá diariamente a todos seus orientandos. Por entender e nos mostrar que há muito além dessa jornada.

A todos que fazem parte do laboratório de Bromatologia e Técnica Dietética, Professora Rita de Cássia Ramos do Egito Queiroga (*in memoriam*), Professora Maria Elieidy Gomes de Oliveira, aos técnicos Carlos Eduardo Vasconcelos de Oliveira, Guilherme Costa de Oliveira e Cecília Mayara Santos Feitosa, sempre tão solícitos e pacientes.

A todos que fazem parte do laboratório de Microbiologia dos Alimentos, em especial e Professora Dra. Maria de Lucia Conceição, pelo acolhimento sempre especial e disponibilidade em todos os momentos, ao Professor Dr. Evandro Leite de Souza, às técnicas Heloisa Maria Almeida do Nascimento e Sônia Paula Alexandrino de Oliveira, por toda ajuda e atenção.

A todos que fazem parte do laboratório de Genética e Radiobiologia (BIOGeR) e Proteômica Estrutural, do Departamento de Biologia Molecular, da Universidade Federal da Paraíba, em especial a Professora Tatiana Santi Gadelha e Maria Isabel Ferreira Campos, técnica do laboratório, que sempre nos receberam e ajudaram com toda dedicação e atenção.

À professora Maria Teresa Bertoldo Pacheco e todos os colaboradores do Centro de Química de Alimentos do Instituto de Tecnologia dos Alimentos (ITAL), Campinas/SP, pela valiosa parceria e contribuição na realização das análises e pela disponibilidade em auxiliar sempre que necessário.

Aos colegas de trabalho do Hospital Universitário Alcides Carneiro, que sempre me deram apoio e contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho pudesse ser realizado.

Às amigas Ilsa Cunha Barbosa, Estefânia Fernandes Garcia e Ana Maria Rampelotti, pela amizade, pelo exemplo e palavras de incentivo.

Às colegas de doutorado que de alguma forma me auxiliaram ao longo dessa caminhada, em especial Daniela Karla Vasconcelos, que compartilhou de momentos de dificuldades e vitórias.

A Ana Cristina, Jessica Moraes, Caroliny Mesquita, Sabrina, Gracy Vieira, Tammyrys Maria Dantas e todas as demais orientandas da professora Maria Elieidy, com certeza esse trabalho foi mais fácil com a parceria de vocês.

A todos os familiares, tios, tias, primos e primas, por estarem presentes na minha vida, muitas vezes trazendo momentos de alegria em meio as dificuldades desse caminho percorrido.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, pela seriedade e zelo no desenvolvimento de pesquisa científica, aos secretários Sr. Carlos e Sr. Marcos, sempre muito atenciosos.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, vocês são exemplos de dedicação e perseverança na vida acadêmica. Muito obrigada por cada palavra de incentivo e por cada crítica, com certeza tudo refletiu positivamente na qualidade do trabalho.

Aos componentes das bancas, tanto de qualificação quanto de defesa, pela valiosa contribuição para aprimoramento do trabalho.

A todos os que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O aumento da preocupação dos consumidores em ingerir alimentos saudáveis tem impulsionado a procura por alimentos que proporcionem benefícios a saúde, entre eles os probióticos. Seguindo a tendência do mercado de desenvolver produtos com alegações funcionais e de saúde, surge o interesse no desenvolvimento de creme de ricota caprino adicionadas de cepa autóctone *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 ou de cepa comercial *Lactobacillus acidophilus* La-5, objetivando-se avaliar a influência desses micro-organismos nas características tecnológicas, nutricionais, microbiológicas e sensoriais do produto ao longo do armazenamento refrigerado. Foram elaborados três tipos de creme de ricota caprino: CRC - creme de ricota controle, elaborado sem a adição de cultura probiótica, CRLM - creme de ricota adicionado da bactéria probiótica autóctone *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 e CRLA - creme de ricota adicionado da cultura probiótica comercial *Lactobacillus acidophilus* La-5. As amostras foram caracterizadas quanto às variáveis tecnológicas, físicas, físico-químicas, química, microbiológicas nos dias 1, 14 e 28 e quanto às variáveis sensoriais nos dias 1, 7 e 14 de armazenamento refrigerado. Todas as análises foram realizadas em triplicata. A adição de cepas probióticas não interferiu no rendimento do produto. Com relação a cor, as amostras com adição de probióticos apresentaram maior luminosidade (L^*) e menor tendência a coloração esverdeada. Todas as amostras tiveram a cor amarela intensificada durante o armazenamento. A presença de micro-organismos probióticos influenciou apenas na adesividade, que foi menor no CRLM ($-533,70 \pm 35,84$). No que se refere aos parâmetros físicos e físico-químicos, foi observado aumento da acidez, com concomitante redução do pH e do teor de lactose, assim como aumento do teor de ácido láctico. Todas as formulações contendo a cepa autóctone e a cepa comercial exibiram número de células viáveis superiores a 6 log UFC/g ao longo dos 28 dias de armazenamento refrigerado. A amostra CRLM apresentou maior proteólise em profundidade, passou de $1,92 \pm 0,01$ a $5,24 \pm 0,16$, com liberação de um maior número de aminoácidos livres. A adição de cepas probióticas melhorou o perfil volatilômico e características sensoriais das formulações de creme de ricota. Eles demonstram a viabilidade do uso de cepas probióticas em derivado lácteo caprino fermentado com grande potencial para minimizar os odores relacionados a baixa aceitação de produtos caprinos.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. *Lactobacillus* spp. Soro lácteo. Derivado lácteo caprino. Aspectos tecnológicos. Composição nutricional. Voláteis.

ABSTRACT

Increasing concern of consumers to eat healthy foods has driven the search for foods that provide health benefits, including probiotics. Following the market trend in the development of products with functional and health claims, increase the interest in development of ricotta cream added to the autochthonous ricotta cream *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 or the commercial strain *Lactobacillus acidophilus* La-5, with the objective of evaluating the influence of these micro-organisms in the technological, nutritional, microbiological and sensorial characteristics of the product throughout the refrigerated period. Three types of goat ricotta cream were obtained: CRC - control ricotta cream, prepared without the addition of probiotic culture, RCLM - ricotta cream added from the autochthonous probiotic bacteria *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 and RCLA - ricotta cream added from the commercial probiotic culture *Lactobacillus acidophilus* La-5. The samples were characterized for technological, physical, physical-chemical, chemical, microbiological and sensory variables on days 1, 14 and 28 of refrigerated storage. All analyzes were performed in triplicate. Goat ricotta creams made with and without probiotic strains showed similar characteristics. The presence of probiotic bacteria did not influence the product yield. All samples presented high luminosity, greenish color and a tendency to yellow, probably due to the heating steps during processing. The addition of probiotic bacteria influenced the adhesiveness, that was lower in RCLM ($-533,70 \pm 35,84$). Regarding the physical and physicochemical parameters, an increase in acidity was observed, with a concomitant reduction in pH and lactose content, as well as an increase in lactic acid content. All formulations containing the autochthonous strain and the commercial strain exhibited viable cell numbers greater than 6 log CFU/g over the 28 days of cold storage. The RCLM sample showed greater proteolysis in depth, going from 1.92 ± 0.01 to 5.24 ± 0.16 , with the release of a greater number of free amino acids. The addition of probiotic strains improved the volatilomic profile and sensory characteristics of ricotta cream formulations. They demonstrate the feasibility of using probiotic strains in fermented goat dairy products with great potential to minimize odors related to low acceptance of goat products.

Keywords: Functional foods. *Lactobacillus* spp. Whey. Goat dairy products. Technological parameters. Nutritional composition. Volatile.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA TESE

Figura 1 – Componentes bioativos presentes no leite caprino e principais benefícios associados.....	20
Figura 2 – Delineamento experimental	28
Figura 3 – Fluxograma de processamento para obtenção do soro de leite caprino.....	29
Figura 4 – Fluxograma de elaboração do creme de ricota adicionado de cepas probióticas...	29

FIGURAS DO ARTIGO 1

Figura 1. Fluxograma de processamento de creme de ricota adicionado de cepas probióticas.....	81
Figura 2. Eletroforese em gel das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 28 dias sob refrigeração.....	82
Figura 3. Viabilidade do probiótico <i>L. acidophilus</i> La-5 e <i>L.mucosae</i> CNPC 007 no creme de ricota caprino durante armazenamento refrigerado.	83

FIGURAS DO ARTIGO 2

Figura 1. Fluxograma de processamento de creme de ricota adicionado de cepas probióticas.....	108
Figura 2. Comparação dos resultados do JAR para os diferentes atributos entre as formulações de creme de ricota caprino.....	109
Figura 3. Análise de componente principal (ACP) de correlação entre a percepção dos avaliadores em relação a algumas características específicas das formulações de creme de ricota (n=3) durante os tempos 1, 7 e 14 dias de armazenamento refrigerado.....	110

LISTA DE TABELAS

TABELAS ARTIGO 1

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão para os parâmetros tecnológicos das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 21 dias sob refrigeração.....	84
Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão para os parâmetros físicos e físico-químicos das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 21 dias sob refrigeração.....	85
Tabela 3. Valores médios $\pm$ desvio padrão para lactose e ácidos orgânicos das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 21 dias sob refrigeração.....	86
Tabela 4. Valores médios $\pm$ desvio padrão do teor de proteínas solúveis, índice de proteólise em extensão e índice de proteólise em profundidade das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 21 dias sob refrigeração.....	87
Tabela 5. Valores médios $\pm$ desvio padrão para o teor de aminoácidos livres (FAA; mg/100 g) das formulações de creme de ricota caprino armazenadas durante 21 dias sob refrigeração.....	88

TABELAS DO ARTIGO 2

Tabela 1. Perfil de compostos voláteis (AU x 10 ⁵) de formulações de creme de ricota caprino armazenadas por 14 dias sob refrigeração.....	111
Tabela 2. Aceitação sensorial de amostras de creme de ricota com e sem adição de cepas probióticas no tempo 7 de armazenamento refrigerado.....	112

LISTA DE QUADROS

QUADROS DA TESE

Quadro 1 – Percentual de lipídeos, proteínas e lactose de leite de diferentes espécies animais	18
Quadro 2 – Composição proteica do soro de leite de diferentes espécies animais	21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 PROBIÓTICOS	13
2.1.1 <i>Limosilactobacillus mucosae</i>	14
2.2 LEITE E SORO DE LEITE CAPRINO NO DESENVOLVIMENTO DE DERIVADOS LÁCTEOS	16
2.2.1 Panorama da caprinocultura	16
2.2.2 Características do leite e soro de leite caprino	18
2.3 QUEIJOS COMO CARREADORES DE CEPAS PROBIÓTICAS	22
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO	26
3.2 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS	26
3.3 PREPARAÇÃO DO INÓCULO	27
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
3.5 OBTENÇÃO DO SORO DE LEITE E ELABORAÇÃO DO CREME DE RICOTA CAPRINO	28
3.6 CARACTERIZAÇÃO DO CREME DE RICOTA CAPRINO	30
3.6.1 Avaliação das propriedades tecnológicas	30
3.6.1.1 <i>Rendimento</i>	30
3.6.1.2 <i>Avaliação da Textura Instrumental</i>	30
3.6.1.3 <i>Cor Instrumental</i>	30
3.6.2 Determinação das características físicas e físico-químicas	31
3.6.3 Perfil químico	31
3.6.3.1 <i>Perfil aromático</i>	31
3.6.3.3 <i>Perfil proteico</i>	32
3.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	34
3.7.1 Controle de qualidade	34
3.7.2 Viabilidade das células probióticas durante vida de prateleira	34
3.8 ANÁLISE SENSORIAL	35
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4 RESULTADOS	38
REFERÊNCIAS	39

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE	
.....	49
APENDICE B – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL – TESTE JAR OU ESCALA DO IDEAL	
.....	51
APENDICE C – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL – TESTE DE ACEITAÇÃO, ORDENAÇÃO DE PREFERÊNCIA E INTENÇÃO DE COMPRA	
.....	54
APENDICE D – ARTIGO 1	
.....	56
APENDICE E – ARTIGO 2	
.....	90
ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA	
.....	113
ANEXO B - COMPROVANTE DE DEPÓSITO DE PATENTE	
.....	115

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação dos consumidores com relação à saúde tem levado a uma intensa busca e maior investimento em alimentos que não sejam apenas seguros e nutricionalmente adequados, mas que possam proporcionar também benefícios à saúde (REQUE; BRANDELLI, 2021). Devido a este fato, os alimentos funcionais vêm sendo apontados como uma das áreas de maior destaque e inovação na indústria de alimentos (BARBOSA *et al.*, 2016). Dentre esses alimentos, os probióticos têm se destacado por ser uma opção de relevância (MORAES *et al.*, 2018; MISRA; PANDEY; MISHRA, 2021), tendo em vista sua influência positiva na saúde dos consumidores a partir de variados mecanismos de ação (DE MORAIS *et al.*, 2022).

O conceito de probióticos, internacionalmente aceito, é de que são micro-organismos vivos, que quando ingeridos em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL *et al.*, 2014). Para que sejam classificadas como probióticas, as bactérias devem apresentar algumas características importantes como resistência às condições prevalentes no trato gastrointestinal, capacidade de adesão à mucosa intestinal e produção de compostos antimicrobianos (PEREIRA *et al.*, 2018).

Alguns benefícios têm sido associados à suplementação com probióticos, como efeito anti-hipertensivo, tanto em modelos animais quanto em pacientes hipertensos (GRYLLS; SEIDLER; NEIL, 2021), melhoria do sistema imunológico (SON *et al.*, 2018), efeito anticarcinogênico (BEDADA *et al.*, 2020; FAGHFOORI *et al.*, 2015), melhora da saúde gastrointestinal e absorção de nutrientes, regulação da microbiota intestinal, inibição da infecção ou colonização intestinal por patógenos (WANG; ZHANG; ZHANG, 2021), potencial antioxidante e antimicrobiano (KADYAN *et al.*, 2021) e alteração no metabolismo da glicose, favorecendo redução da glicemia em pacientes diabéticos (WANG *et al.*, 2021).

De uma forma geral, os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os gêneros mais frequentemente utilizados como probióticos em matrizes alimentares e associados a efeitos favoráveis à saúde do consumidor (SILVA *et al.*, 2022). Em estudo recente, cepas de *Limosilactobacillus mucosae* foram isoladas de amostras de leite de cabra, além disso, em testes *in vitro* apresentaram potencial probiótico, com destaque para a cepa *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (MORAES *et al.*, 2017), despertando interesse em utilizá-las na elaboração de novos produtos caprinos (MORAES *et al.*, 2018).

Por seus efeitos benéficos à saúde e boa aceitação sensorial, a demanda por produtos lácteos fermentados vem crescendo (DE SANTIS *et al.*, 2019). Na literatura é possível constatar

que os alimentos mais comumente utilizados como matrizes para veicular bactérias probióticas são os iogurtes e leites fermentados (NYANZI; JOOSTE; BUYS, 2021). No entanto, alguns estudos vêm apontando o queijo como um bom veículo para esses micro-organismos, com potencial tecnológico e funcional semelhante a outros produtos lácteos fermentados (ROLIM *et al.*, 2015; KISAN *et al.*, 2021). A adição de culturas probióticas em queijos é uma forma de agregar qualidade nutricional ao produto, além dos benefícios à saúde do consumidor, a adição dessas culturas pode melhorar a qualidade tecnológica e sensorial dessa matriz alimentar (LOPES *et al.*, 2021).

O leite caprino é um alimento com elevado valor nutritivo (VERRUCK; DANTAS; PRUDENCIO, 2019), entretanto a caprinocultura na região do semiárido nordestino brasileiro apresenta obstáculos que dificultam sua sustentabilidade, como a falta de tecnologias de processamento dos produtos derivados e a influência do *flavor* na aceitabilidade do produto (QUEIROGA *et al.*, 2013; BEZERRIL *et al.*, 2022), sendo alguns dos ácidos graxos que compõem a gordura do leite os responsáveis pelo odor forte (BEZERRA *et al.*, 2017; SOUZA; DIAS, 2017). Desta forma, para que ocorra um aumento do consumo de leite de cabra, é necessário o desenvolvimento de novos produtos fermentados derivados caprinos (SOUZA; DIAS, 2017).

O creme de ricota é obtido da homogeneização do queijo de ricota com outros ingredientes, possui consistência suave, podendo potencialmente servir de carreador para bactérias probióticas (BURITI *et al.*, 2007). A elaboração de creme de ricota caprino adicionado de cultura autóctone isolada de leite de cabra com potencial probiótico pode ser uma alternativa para favorecer a recuperação da economia regional, através da geração de tecnologias e capacitação dos produtores rurais, assim como atender às exigências do mercado consumidor em potencial.

Neste contexto, o presente estudo representa uma possibilidade de obtenção de informações ainda escassas na literatura científica, no que diz respeito à tecnologia de fabricação de creme de ricota caprino com potencial probiótico adicionado da cepa autóctone *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 e avaliar a influência desta cepa nas características tecnológicas, nutricionais, microbiológicas e sensoriais do produto. Dessa forma, constam como objetivos específicos a elaboração do creme de ricota caprino adicionado de cepa probiótica comercial e autóctone, caracterização das variáveis tecnológicas, físico-químicas, químicas, microbiológicas durante 28 dias de armazenamento e sensoriais do creme de ricota armazenado durante 14 dias sob refrigeração.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PROBIÓTICOS

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL *et al.*, 2014). Para serem classificados como probióticos, os micro-organismos devem permanecer viáveis em quantidade suficiente, durante inoculação, processamento e armazenamento do produto (REQUE; BRANDELLI, 2021), além de apresentar algumas características relevantes, como resistência às condições do trato gastrointestinal, à presença de sais biliares, ao baixo pH, capacidade de adesão ao epitélio intestinal e colonização do mesmo (PEREIRA *et al.*, 2018). Esses micro-organismos são seguros ao hospedeiro, geralmente não apresentam nenhum tipo de efeito adverso à saúde (ROLIM *et al.*, 2020).

Esses micro-organismos podem influenciar a composição da microbiota intestinal, desempenhando assim atividades importantes na melhora da saúde digestiva e imunológica (SON *et al.*, 2018; WANG; ZHANG; ZHANG, 2021), com efeitos específicos associados a cada cepa. Entre os benefícios citados na literatura relacionados a ingestão de probióticos podemos destacar redução nos níveis séricos de colesterol, diminuição da intolerância à lactose, efeito antimutagênico em diferentes estágios da carcinogênese, redução da inflamação, prevenção do câncer de cólon (AMBALAM *et al.*, 2016; TERPOU *et al.*, 2019), produção de metabólitos antimicrobianos e síntese de vitaminas do complexo B (KIM *et al.*, 2018).

Experimentos *in vitro* e *in vivo*, em tecidos animais, mostraram que micro-organismos probióticos são capazes de inibir a toxicidade de alguns contaminantes químicos, como metais pesados e pesticidas organofosforados pela inibição da absorção intestinal desses compostos (FENG *et al.*, 2019).

As indústrias têm investido esforços no desenvolvimento de sistemas para carrear micro-organismos probióticos, tanto em fórmulas farmacêuticas, como em alimentos. O consumo de alimentos probióticos tem sido associado à proteção contra infecções, redução de riscos de doenças, melhora da resposta imunológica, ação antioxidante, promoção do bem-estar e saúde do hospedeiro (GRYLLS; SEIDLER; NEIL, 2021; KADYAN *et al.*, 2021; WANG; ZHANG; ZHANG, 2021; XIAOMIN *et al.*, 2016).

Bifidobacterium e *Lactobacillus* são os probióticos mais comumente estudados no desenvolvimento de alimentos funcionais, por apresentarem satisfatória estabilidade e sobrevivência às condições do trato gastrointestinal (ROLIM *et al.*, 2020). As cepas

Bifidobacterium lactis BB12 e *Lactobacillus acidophilus* La-5 são as cepas comercialmente disponíveis mais comumente utilizadas na fermentação de produtos lácteos (AMIRI *et al.*, 2020). As bactérias do gênero *Lactobacillus* apresentam capacidade de favorecer a conservação dos alimentos e consequentemente, proteger contra as doenças transmitidas por alimentos (VALAN ARASU *et al.*, 2013). *Lactobacillus acidophilus* são bactérias Gram-positivas, não formadoras de esporos. Inicialmente isolada por Moro em 1900, a partir de fezes de crianças. Hoje, já é reconhecidamente uma das espécies com maior potencial para promover efeitos benéficos ao trato gastrointestinal (SELLE; KLAENHAMMER; RUSSELL, 2014)

O foco de novas pesquisas tem sido buscar isolar de produtos alimentícios, crus ou fermentados, novas cepas autóctones probióticas que apresentem potencial para serem usados na tecnologia de alimentos (MORAES *et al.*, 2017).

Em levantamento de dados realizados por Torres *et al.* (2020), vários micro-organismos considerados autóctones, previamente isolados de vegetais crus ou subprodutos, têm sido utilizados na fermentação de produtos à base de vegetais. Muitas destas cepas além de atuarem como cultura *starter* também são consideradas probióticas, proporcionando assim todos os benefícios associados ao consumo de probióticos. Renes *et al.* (2019) investigaram o efeito de diferentes co-culturas com cepas autóctones nas características de queijo de leite de ovelha pasteurizado, em relação ao perfil de aminoácidos livres e o conteúdo de aminas biogênicas. A utilização de cepas autóctones em co-cultura, no estudo citado, reduziu o tempo de maturação dos queijos e aumentou a quantidade de compostos bioativos produzidos.

2.1.1 *Limosilactobacillus mucosae*

Proposto por Beijerinck em 1901, o gênero *Lactobacillus* compreende bactérias Gram-positivas, fermentativas, não formadoras de esporos e anaeróbias facultativas. Até março de 2020, o gênero *Lactobacillus* incluía 261 espécies. Entretanto, por abranger espécies com características muito distintas, foi realizado novo estudo taxonômico, após o qual foram propostos 25 gêneros, incluindo o *Lactobacillus*, *Paralactobacillus*, *Limosilactobacillus*, entre outros (ZHENG *et al.*, 2020). O *Lactobacillus mucosae*, que antes pertencia ao gênero *Lactobacillus*, foi inserido no gênero *Limosilactobacillus*.

Limosilactobacillus mucosae foi inicialmente isolada de intestino de porcos, a partir de uma sondagem genética foram detectadas algumas características, como presença de genes de adesão, expressão de proteínas que permitem maior adesão ao muco, entre outras. Suas

características genômicas se aproximam do *Lactobacillus reuteri*, espécie já notavelmente reconhecida por englobar inúmeras cepas com potencial probiótico (ROOS *et al.*, 2000). Posteriormente, foram isoladas cepas de *Limosilactobacillus mucosae* de outras fontes, como intestino bovino, fezes e estômago de cordeiro e fezes humanas (BLECKWELL *et al.*, 2014; LONDON *et al.*, 2014). Valeriano *et al.* (2019) reportaram o primeiro sequenciamento completo do genoma de uma cepa de *Limosilactobacillus mucosae*, denominada LM1. Nesse estudo identificaram via de metabolismo de glicogênio e biossíntese de folato, dados que vão contribuindo para elucidar o efeito probiótico desses micro-organismos.

São classificadas como bactérias ácido lácticas, Gram-positivas, catalase negativa, não formadoras de esporos e não móveis (MORAES *et al.*, 2017). Sabe-se que as cepas de *Limosilactobacillus mucosae* tem boa capacidade de adesão a mucina, já foi mostrado em estudo a presença de genes relacionados a adesão (LEE *et al.*, 2012). As cepas destes micro-organismos abrigam de forma abundante, quando comparadas a outras espécies de *Lactobacillus*, genes de adesão ao muco (ROOS *et al.*, 2000).

Foi conduzido um experimento com objetivo de avaliar a capacidade de adesão a mucina e o potencial probiótico *in vitro* de *Lactobacillus mucosae* LM1, isolado de fezes de porcos. Os resultados mostraram uma elevada capacidade de adesão e propriedades probióticas promissoras (VALERIANO; PARUNGAO-BALOLONG; KANG, 2014). Pesquisadores ao investigarem o efeito da suplementação com cepas produtoras de exopolissacarídeos, entre elas *Lactobacillus paracasei* NFBC338 e *Limosilactobacillus mucosae* DPC 6426, observaram que a suplementação com *Limosilactobacillus mucosae* DPC 6426 apresentou capacidade de reduzir dislipidemia em modelos animais que recebiam dietas ricas em lipídeos e colesterol (LONDON *et al.*, 2014).

Xiaomin *et al.* (2016) avaliaram cepas de *Limosilactobacillus mucosae* isoladas de moradores de uma aldeia na China, com relação ao seu potencial como antioxidante *in vitro* e *in vivo*. O micro-organismo apresentou capacidade de reduzir os radicais livres, estimulando alguns mecanismos antioxidantes.

Moraes *et al.* (2017) avaliaram as propriedades probióticas e tecnológicas *in vitro* de três cepas de *Limosilactobacillus mucosae* isoladas de leite de cabra. Dentre estas, a cepa *L. mucosae* CNPC007 destacou-se, por apresentar elevada taxa de sobrevivência, ademais, apresentou características que demonstram seu alto potencial tecnológico, como capacidade de acidificação, atividade proteolítica, capacidade de estimular a coagulação do leite e produção de compostos flavorizantes. Ryan *et al.* (2019) em estudo *in vitro*, observaram como *Limosilactobacillus mucosae* DPC 6426 pode influenciar a composição da bile do hospedeiro

e sua resposta imunológica, no contexto da doença cardiovascular. Sua ação se dá através da produção de enzimas, que interferem na composição da bile e promovem a função endotelial, amenizando a inflamação sistêmica.

Em 2018, Moraes *et al.* produziram queijo caprino com potencial probiótico com adição de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, assim como avaliaram seus atributos sensoriais, microbiológicos e físico-químicos. Como resultado, observaram contagem satisfatória dos micro-organismos durante vida de prateleira e boa aceitação sensorial dos produtos adicionados da cepa de *L. mucosae* CNPC007.

De Moraes *et al.* (2022) avaliaram o impacto da adição de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 nas características tecnológicas, físico-químicas e sensoriais de iogurte tipo grego. Nos resultados, observaram que a adição dessa cepa proporcionou uma maior viscosidade e cremosidade na textura do iogurte, além de promover melhor aceitação dos atributos cor, aroma textura e aceitação global.

Dessa forma, a partir dos dados da literatura referentes a essa cepa, por seu potencial probiótico e tecnológico já elucidado, o desenvolvimento de creme de ricota caprino adicionado de cepa autóctone apresenta-se como alternativa importante para o mercado de caprinos, uma vez que além de agregar valor, pode favorecer aspectos tecnológicos desse produto.

2.2 LEITE E SORO DE LEITE CAPRINO NO DESENVOLVIMENTO DE DERIVADOS LÁCTEOS

2.2.1 Panorama da caprinocultura

No período de 2008 a 2018, o rebanho caprino mundial passou de 902.362.932 a 1.045.915.764 cabeças. Estima-se que cerca de 54,5% do rebanho caprino mundial está concentrado na Ásia, seguido da África com 39,5% e da América, com 3,8%. A Índia é o maior produtor de leite de cabra do mundo, já em relação ao número de animais, a China, seguida da Índia, Nigéria e Paquistão são os quatro países com maior rebanho caprino no mundo, o Brasil aparece em 22º lugar. O efetivo de caprinos no Brasil passou de 10.257.806 cabeças em 2017 para 10.696.664 em 2018, apresentando aumento de 4,3% em relação ao ano anterior (FAOSTAT, 2019).

Na região Nordeste do Brasil, de 2016 a 2018, esse efetivo apresentou crescimento de 9% passando de 9.817.007 para 10.696.664 cabeças. O Nordeste concentrava cerca de 91,04% do rebanho caprino brasileiro, em 2018 esse valor passou para 93,6% (IBGE, 2019; FAOSTAT, 2019).

A produção de leite no mundo cresceu em torno de 2,2% em 2018, atingindo aproximadamente 843 milhões de toneladas. A Ásia é o maior produtor, seguido da Europa, América do Norte e América do Sul. Em 2018, a produção de leite caprino no mundo foi de 18 bilhões de litros (FAOSTAT, 2019). Ainda de acordo com esses dados, as cabras, ovelhas e camelos fêmeas são responsáveis pela produção de 4% de todo o leite produzido no mundo, o que equivale a aproximadamente 33,5 milhões de toneladas de leite. De acordo com dados do Censo Agropecuário de 2017, o Brasil produziu 26 milhões de litros de leite caprino (IBGE, 2019). Apesar do estado da Bahia apresentar o maior percentual do rebanho, seguido pelos estados de Pernambuco, Piauí, Ceará e Paraíba, esta última lidera o ranking dos Estados produtores de leite caprino, com volume de 5.627.000 litros produzidos (IBGE, 2019).

Há uma significativa expansão global da indústria de produtos lácteos caprinos. A caprinocultura e a criação de produtos lácteos derivados caprinos vêm aumentando consideravelmente, apresentando impacto significativo na economia de diversos países (RAYNAL-LJUTOVAC *et al.*, 2008; CABRAL *et al.*, 2020). Pesquisadores afirmam que a caprinocultura leiteira pode contribuir para sustentabilidade, principalmente em áreas com recursos limitados (MILLER; LU, 2019). Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE (2019), o número de estabelecimentos agropecuários voltados à caprinocultura passou de 286,6 mil para 333,9 mil entre 2006 e 2017, representando um crescimento de 16,5%.

Na América Latina, especialmente em regiões mais áridas, a caprinocultura tem se destacado e contribui para o desenvolvimento socioeconômico de pequenos produtores (PEREIRA *et al.*, 2005; MILLER; LU, 2019). Embora apresente um percentual significativo em relação as demais regiões, o Nordeste brasileiro apresenta pequeno aproveitamento do potencial do leite de cabra e seus derivados, nesta região, a caprinocultura é considerada atividade rural de subsistência. Vários fatores contribuem para isto, incluindo a falta de tecnologias para produção de derivados lácteos, falta de investimentos, produtos de baixa qualidade (GARCIA, 2011; OLIVEIRA, 2013; SOUZA *et al.*, 2019). Pesquisadores afirmam também que outro fator que pode justificar o subaproveitamento do potencial da região é a falta de integração na cadeia produtiva de derivados caprinos, que abrange fazendeiros, produtores, distribuidores, comerciantes e consumidores (SOUZA *et al.*, 2019).

Dentre os países da América do Sul, o Brasil ocupa lugar de destaque no que se refere ao setor de derivados lácteos caprinos, com significativos investimentos do governo nesta área (MILLER; LU, 2019). No ano de 2019, o governo federal instituiu a Política Nacional de Incentivo a Ovinocaprinocultura, através da Lei nº13.854, publicada em 9 de julho do mesmo ano. Esta política tem como objetivos promover o aumento da escala da produção da ovinocaprinocultura, a melhora da qualidade dos produtos oferecidos ao consumidor, a segurança alimentar e o combate ao abigeato, por meio da regularização do abate e do comércio de produtos da ovinocaprinocultura; além do estímulo ao processamento industrial, familiar e artesanal dos produtos oriundos de ovinos e caprinos, entre outros (BRASIL, 2019). Espera-se que com esta nova lei, os pequenos produtores possam receber incentivo e melhorar a qualidade e variedade dos produtos lácteos caprinos oferecidos.

2.2.2 Características do leite e soro de leite caprino

O leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). Do ponto de vista físico-químico, o leite caracteriza-se como uma dispersão: solução, emulsão e suspensão (ARAÚJO *et al.*, 2013).

A composição do leite pode variar de acordo com diversos fatores, como raça, herança genética, espécie, período da ordenha, estação do ano e condições de saúde do animal (ARAÚJO *et al.*, 2013; MAYER; FIECHTER, 2012; ORDONEZ *et al.*, 2005). No Quadro 1 é apresentada a composição química do leite de diferentes espécies.

Quadro 1 – Percentual de lipídeos, proteínas e lactose de leite de diferentes espécies animais.

Espécie	Gordura (%)	Proteína (%)	Lactose (%)
Humano	3,6	1,2	7,8
Vaca	4,1	3,3	4,8
Cabra	3,8	3,4	4,1
Ovelha	7,9	4,9	6,2
Búfala	7,0	4,3	5,2

Fonte: Ballarrrd e Morrow (2013); Park *et al.* (2007); Pereira *et al.* (2010).

As proteínas presentes no leite podem ser classificadas como caseína (α 1 - caseína, α 2 - caseína, κ -caseína) ou proteínas do soro (β -lactoaglobulinas, α -lactoalbuminas,

imunoglobulinas, albumina). Do total de proteínas, as caseínas representam 80%, enquanto as proteínas do soro representam 20% (YASMIN *et al.*, 2020).

O leite caprino apresenta menor potencial alergênico, essa característica está associada as diferenças na estrutura e na quantidade das proteínas presentes no leite. As caseínas presentes no leite caprino são classificadas como κ -, β -, α_{s1} -, α_{s2} - e γ - caseína, semelhante ao leite de vaca. Entretanto, enquanto no leite de vaca a α_{s1} -caseína está presente numa concentração de 12 a 15g/L (FARRELL *et al.*, 2004), no leite caprino esse valor varia de 0,9 a 7 g/L (GROSCLAUDE; MARTIN, 1997). A α_{s1} -caseína e β -lactoglobulina são apontadas como as principais proteínas responsáveis pelas reações alérgicas ao leite de vaca (SCHULMEISTER *et al.*, 2009). O leite de cabra apresenta também melhor digestibilidade, devido aos glóbulos de gordura possuírem tamanho menor (ALBENZIO; SANTILLO, 2011; HAENLEIN, 2004; QUEIROGA *et al.*, 2013), assim como seu perfil de ácidos graxos apresentam maior quantidade de ácidos graxos de cadeia média (HODGKINSON *et al.*, 2018), quando comparados ao leite de vaca. Devido a essas características, o leite de origem caprina vem sendo considerado uma base alternativa para a produção de fórmulas infantis (THUM *et al.*, 2015) e alimentos voltados para a população idosa (HAENLEIN, 2004).

O interesse dos pesquisadores vêm aumentando em relação ao leite de cabra, além dos fatores já citados anteriormente, o leite caprino possui reconhecido potencial funcional, devido a presença de oligossacarídeos, peptídeos bioativos, sua composição lipídica com elevado teor de ácido linoleico conjugado e ácidos graxos de cadeia curta, assim como alto teor de vitaminas e outros componentes bioativos como hormônios, citocinas e nucleotídeos (ABEIJÓN MUKDSI *et al.*, 2013; ASSIS *et al.*, 2016; VERRUCK; DANTAS; PRUDENCIO, 2018). Ademais, pesquisadores vêm tentando isolar alguns oligossacarídeos presentes no leite de cabra, que por sua estrutura diferenciada em relação ao leite de outros mamíferos, podem ter aplicação na indústria de alimentos e farmacêutica (MARTÍN-ORTIZ *et al.*, 2019). Quanto aos peptídeos bioativos, já foram observadas atividades anti-hipertensiva, antimicrobiana, antioxidante e imunomoduladora (BALTHAZAR *et al.*, 2017).

Na Figura1 é ilustrado o resumo dos benefícios e dos principais agentes bioativos presentes no leite de cabra.

Figura 1 – Componentes bioativos presentes no leite caprino e principais benefícios associados.



Fonte: Adaptado de Verruck, Dantas e Prudencio (2019).

As proteínas presentes no leite podem ser classificadas como caseína (α 1-caseína, α 2-caseína, κ -caseína) ou proteínas do soro (β -lactoaglobulinas, α -lactoalbuminas, imunoglobulinas, albumina). Do total de proteínas, as caseínas representam 80%, enquanto as proteínas do soro representam 20% (YASMIN *et al.*, 2020).

Por suas características, o leite caprino pode ser utilizado para a fabricação de diversos tipos de produtos, incluindo bebidas lácteas, leite UHT, queijos, iogurtes, manteiga, sorvetes e sobremesas (ARYANA; OLSON, 2017; FAZILAH *et al.*, 2018). Um dos fatores que restringe a aceitação dos produtos elaborados a partir da utilização do leite de cabra é o seu *flavor* intenso, se comparado aos produtos bovinos (BEZERRIL *et al.*, 2022; QUEIROGA *et al.*, 2013), o que está relacionado ao seu elevado teor de ácidos graxos de cadeia curta e média (BEZERRA *et*

al., 2017; SOUZA; DIAS, 2017). Além do uso do leite caprino, a aplicação do soro na produção dos derivados de leite de cabra também vem sendo cada vez mais investigada (BORBA *et al.*, 2022).

O soro é um líquido com teor de lipídeos reduzido, produzido durante a elaboração de queijos, é a fração solúvel do leite, considerado um subproduto resultante da coagulação da caseína (MOLLEA; MARMO; BOSCO, 2013), rico em proteínas, minerais e lactose, pode ser classificado como soro doce, obtido a partir da produção de coalho, ou soro ácido, obtido a partir da coagulação ácida da caseína (HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GÓMEZ-RUIZ, 2011).

A composição química do soro de leite é variável e depende, principalmente, das técnicas de processamento utilizadas para separação da caseína (soro doce ou soro ácido) (YADAV *et al.*, 2015), depende ainda do período do ano, tipo de alimentação do animal, estágio de lactação e da qualidade durante o processamento (HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GÓMEZ-RUIZ, 2011). Apresenta teor de extrato seco total em torno de 86,5 g/100 g, lactose 54,2 g/100 ml, proteína 14,4 g/100 g, lipídeos 7,8 g/100 mL (BORBA *et al.*, 2022).

Das proteínas presentes no soro, as β -lactoaglobulinas e α -lactoalbuminas estão em maior quantidade, enquanto imunoglobulinas, albumina do soro e proteoses-peptonas representam a menor parte (HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GÓMEZ-RUIZ, 2011). No Quadro 2 é apresentada uma comparação da composição proteica do soro de leite proveniente de diferentes espécies.

Quadro 2 – Composição proteica do soro de leite de diferentes espécies de animais.

Proteínas totais e Concentração em diferentes espécies de animais				
Frações proteicas	Bovino	Ovino	Caprino	Fonte
Proteínas totais do soro	5,0 – 9,0	8,8 – 10,4	3,7 – 7,0	(STORRY <i>et al.</i> , 1983; HAHN <i>et al.</i> , 1998; HERNÁNDEZ-LEDESMA, RAMOS, GÓMEZ-RUIZ, 2011)
β -lactoaglobulina	3,2 – 4,0	2,7 – 5,0	1,8 – 2,8	
α -lactoalbumina	1,2 – 1,5	1,2 – 2,6	0,6 – 1,1	
Albumina sérica	0,3 – 0,6	0,55 – 0,6	0,26 – 0,3	
Lactoferrina	0,05 – 0,2	0,10	0,12	

Uma enorme quantidade de soro é produzida como resíduo pelas indústrias de produtos lácteos, mais especificamente durante a fabricação de queijo (YADAV *et al.*, 2015), por ser

visto como um subproduto, o soro não é valorizado pelos consumidores, entretanto, estudos tem destacado suas propriedades nutricionais e de produtos derivados (HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GÓMEZ-RUIZ, 2011). Esse fato tem contribuído para despertar o interesse da indústria de alimentos em desenvolver novas tecnologias para elaboração de produtos com a utilização do soro. Além disso, o aproveitamento deste subproduto diminui o risco de poluição ambiental causado pelo descarte indevido do soro lácteo (SILVEIRA *et al.*, 2015)

2.3 QUEIJOS COMO CARREADORES DE CEPAS PROBIÓTICAS

A adição de micro-organismos probióticos agrega valor ao produto, melhorando sua qualidade (GAO *et al.*, 2021). Entre os alimentos probióticos, o segmento dos produtos lácteos é o mais desenvolvido na indústria de alimentos (SAAD *et al.*, 2013; REQUE; BRANDELLI, 2021), dos produtos lácteos, os queijos, iogurtes e outras bebidas fermentadas são considerados alimentos com potencial evidenciado como carreadores de bactérias probióticas (BEZERRIL *et al.*, 2022; NYANZI; JOOSTE; BUYS, 2021; GARCIA *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Os queijos destacam-se entre os produtos citados como carreadores de bactérias probióticas devido ao seu pH, levemente e naturalmente acidificado, elevado teor de umidade, alto teor de gordura e consistência sólida, que pode conferir proteção mecânica para os micro-organismos durante a passagem pelo trato gastrointestinal (REID, 2015; KISAN *et al.*, 2021; ONG; HENRIKSSON; SHAH, 2006; TOMAR *et al.*, 2018). Caracteriza-se por ser um derivado lácteo que apresenta proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas em sua composição (MEIRA, 2015). De acordo com a legislação, é definido como sendo um produto fresco ou maturado, obtido por separação parcial do soro de leite ou leite reconstituído, ou de soros lácteos, a partir da utilização de enzimas específicas, de bactérias, do coalho ou de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, com ou sem adição de substâncias alimentícias (BRASIL, 2017).

A adição de bactérias probióticas, além dos benefícios à saúde do consumidor, pode melhorar as características físico-químicas, sensoriais e tecnológicas dos produtos elaborados (FAVRETTO; PONTIN; MOREIRA, 2013; MINERVINI *et al.*, 2012; TOMAR *et al.*, 2018). Entretanto, a finalidade da adição de probióticos aos alimentos nem sempre é melhorar as características sensoriais e tecnológicas do produto, mas conferir valor nutricional e estimular seu consumo (GAO *et al.*, 2021).

Barbosa *et al.* (2016) observaram que a adição de probiótico e prebiótico associados favoreceu as características sensoriais, tecnológicas e físico-químicas de queijo caprino cremoso, quando comparada a utilização da cultura starter composta por *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. A presença de inulina aumentou a capacidade de retenção de água, melhorando a viscosidade e consistência do produto, favorecendo assim sua aceitação. Além disso, os queijos cremosos simbióticos apresentaram quantidade maior de ácido linoleico conjugado, substância com efeitos biológicos importantes.

Em ensaio para avaliar o efeito do processamento de elaboração de queijo Cheddar com baixo teor de gordura sobre a viabilidade de micro-organismos probióticos, mostrou que as cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus plantarum* foram mais resistentes, apresentando maior número, quando comparadas a *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (DEMERS-MATHIEU *et al.*, 2016). Estudo realizado mostrou efeito protetor do queijo ricota elaborado a partir do leite de cabra para bactérias probióticas inoculadas durante a passagem pelo trato gastrointestinal (MEIRA *et al.*, 2015).

O queijo de coalho caprino também apresentou efeito protetor para bactérias probióticas quando submetidas à digestão artificial, além disso, a cepa de *Lactobacillus casei* subsp. *paracasei* adicionada a este tipo de queijo apresentou capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas, neste caso *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, durante o armazenamento refrigerado (OLIVEIRA *et al.*, 2014). O crescimento de *Salmonella* Typhi *in vitro* e em queijo caprino artesanal foi inibido pela adição de bactérias ácido-láticas autóctones, o que pode contribuir para melhorar qualidade dos derivados caprinos (FERRARI *et al.*, 2016). A presença de bactérias ácido-láticas além de favorecer a conservação do produto pela produção de bacteriocinas, que inibem o crescimento de bactérias patogênicas, podem também melhorar as propriedades tecnológicas do produto (FAVARO *et al.*, 2014; FAVARO; PENNA; TODOROV, 2015).

O leite e queijo caprino possuem uma ampla diversidade de bactérias ácido-láticas, com características diferentes e, consequentemente, podem interagir de diferente forma com a matriz alimentar (PICON *et al.*, 2016). Em estudo realizado por Taboada *et al.* (2015), ao analisar a influência de cepas autóctones selecionadas e culturas comerciais no metabolismo de queijos caprinos argentinos, observou-se que a adição destas cepas aumenta o conteúdo de ácidos graxos conjugados e melhora o *flavor*, agregando qualidade ao produto.

Terzic-Vidojevic *et al.* (2015) avaliaram a utilização de bactérias ácido láticas autóctones como cultura *starter* na produção de queijo branco em conserva e queijo macio,

foram observados resultados promissores na sua utilização como *starter*, uma vez que se conseguiu preservar as características tradicionais dos produtos, como sabor aroma e qualidade. Sameer *et al.* (2020) incorporaram cepas probióticas de *Lactobacillus acidophilus* La-5 em matriz de queijo ricota elaborado com leite de búfala, em seguida caracterizaram o produto. Embora não tenha sido observado alterações na composição, textura, cor e atributos sensoriais do produto, o queijo de ricota de leite de búfala pode ser mais uma opção viável de alimento funcional probiótico.

A ricota é um queijo de não maturado, de consistência macia (DI PIERRO *et al.*, 2011), típico da Itália e de países Ibero-americanos. É produzido a partir da coagulação induzida pelo aquecimento ou precipitação ácida das proteínas do soro de leite (SATTIN *et al.*, 2016), os tradicionalmente utilizados são leite de cabra, vaca, ovelha ou búfalo (BURITI *et al.*, 2007; PIRISI *et al.*, 2011).

A fabricação do queijo ricota consiste na coagulação das proteínas do soro resultante da fabricação de alguns tipos de queijo, como coalho ou minas frescal (SATTIN *et al.*, 2016), pela adição de ácido láctico a temperatura de 90 ± 2 °C (PIZZILO *et al.*, 2005). A precipitação das proteínas ocorre rapidamente, o queijo ricota obtido deve ser conservado sob refrigeração, constitui o principal ingrediente na fabricação do creme de ricota (SATTIN *et al.*, 2016).

Esse tipo de queijo é caracterizado pelo elevado teor umidade, pH próximo a neutralidade, entre 6,7 e 6,8 (BORBA *et al.*, 2014) e elevada concentração de açúcar residual, o que o torna susceptível ao crescimento microbiano (MARTINS *et al.*, 2010), sendo necessário a refrigeração do produto durante sua vida de prateleira (DI PIERRO *et al.*, 2011). Entretanto, estas características também contribuem para tornarem a ricota um alimento propício a sobrevivência das bactérias probióticas (MEIRA *et al.*, 2015).

O creme de ricota é um produto obtido a partir da adição e homogeneização de outros ingredientes com queijo de ricota (BURITI *et al.*, 2007; FRITZEN-FREIRE *et al.*, 2013; SATTIN *et al.*, 2016). É um produto geralmente consumido como acompanhamento para pães, com consistência suave. Possui características que o tornam um bom carreador para bactérias probióticas, entre estas o fato de ser um produto fresco (BURITI *et al.*, 2007).

Em estudo realizado por Fritzen-Freire e colaboradores (2013) para avaliar o efeito da utilização de probióticos microencapsulados em creme de ricota, foi observado que mesmo quando inoculados em sua forma natural, as amostras armazenadas durante 60 dias continuavam a apresentar potencial probiótico, com contagens acima de micro-organismos probióticos acima de $6,5 \log$ de UFC.g⁻¹.

Kisan *et al.* (2021) avaliaram a sobrevivência de microrganismos probióticos em matriz de queijo Ricota de leite de búfala, quando submetidos as condições simuladas do trato gastrointestinal. A sobrevivência em matriz alimentar foi superior à observada quando os microrganismos foram inoculados em meio de cultura.

Considerando o potencial como carreador de bactérias probióticas dos queijos e que a incorporação dessas bactérias pode agregar valor aos derivados lácteos caprinos, a elaboração e caracterização do creme de ricota caprino com adição de cepas probióticas pode ser uma alternativa entre os produtos lácteos caprinos de qualidade. Além disso, a presença dessas cepas pode favorecer as características tecnológicas, sensoriais e nutricionais dos produtos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O processamento das amostras e as análises sensoriais foram executados no Laboratório de Técnica Dietética e Análise Sensorial de Alimentos. As análises físicas, físico-químicas, microbiológicas foram conduzidas no Laboratório de Bromatologia (LB) e Laboratório de Bioquímica e Microbiologia dos Alimentos (LBMA), todos do Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, Brasil. A determinação do perfil aromático foi realizada no Laboratório de Análise de Flavor (LAF), do Departamento de Engenharia de Alimentos, Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa/PB, Brasil. As análises de perfil proteico e de aminoácidos foram realizadas nos Laboratórios de Genética e Radiobiologia (BIOGeR) e Proteômica Estrutural, do Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, e no Centro de Química de Alimentos do Instituto de Tecnologia dos Alimentos (ITAL), Campinas/SP, Brasil. O perfil de açúcares e ácidos orgânicos foi avaliado no Laboratório Experimental de Alimentos (LEA), do Departamento de Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal do Sertão Pernambucano, Petrolina/PE, Brasil;

3.2 OBTENÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

O leite caprino e a nata caprina utilizados para a produção dos cremes de ricota foram adquiridos da Cooperativa dos produtores rurais de Monteiro Ltda. – CAPRIBOM, Monteiro/PB, Brasil, os quais foram previamente pasteurizados ($90\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}/10\text{ min}$) e armazenados sob congelamento ($-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a utilização para obtenção do soro de leite caprino e elaboração do creme de ricota. O coalho utilizado para a elaboração do queijo e obtenção do soro foi o coagulante líquido HA-LA (quimiosina microbiana – *Aspergillus niger* var *awamori*, poder coagulante 1:3.000/75 IMCU), da Christian Hansen® (Valinhos, Minas Gerais, Brasil), que foi obtido comercialmente e o cloreto de cálcio (CaCl_2) P.A da FMaia® Ltda. (Cotia, São Paulo, Brasil). A cultura probiótica liofilizada de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (Patrimônio genético: BRMCTAA180), pertencente à “Coleção de Microrganismos de Interesse para a Indústria de Alimentos” da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Caprinos e Ovinos/Sobral, Ceará, Brasil, foi previamente isolada de amostras de leite de cabra coletado de uma fazenda experimental da EMBRAPA, avaliada

quanto aos seus aspectos de segurança e propriedades funcionais *in vitro* (MORAES *et al.*, 2017). Enquanto a cultura liofilizada de *Lactobacillus acidophilus* La-5 da Christian Hansen®, foi adquirida comercialmente.

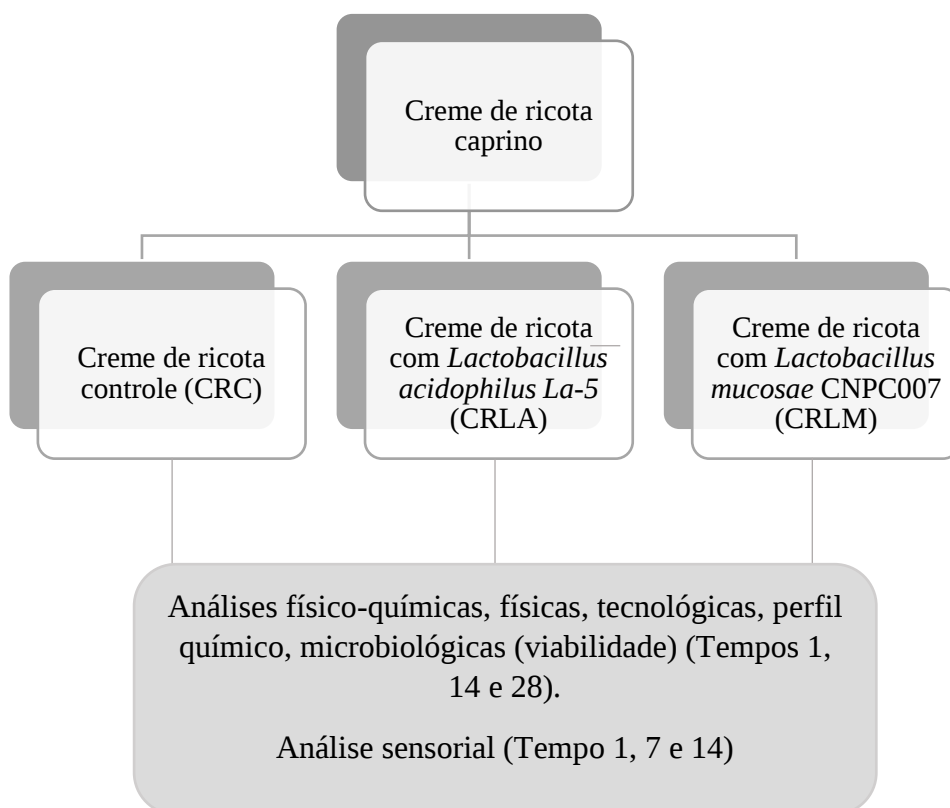
3.3 PREPARAÇÃO DO INÓCULO

As cepas de *L. acidophilus* La-5 e *L. mucosae* CNPC007 liofilizadas foram pesadas considerando a concentração de 0,1%, equivalente a 0,05g do inóculo para cada litro de leite utilizado na elaboração do creme de ricota. Os micro-organismos foram inoculados separadamente em leite em pó caprino reconstituído com água estéril (Caprilat®, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil) e incubados a 37 °C em aerobiose, por aproximadamente 22 h após inoculação (fase estacionária), em incubadora BOD (Biochemical Oxygen Demand – Marconi, MA415, Piracicaba/SP, Brasil), antes de serem adicionadas ao produto final. As contagens de células de *L. acidophilus* La-5 e *L. mucosae* CNPC007 no inóculo variaram entre 8,5 e 9 log de unidades formadoras de colônia por mililitro – UFC/mL. As contagens de *L. acidophilus* La-5 e *L. mucosae* CNPC007 foram confirmadas pela diluição seriada do inóculo em água peptonada na concentração de 0,1 g/100 mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA). Alíquotas de 10 µL das diluições (10^{-3} a 10^{-6}) foram semeadas em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK), para *L. acidophilus* La-5, e em ágar MRS (Oxoid, Basigstoke, UK) acidificado a pH 5 (IDF, 1995), para *L. mucosae* CNPC007, ambos pela técnica de microgotas. As placas foram incubadas a 37 °C por 72 e 48 horas, em anaerobiose e aerobiose para contagem de *L. acidophilus* La-5 e *L. mucosae* CNPC007, respectivamente. Os resultados foram expressos em unidades formadoras de colônia por mililitro – UFC/mL.

3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

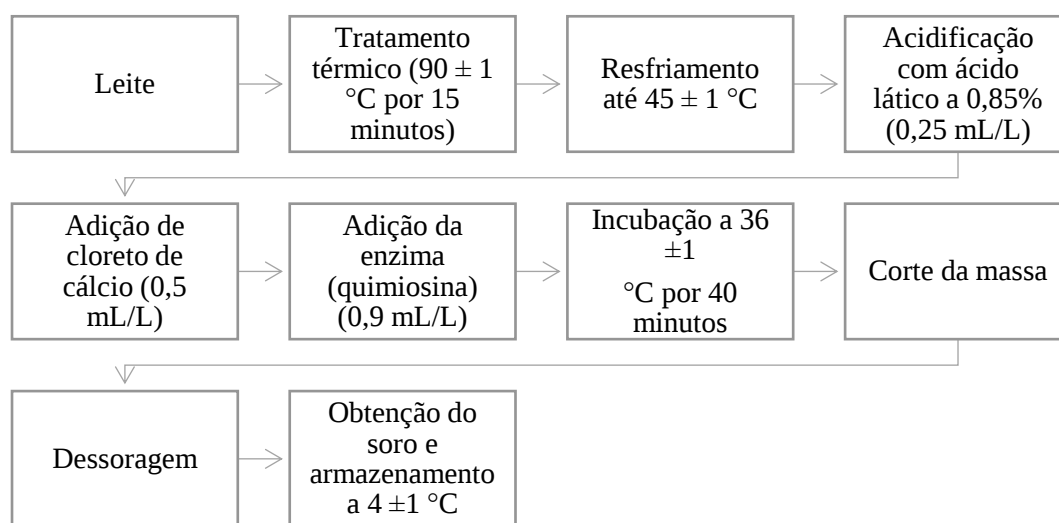
Foram produzidos três tipos de creme de ricota caprino, a citar: CRC - creme de ricota controle, sem a adição de cultura probiótica, CRLA - creme de ricota adicionado da cultura probiótica comercial *Lactobacillus acidophilus* La-5 e CRLM - creme de ricota adicionado da bactéria probiótica autóctone *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007. Foram realizados três processamentos e os cremes de ricota foram analisados, em triplicata, nos tempos 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C), quanto as suas características tecnológicas, físicas, físico-químicas, químicas, microbiológicas e sensoriais, conforme Figura 2, que ilustra o delineamento experimental do estudo.

Figura 2 – Delineamento experimental.

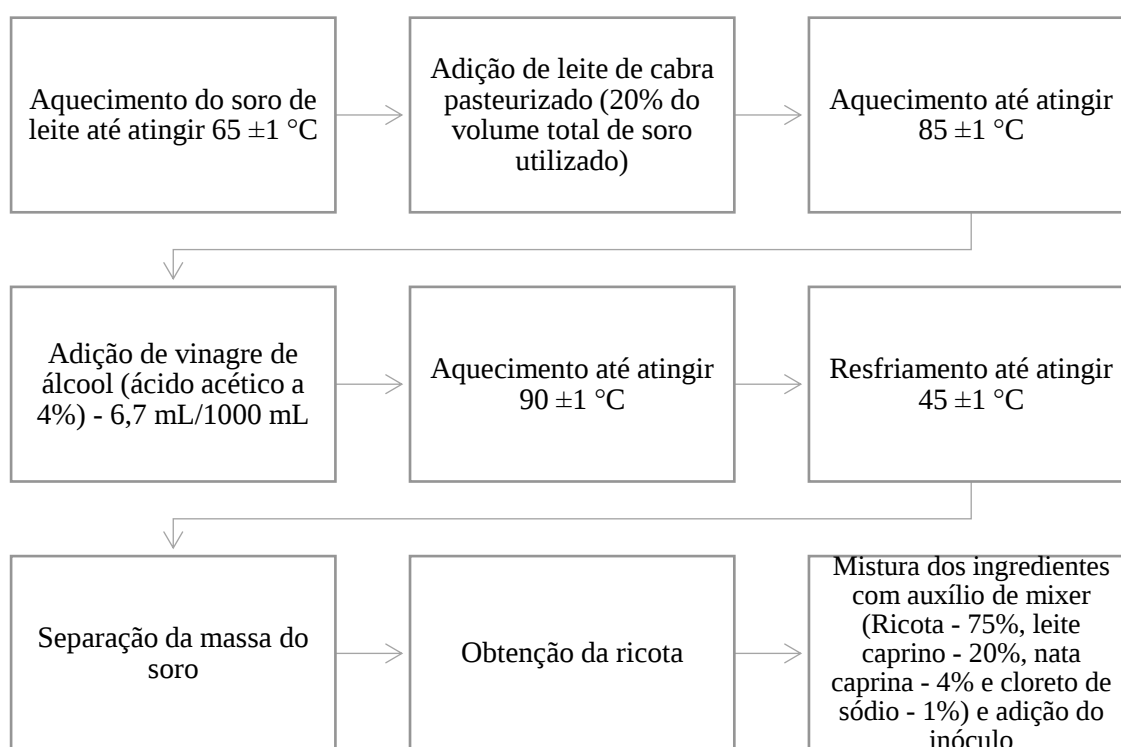


3.5 OBTENÇÃO DO SORO DE LEITE E ELABORAÇÃO DO CREME DE RICOTA CAPRINO

O soro foi obtido conforme adaptação da metodologia de processamento de queijo de coalho proposta por Oliveira *et al.* (2012) e Garcial *et al.* (2012), de acordo com ilustração na figura a seguir (Figura 3). Após obtenção do soro de leite de cabra, as seguintes etapas foram realizadas para elaboração dos cremes de ricota (Figura 4).

Figura 3 – Fluxograma de processamento para obtenção do soro de leite caprino.

Fonte: Adaptado de Oliveira *et al.* (2012) e Garcial *et al.* (2012).

Figura 4 – Fluxograma de elaboração das formulações de creme de ricota adicionadas de cepas probióticas.

Fonte: Adaptado de Meira *et al.* (2015) e Fritzen-Freire *et al.* (2013).

O leite utilizado para produção dos inóculos foi acrescentado ao produto como ingrediente, respeitando o limite de 20%, conforme última etapa da Figura 4. Após essa etapa de elaboração, foi realizada a caracterização do produto.

3.6 CARACTERIZAÇÃO DO CREME DE RICOTA CAPRINO

3.6.1 Avaliação das propriedades tecnológicas

A avaliação das propriedades tecnológicas dos cremes de ricota produzidos foi baseada nas análises de rendimento (ZENG *et al.*, 2007) e nos testes de textura instrumental e cor instrumental, conforme Buriti, Cardarelli e Saad (2008) e CIE (1996), respectivamente.

3.6.1.1 Rendimento

O rendimento do creme de ricota foi calculado através do peso da massa do produto obtida ao final do processamento para cada 10 L de leite utilizados (ZENG *et al.*, 2007), conforme Equação 1.

$$\text{Rendimento} = \frac{\text{Peso em gramas do creme de ricota}}{10 \text{ L de leite utilizado}} \quad (\text{Eq. 1})$$

3.6.1.2 Avaliação da Textura Instrumental

A textura instrumental (dureza, elasticidade, adesividade, coesividade, gomosidade e mastigabilidade) foi determinada, em triplicata, através de teste de dupla compressão, em texturômetro TA-XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Reino Unido). Utilizou-se probe acrílico cilíndrico, com 25 mm de diâmetro (P25), com taxa de deformação programada a uma velocidade de 1 mm/s e penetração máxima de 10 mm (BORBA *et al.*, 2014).

3.6.1.3 Cor Instrumental

A determinação da cor instrumental foi realizada em colorímetro Minolta®, modelo CR-300 (New Jersey, USA), utilizando a escala CIELab (L* - luminosidade, eixo a* [cromaticidade

(-) verde/ (+) vermelho], eixo b* [cromaticidade (-) azul/ (+) amarelo)] (CIE, 1996). As medidas foram realizadas em triplicata, após prévia calibração do equipamento.

3.6.2 Determinação das características físicas e físico-químicas

Para determinação da atividade de água foi utilizado aparelho Aqualab® (modelo CX-2 Water Activity Sistem®, Washington – USA) conforme instrução do Manual do Aqualab (AQUALAB, 2001). A determinação de pH foi realizada utilizando-se potenciômetro (modelo pH Meter Tec-2 Tecnal®, Piracicaba, BRASIL) calibrado previamente. A acidez titulável, expressa em ácido láctico, foi medida por titulação com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N, de acordo com a AOAC (2019).

As análises de umidade, sólidos totais, resíduo mineral fixo e proteína foram realizadas seguindo os procedimentos padrões (AOAC, 2019). A determinação de lipídios foi realizada pelo método descrito por Folch, Less e Stanley (1957).

3.6.3 Perfil químico

3.6.3.1 Perfil aromático

Os compostos voláteis das amostras de creme de ricota caprina foram extraídos pela técnica de HS-SPME (BEZERRA *et al.*, 2017). A fibra usada foi 50/30 µm de Divinilbenzeno / Carboxen / Polidimetilsiloxano (DVB / CAR / PDMS) (Supelco, Bellafonte, Pennsylvania, EUA) e foi condicionada de acordo com as instruções do fabricante antes da extração. Primeiro, 20 g de queijo foram transferidos para um frasco headspace de fundo plano de 100 mL, com um selo magnético de PTFE / septos de silicone e tampa. Os compostos voláteis foram extraídos colocando o frasco em banho-maria a 40 °C com agitação magnética interna. A amostra atingiu o equilíbrio em 20 minutos e foi então exposta à fibra por 40 minutos. Um cromatógrafo de gás 7890B (GC) acoplado a um espectrômetro de massa Agilent® Technologies 5977B (Little Falls, DE, EUA) e uma coluna VF-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) foram usados para separar os voláteis coletados pela SPME.

A temperatura do injetor GC foi ajustada em 240 °C e a taxa de fluxo do gás portador de hélio foi de 1,2 mL/min. A temperatura inicial do forno foi de 40 °C, a qual foi mantida por 1 min, seguida por uma elevação de temperatura de 2 °C/min até 220 °C por 30 min. O espectrômetro de massa foi operado no modo de impacto eletrônico a 70 eV. As temperaturas

da linha de transferência do GC, da fonte de íons e do analisador quadrupolo foram definidas em 250, 230 e 150 °C, respectivamente. Uma faixa de massa de 25–500 m/z foi registrada no modo de varredura completa. Os dados foram adquiridos e analisados usando o programa de software Mass Hunter (Agilent). O índice de retenção linear (LRI) de cada composto foi calculado por meio dos tempos de retenção de uma série homóloga de n-alcenos C6-C25. Os componentes voláteis foram identificados por comparação de seus espectros de massa e LRI usando o banco de dados de computador NIST 2014 (Versão 2.2 2014).

3.6.3.3 Perfil proteico

O índice de proteólise em extensão e profundidade foi determinado usando o método de micro-Kjeldahl (AOAC, 2019). A proteólise foi avaliada com base no índice de proteólise em extensão e índice de proteólise em profundidade, segundo Andreatta *et al.* (2007).

A determinação de aminoácidos totais das amostras de creme de ricota foi realizada por cromatografia em coluna de fase reversa em um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, marca SHIMADZU), de acordo com o método descrito por Hagen, Frost e Augustin (1989) e White, Hart e Fry (1986). Para liberação dos aminoácidos individuais, aproximadamente 0,15 g da amostra liofilizada foi resuspensa em 9 mL de ácido clorídrico a 6 M e fenol. Após a hidrólise (110 °C/22 h), foi adicionado o ácido α -aminobutírico (AAAB) como padrão interno. O ácido foi eliminado por evaporação a vácuo, e a seguir foi realizada a derivatização do hidrolisado com solução de metanol, água ultrapura, trietilamina e fenilisotiocianato (PITC). Os aminoácidos foram filtrados em membrana filtrante de 0,22 μ m (Milipore, Billerica MA, USA) e assim introduzidos na coluna. A fase móvel utilizada consistiu numa mistura dos eluentes A (acetato de sódio – pH 6,4) e B (acetonitrila 50%, água ultrapura, EDTA dissódico).

A separação dos aminoácidos individuais ocorreu de acordo com as seguintes condições cromatográficas: coluna analítica: LUNA C18 100 A 5 M 250 X 4,6 mm 00G-4252-EQ, fluxo dos eluentes (fase móvel): 1 mL/minuto a 50 °C, detector DAD (arranjo de diodo), com detecção em 254 nm. Nessas condições, a ordem de eluição dos aminoácidos foi a seguinte: Ácido Aspártico, Ácido Glutâmico, Serina, Glicina, Histidina, Arginina, Treonina, Alanina, Prolina, Padrão Interno (AAAB), Tirosina, Valina, Metionina, Cistina (3 picos), Isoleucina, Leucina, Fenilalanina e Lisina. A identificação dos picos dos compostos foi realizada através de comparação com os tempos de retenção obtidos nos padrões injetados. A identificação dos aminoácidos foi realizada por comparação com padrão externo (Pierce, PN 20088), e para a

quantificação foi utilizado o padrão interno ácido α -aminobutírico (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA), de acordo com Hagen, Frost e Augustin (1989) e White, Hart e Fry (1986).

Para determinação das proteínas solúveis, as amostras de queijo foram pesadas e diluídas em uma proporção de 1 mg de amostra para 1 mL de água ultrapura. Após completa diluição, 100 μ L de amostra foi transferido para tubos de ensaio, onde foram adicionados 2,5 mL do Reagente de Bradford (Fator 48,22 e Eq da reta $y=0,019x$ $R^2=99,63\%$). Após 10 min de descanso, procedeu-se a leitura da absorbância no comprimento de onda de 595 nm (Ultrospec 1100 pro Amersham Biosciences, Reino Unido). O branco foi realizado com água (BRADFORD, 1976). As amostras foram lidas em triplicata em cubetas de plástico. A curva padrão do reagente foi feita utilizando BSA (Bovine Serum Albumin). O cálculo foi feito utilizando a fórmula do método e a equação da reta.

Ainda foi determinado o perfil eletroforético, cuja técnica tem por objetivo identificar e quantificar as proteínas presentes na matriz por separação. Para as amostras de queijo optou-se pela utilização de um gel de concentração de 15% e o gel de separação de 3,5%. Foram pesados 4 mg de amostras, seguido de diluição em 100 μ L de tampão de amostra (SDS, betamercaptoetanol, azul de bromofenol, Tris e água), aquecidas a 100 °C por 10 min em estufa, em seguida centrifugadas a 10.000 rpm por 1 min. Para a corrida foram aplicados no gel 15 μ L de amostra e do Marcador de alto Peso molecular (Amersham TM ECL TM rainbow marker full range GE Healthcare®). A corrida foi realizada por 6 horas nas condições de 300 v e 50 mA. O gel foi fixado em solução de ácido acético, metanol e água, corado em solução de Coomassie brilliant blue R-250 a 0,005%, em ácido acético a 10%, e descorado em ácido acético a 10% (LAEMMLI, 1970). Os pesos moleculares das frações proteicas dos soros foram comparados mediante a utilização de marcador de peso molecular de 12 a 225 kDa (Amersham Rainbow Marker - Full range GE Healthcare®). Os géis foram editados no programa Image J para Windows.

3.6.3.4 Perfil de açúcares e ácidos orgânicos

O açúcar lactose e os ácidos orgânicos (propiónico, acético, lático e cítrico) foram determinados conforme descrito por Ball *et al.* (2011), por meio de técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), utilizando cromatógrafo AGILENT® (modelo 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), equipado com bomba quaternária de solventes (modelo G1311C), degaseificador, compartimento de colunas termostaticado (modelo G1316A) e amostrador automático (modelo G1329B), acoplado em Detector de

Arranjos de Diodos (DAD) (modelo G1315D) e Detector de Índice de Refração (RID) (modelo G1362A). Os dados obtidos foram processados utilizando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition™ (Agilent Technologies). A coluna utilizada foi a Agilent Hi-Plex H (300 x 7,7 mm) com partículas internas de 8,0 µm, protegida com uma coluna de guarda PL Hi-Plex H 5x3 mm (Agilent Technologies). As temperaturas do forno de colunas e detector foram mantidas em 50 °C. O volume de injeção da amostra (previamente diluída em água ultrapura e filtrada em membrana de 0,45 µm (Millex Millipore, Barueri, SP, Brasil) foi de 10 µL, com fluxo de 0,5 mL/min e tempo de corrida de 20 min. A fase móvel utilizada foi H₂SO₄ 4,0 mM/L em água ultrapura. Os padrões de glicose e lactose foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA); o de galactose foi obtido da Chem Service (West Chester, EUA) e os padrões de ácidos orgânicos foram obtidos da Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brazil), todos com grau de pureza ≥ 99%. A água ultrapura foi obtida em sistema MilliQ® e o ácido sulfúrico da Merck (Darmstadt, Germany). Os resultados foram expressos em g/100 g do produto.

3.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

3.7.1 Controle de qualidade

A determinação dos parâmetros microbiológicos seguiu metodologia recomendada pela American Public Health Association (APHA, 2015). Foi realizada contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli* e detecção de *Salmonella* spp (BRASIL, 2019).

3.7.2 Viabilidade das células probióticas durante vida de prateleira

Foi realizada a contagem das células viáveis de *L. mucosae* CNPC007 e *L. acidophilus* La-5 após o processamento do produto, nos dias 1, 14 e 28 de armazenamento refrigerado. Para tanto, foram diluídas 25 gramas da amostra em 225 mL de água peptonada esterilizada (0,1 g/100 g) (Sigma, St. Louis MO, EUA). Depois prosseguiu-se com as diluições seriadas até atingir 10⁻⁶. Em seguida, 10 µL foi inoculada em placas contendo ágar MRS (BIOKAR Diagnostics, França) acidificado até pH 5 para contagem de *L. mucosae*, seguido de incubação em aerobiose, a 37 °C por 48 horas (MORAES *et al.*, 2018). Para contagem de *L. acidophilus* La-5 utilizou-se placas contendo ágar MRS (HIMEDIA, India), que foram incubadas em anaerobiose (BD GasPak™ EZ Anaerobe container system, Becton, Dickinson and Company, USA), a 37 °C por 72 horas. Após o término do período de incubação, foi realizada a contagem

do número de unidades formadoras de colônias (UFC), sendo os resultados expressos em log de UFC/g (MEIRA et al., 2015).

3.8 ANÁLISE SENSORIAL

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, sob protocolo nº 3.853.726., reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (Anexo A).

Participaram do estudo 60 provadores (alunos, professores e funcionários da UFPB, selecionados com base nos hábitos e interesse em consumir creme de ricota, constituídos tanto pelo gênero masculino como feminino, cuja faixa etária variou de 18 a 45 anos de idade, não apresentando nenhum problema de saúde (intolerância à lactose, alergia à proteína do leite, alergia a algum dos ingredientes utilizados no processamento dos cremes de ricota) ou deficiência física que viesse comprometer a avaliação sensorial dos produtos, especificamente relacionado a três dos sentidos humano: olfato, paladar e visão. Enquanto na metodologia Elicitação de atributos preferidos (PAE – Preferred attribute elicitation), o painel de consumidores foi composto por 5 mulheres e 2 homens, com idades dentre 30 e 45 anos, selecionados de acordo com o hábito de consumir queijos caprinos.

Os participantes foram abordados e convidados na própria instituição onde foi realizada a análise sensorial. Os painelistas recrutados foram informados a respeito do objetivo da pesquisa e sua participação foi condicionada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (APÊNDICE A). Antes das análises sensoriais, as formulações de creme de ricota foram submetidas às análises microbiológicas para avaliar a qualidade higiênico-sanitária, e, portanto, verificar se estavam dentro dos padrões recomendados pela legislação vigente (BRASIL, 2019). Após 7 dias de armazenamento refrigerado, os cremes de ricota foram submetidos aos testes JAR (*Just about right*) ou Escala do Ideal, aceitação sensorial, intenção de compra e ordenação-preferência (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002; NGUYEN; WISMER, 2019; VICKERS, 1988).

Os queijos foram submetidos aos testes JAR (*Just about right*) ou Escala do Ideal (APÊNDICE B). Esse teste foi realizado para medir a quantidade ideal de determinado componente que deveria estar presente neste produto lácteo. Os consumidores avaliaram as amostras registrando suas respostas em escalas específicas (Escala do Ideal), especificando o quão ideal tal amostra estava em relação a determinado atributo em estudo (VICKERS, 1988).

Ainda foram realizados testes de aceitação sensorial, em que se analisou a aparência, cor, aroma, sabor, textura e aceitação global (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). Os provadores atribuíram valores às amostras, em uma escala hedonística estruturada com nove pontos (1 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei/nem desgostei; 9 = gostei muitíssimo). Os formulários destinados a este teste continham campos que possibilitaram aos provadores anotar descrições que julgassem importantes (APÊNDICE C). Os cremes de ricotas foram considerados aceitos quando obtiverem média $\geq 5,0$ (equivalente ao termo hedônico “nem gostei/nem desgostei”).

Paralelamente, também se avaliou a intenção de compra (APÊNDICE C). Para tanto, foi empregada uma escala hedônica estruturada com cinco pontos (1 = jamais compraria; 3 = talvez comprasse/talvez não comprasse; 5 = compraria), conforme formulário em Apêndice C (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). Já a preferência relativa entre as amostras de queijos foi conduzida segundo delineamento de ordenação em blocos casualizados com os 60 provadores não treinados, empregando-se teste de preferência, com notas que variaram de 1 (“amostra mais preferida”) a 5 (“amostra menos preferida”) (APÊNDICE C). Com a finalidade de se obter maiores informações sobre as características sensoriais de cada queijo, os provadores foram instruídos a relatar os atributos sensoriais que contribuíram para a escolha das amostras “mais preferidas” e “menos preferidas”. A metodologia PAE foi conduzida de acordo com Grygorczyk *et al.* (2013) e Bezerril *et al.* (2022). Esse teste foi realizado em cabines (análise) e uma sala (discussão), em três sessões do PAE, nos tempos 1, 7 e 14 dias de armazenamento refrigerado do produto, onde cada provador recebia 25 g de cada amostra em recipientes plásticos, a 5 °C. Na primeira sessão, no dia 1 de armazenamento, os consumidores avaliaram as três formulações de creme de ricota e destacaram os atributos de aroma e flavor considerados importantes para a aceitação do produto. Depois, foi definida uma escala de nove pontos considerando a intensidade dos mesmos. Após 15 minutos, os provadores receberam novamente as amostras de creme de ricota e avaliaram respondendo o formulário elaborado. Nas outras duas sessões, nos dias 7 e 14 de armazenamento, novamente os consumidores receberam as amostras e avaliaram a partir do formulário elaborado.

No decorrer dos testes, as amostras foram padronizadas e servidas de forma aleatória, em temperatura de refrigeração ($4\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$), em copos plásticos de cor branca codificados com números aleatórios de 3 dígitos. As análises foram conduzidas em cabines individuais com temperatura e iluminação controlada, longe de ruídos e odores, em horários que não compreendiam uma hora antes e duas horas após o almoço. Juntamente com as amostras, foram oferecidos aos provadores bolacha água e sal e água e estes foram orientados a entre uma

amostra e outra fazer o uso da bolacha e da água, para remoção do sabor residual, e a provarem estas da esquerda para direita.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram submetidos ao teste t-Student (para as amostras que foram analisadas apenas em 2 tempos) e ANOVA seguida do teste de Tukey (entre os tratamentos e as amostras que foram avaliadas em 3 tempos) considerando $p \leq 0,05$. Para o cálculo dos dados, utilizou-se o pacote de software Sigma Stat 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, Califórnia).

Os dados obtidos na realização do teste afetivo Escala-do-ideal foram avaliados por análise de penalidade. Esse tipo de análise foi utilizado para mostrar penalidades (quedas médias no gosto geral) para cada atributo não-JAR em cada amostra. Os atributos não-JAR com penalidades estatisticamente significativas foram destacados com um “*” nos gráficos de análise de penalidade (NGUYEN; WISMER, 2019).

Os resultados dos testes sensoriais de ordenação-preferência foram analisados de acordo com o teste de Friedman, utilizando-se da Tabela de Newell Mac Farlane (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). Os dados da sensorial obtidos pelo método PAE foram tratados por análise de componente principal (ACP), o objetivo era avaliar a matriz de correlação entre a percepção dos avaliadores em relação a algumas características específicas das amostras de creme de ricota durante os tempos 1, 7 e 14 dias de armazenamento refrigerado. As amostras foram avaliadas em relação a características do aroma (fermentado, caprino, típico e lácteo) e do sabor (ácido, salgado, caprino e característico). As análises estatísticas foram conduzidas no software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Softwar Inc., San Diego, CA, USA).

4 RESULTADOS

Os resultados desse estudo proporcionaram a elaboração de uma patente e dois artigos científicos. A patente depositada sob número de registro BR 10 2022 003106-1 contempla o produto desenvolvido e foi intitulada “Queijo tipo creme de ricota caprino com potencial probiótico e método de obtenção” (Anexo B). Os dados obtidos geraram dois artigos, sendo o primeiro intitulado “Impacto da adição de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 e *Lactobacillus acidophilus* La-5 sobre as características tecnológicas, nutricionais e microbiológicas de creme de ricota caprino” (Apendice D), que aborda as características físicas, químicas, físico-químicas e tecnológicas dos produtos desenvolvidos com a adição de cepas probióticas; e o segundo artigo intitulado “Compostos voláteis e caracterização sensorial de cremes de ricota caprinos adicionados de cepa probiótica *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 e cepa comercial *Lactobacillus acidophilus* La-5”, que traz dados referentes ao perfil de voláteis e as características sensoriais dos produtos elaborados ao longo do período de armazenamento refrigerado (Apendice E). O primeiro artigo foi submetido à revista LWT – *Food Science and Technology*, de fator de impacto 6.056; o segundo foi submetido ao Journal of Dairy Science, fator de impacto 4.225.

REFERÊNCIAS

- ABEIJÓN MUKDSI, M. C. *et al.* Functional goat milk cheese with feruloyl esterase activity. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 2, p. 801–809, 2013.
- ALBENZIO, M.; SANTILLO, A. Biochemical characteristics of ewe and goat milk: effect on the quality of dairy products. **Small Ruminant Research**, v. 101, n. 1-3, p. 33-40, 2011.
- AMBALAM, P. *et al.* Probiotics, prebiotics and colorectal câncer prevention. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, p. 119-131, 2016.
- AMIRI, S. *et al.* *In situ* production of conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5 in milk model médium. **LTW- Food Science and Technology**, v. 132, 2020.
- ANDREATTA, E. *et al.* Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 166-170, 2007.
- APHA: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 5th. ed. Washington: **American Public Health Association**, 2015. 995 p.
- AQUALAB. *Analizador de atividade de água para avaliar biodegradação (alimentos e fármacos)*: Modelo CX-2. Decagon Devices, Inc. 950 NE Nelson Court Pullman, WA 99163 USA, 2001.
- ARAÚJO, H.M.C. *et al.* Transformação dos alimentos: Leite e laticínios. In: ARAÚJO, W.M.C.; MONTEBELLO, N.P.; BOTELHO, R.B.; BORGIO, L.A. **Alquimia dos alimentos**, 2ª ed., Brasília: Editora Senac, 2013.
- ARIANA, K.J.; OLSON, D.W. A 100 – Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9987 – 10013, 2017.
- ASSIS, P. O. A. *et al.* Intestinal antiinflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis. **International Dairy Journal**, v.56, p.45–54, 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). 2019. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 21 ed. Washington, USA, 2019.
- BALL, S. *et al.* A. Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography, in **Agilent Hi-Plex Columns Applications Compendium**. Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, 2011.
- BALLARD, O.; MORROW, A.L. Human milk composition: Nutrientes and bioactive factors. **Pediatric Clinics of North America**, v. 60, p. 49-74, 2013.
- BALTHAZAR, C. F. *et al.* Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n. 2, p. 247–262, 2017.

BARBOSA, I.C. *et al.* Influence of the addition of *Lactobacillus acidophilus* La-05, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and inulin on the technological, physicochemical, microbiological and sensory features of creamy goat cheese. **Food and function**, v. 7, p. 4356-4371, 2016.

BEDADA, T.L. *et al.* Probiotics for câncer alternative prevention and treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 129, 110409, 2020.

BEZERRA, T, K.A. *et al.* Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 209–215, 2017.

BEZERRIL, F.F. *et al.* *Lactocaseibacillus casei* 01 improves the sensory characteristics in goat milk yogurt added with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) jam through changes in volatiles concentration. **LWT-Food Science and Technology**, v. 154, p. 1-11, 2022.

BLECKWEDEL, J. *et al.* Draft genome sequence of themannitol-producing strain *Lactobacillus mucosae* CRL573. **Genome announcements**, v. 2, n. 6, p. e01292-14, 2014.

BORBA, K.K.S. *et al.* The effect of storage on nutritional, textural and sensory characteristics of creamy ricotta made from whey as well as cow's milk and goat's milk. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 1279–1286, 2014.

BORBA, K.K.S. *et al.* Fatty acids, essential amino acids, minerals and proteins profile in whey from goat cheese: Impacts of raising system. **Small Ruminant Research**, v. 217, 106842, 2022.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da União**, 08 de novembro de 2000.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, 30 de março de 2017. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/20134722/do1-2017-03-30-decreto-n-9-013-de-29-de-marco-de-2017-20134698>. Acesso em 11 de maio de 2022.

BRASIL. Lei nº13.854, de 8 de julho de 2019. Institui a Política Nacional de Incentivo à Ovinocaprinocultura. **Diário Oficial da União**, 09 de julho de 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/lei-n-13.854-de-8-de-julho-de-2019-190108032>>. Acesso de 11 de maio de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Lista de Padrões Microbiológicos para Alimentos. Instrução Normativa N.º 60, **Diário Oficial da União**, 26 de dezembro de 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso de 15 de agosto de 2021.

BURITI, F.C.A. *et al.* Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. **Food Chemistry**, v. 104, n. 7, p. 1605-1610, 2007.

BURITI, F.C.A.; CARDARELLI, H.R.; SAAD, S.M.I. Textura instrumental avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus paracasei* e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 75-84, 2008.

CABRAL, C.F.S. *et al.* Environmental Life Cycle Assessment of goat cheese production in Brazil: a path towards sustainability. **LWT – Food Science and Technology**, v. 129, 2020.

CIE - COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE. Colorimetry. Vienna: CIE publication, 2. ed., 1996.

DEMERS-MATHIEU, V. *et al.* Effect of the low-fat Cheddar cheese manufacturing process on the viability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei/casei*, and *Lactobacillus plantarum* isolates. **Journal of Functional Foods**, v. 24, p. 327-337, 2016.

DE MORAIS, J.L. *et al.* Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk Greek-style yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 105, p. 1889-1899, 2022.

DE SANTIS, D. *et al.* Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt. **Journal of Food Science**, v. 84, n. 8, p. 2289-2296, 2019.

DI PIERRO, P. *et al.* Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 2324-2327, 2011.

FAGHFOORI, Z. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of probiotics effects on colorectal cancer. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 463–472, 2015.

FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division. Disponível em: < <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA/visualize>>. Acesso em 05 de outubro de 2020.

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE, 116 p. 2002.

FARRELL, JR, H.M. *et al.* Nomenclature of the Proteins of Cows' milk – Sixth Revision. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.

FAVARO, L. *et al.* Bacteriocinogenic potential and safety evaluation of non-starter *Enterococcus faecium* strains isolated from home made white brine cheese. **Food Microbiology**, v. 38, p. 228-239, 2014.

FAVARO, L.; PENNA, A. L. B.; TODOROV, S. D. Bacteriocinogenic LAB from cheeses e Application in biopreservation?. **Food Science & Technology**, v. 41, p. 37-48, 2015.

FAVRETTO, D.C.; PONTIN, B.; MOREIRA, T.R. Efeito da ingestão de um queijo acrescido de microrganismos probióticos (*Bifidobacterium lactis* bi-07) na melhora de sintomas de constipação. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 50, n. 3, p. 196-201, 2013.

FAZILAH, N.F. *et al.* Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulations of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 387 – 399, 2018.

FENG, P. *et al.* A Review on Gut Remediation of Selected Environmental Contaminants: Possible Roles of Probiotics and Gut Microbiota. **Nutrients**, v. 11, n. 22, p. 1-19, 2019.

FERRARI, I.S. *et al.* Selection of autochthonous lactic acid bacteria from goat dairies and their addition to evaluate the inhibition of *Salmonella typhi* in artisanal cheese. **Food Microbiology**, v. 60, p. 29 – 38, 2016.

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

FRITZEN-FREIRE, C.B. *et al.* Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. **Food Research International**, v. 52, p. 50–55, 2013.

GAO, J. *et al.* Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 20, n. 4, p. 3937–3982, 2021.

GARCIA, E.F. **Elaboração e caracterização de queijo coalho de leite de cabra adicionado de bactérias lácticas**. 2011. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

GRYGORCZYK, A. *et al.* Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. **Food Quality and Preference**, v. 27, n. 2, p. 215-222, 2013.

GRYLLS, A.; SEIDLER, K.; NEIL, J. Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, 2021.

GROSCLAUDE F, MARTIN P. Casein polymorphism in the goat. In: International Dairy Federation (ed), Milk protein polymorphism, special issue, 9702. **Int Dairy Federation**, Brussels, Belgium. 1997.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Ruminant Research**, v. 51, n. 2, p. 155-163, 2004.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n. 6, p. 912-916, 1989.

HAHN, R. *et al.* Bovine whey fractionation based on cation-exchange chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 795, n. 2, p. 277-287, 1998.

- HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GÓMEZ-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. *et al.* Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014.
- HODGKINSON, A. J. *et al.* Gastric digestion of cow and goat milk: Impact of infant and young child in vitro digestion conditions. **Food Chemistry**, v. 245, p. 275-281, 2018.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Ministério da Economia. Censo Agropecuário 2017 Resultados definitivos, Rio de Janeiro, v. 8, p. 1-105, 2019.
- KADYAN, S. *et al.* Effect of lactic acid bacteria and yeast fermentation on antimicrobial, antioxidative and metabolomic profile of naturally carbonated probiotic whey drink. **LWT - Food Science and Technology**, v. 142, 2021.
- KIM, S. *et al.* Physiological characteristics and anti-obesity effect of lactobacillus plantarum K10. **Korean Journal of Food Science and Animal Resource**, v. 38, p. 554-569, 2018.
- KISAN, B.S. *et al.* Effect of Ricotta matrix on viability of probiotic organism exposed to simulated gastro-intestinal (GI) digestion. **LWT – Food Science and Technology**, v. 151, p. 1-6, 2021.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LEE, J.H. *et al.* Genome sequence of *Lactobacillus mucosae* LM1, isolated from piglet feces. **Journal of Bacteriology**, v.194, n.17, p.4766, 2012.
- LONDON, L. *et al.* Characterization of a bovine isolate *Lactobacillus mucosae* DPC 6426 which produces an exopolysaccharide composed predominantly of mannose residues. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 2, p. 509–517, 2014.
- LOPES, L.A.A. *et al.* Spreadable goat Ricotta cheese addres with *Lactobacillus acidophilus* La-5: Can microencapsulation improve the probiotic survival and the quality parameters?. **Food Chemistry**, v. 346, p. 1-10, 2021.
- MARTÍN-ORTIZ, A. *et al.* Seletive biotechnological fractionation of goat milk Carbohydrates. **International Dairy Journal**, v. 94, p. 38-45, 2019.
- MARTINS, J.T. *et al.* Shelf Life Extension of Ricotta Cheese Using Coatings of Galactomannans from Nonconventional Sources Incorporating Nisin against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 1884-1891, 2010.
- MAYER, H.K.; FIECHTER, G. Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Austria. **International Dairy Journal**, v. 24, p. 57-63, 2012.

- MEIRA, Q.G.S. *et al.* Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricota and their survival under simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v.76, n. 3, p. 828-838, 2015.
- MILLER, B.A.; LU, C.D. Current status of global dairy goat production: an overview. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 32, n. 8, p. 1219-1232, 2019.
- MINERVINI, F. *et al.* Manufacture of Fior di Latte cheese by incorporation of probiotic lactobacilli. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 2, p. 508-520. 2012.
- MISRA, S.; PANDEY, P.; MISHRA, N.H. Novel approaches for co-encapsulation of probiotic bacteria with bioactive compounds, their health benefits and functional food product development: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 109, p.340-351, 2021.
- MOLLEA, C.; MARMO, L.; BOSCO, F. Valorisation of Cheese Whey, a By-Product from the Dairy Industry. In (Ed.), **Food Industry**. IntechOpen, 2013.
- MORAES, G.M.D.DE; DE ABREU, L.R.; DO EGITO, A.S.; SALLES, H.O.; SILVA, L.M.F.; NERO, L.A.; TODOROV, S.D.; DOS SANTOS, K.M.O. Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian Goat Milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 8, p. 1-11, 2017.
- MORAES, G.M.D. *et al.* Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. **LTW – Food Science and Technology**, v. 94, p. 57-63, 2018.
- NGUYEN, H.; WISMER, W. V. A comparison of sensory attribute profiles and liking between regular and sodium-reduced food products. **Food Research International**, v. 123, p. 631-641, 2019.
- NYANZI, R.; JOOSTE, P.J.; BUYS, E.M. Invited review: Probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects. **Journal of Dairy Science**, v. 104, p. 1-19, 2021.
- OLIVEIRA, M.E.G. **Queijo coalho caprino adicionado de bactérias lácticas: elaboração, caracterização e avaliação *in vitro* de potencial probiótico**. 2013. 162p. Tese (Doutorado em Ciências da Nutrição). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.
- OLIVEIRA, M. E. G. *et al.* Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**, v. 64, p. 241-247, 2014.
- ONG, L.; HENRIKSSON, A.; SHAH, N.P. Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 5, p. 446-456, 2006.
- ORDÓÑEZ, J.A. Nata, manteiga e outros derivados lácteos. In: **Tecnologia de alimentos. Alimentos de origem animal**, v.2, Editora Artmed, Porto Alegre-RS, p. 122, 2005.

PARK, Y.W. *et al.* Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, p. 88-113, 2007.

PEREIRA, R.A.G. *et al.* Physicochemical and sensory characteristics of milk from goats supplemented with castor or licuri oil. **Journal of Dairy Science**, v. 93, p. 456-462, 2010.

PEREIRA, R.A.G. *et al.* Qualidade química e física do leite de cabra distribuído no Programa Social “Pacto Novo Cariri” no Estado da Paraíba. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p.205-211, 2005.

PEREIRA, G. V. M. *et al.* How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 8, p. 2060–2076, 2018.

PICON, A. *et al.* Microbiota dynamics and lactic acid bacteria biodiversity in raw goat milk cheeses. **International Dairy Journal**, v. 58, p. 14-22, 2016.

PIRISI, A. *et al.* Sheep’s and goat’s dairy products in Italy: Technological, chemical, microbiological, and sensory aspects. **Small Ruminant Research**, v. 101, n. 1-3, p. 102-112, 2011.

PIZZILLO, M. *et al.* Effect of goat breed on the sensory, chemical and nutritional characteristics of ricotta cheese. **Livestock Production Science**, v. 94, n. 1-2, p. 33-40, 2005.

PRANDINI, A.; SIGOLO, S.; PIVA, G. A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 1, p. 55-61, 2011.

QUEIROGA, R.C.R.E. *et al.* Nutritional, texture and sensory properties of Coalho cheese made of goats’, cows’ milk and their mixture. **Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 538-544, 2013.

RYAN, P. M. *et al.* Reduced-fat Cheddar and Swiss-type cheeses harboring exopolysaccharide-producing probiotic *Lactobacillus mucosae* DPC 6426. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 8531-8544, 2019.

RAYNAL-LJUTOVAC, K. *et al.* Composition of goat and sheep milk products: An update. **Small Ruminant Research**, v. 79, n. 1, p. 57-72, 2008.

REID, G. The growth potential for dairy probiotics. **International Dairy Journal**, v. 49, p. 16-22, 2015.

RENES, E. *et al.* Production of sheep milk cheese with high γ -aminobutyric acid and ornithine concentration and with reduced biogenic amines level using autochthonous lactic acid bacteria strains. **Food Microbiology**, v. 72, p. 1-10, 2019.

REQUE, P.M.; BRANDELLI, A. Encapsulation of probiotics and nutraceuticals: Applications in functional food industry. **Trends in Food Science & Technology**, v. 114, p. 1-10, 2021.

ROLIM, F. R. L. *et al.* Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie / Food Science and Technology*, v. 63, n. 2, p. 807-813, 2015.

ROLIM, F. R. L. *et al.* Cheeses as food matrixes for probiotics: *In vitro* and *in vivo* tests. *Trends in Food Science & Technology*, v. 100, p. 138-154, 2020.

ROOS, S. *et al.* *Lactobacillus mucosae* sp. nov., a new species with in vitro mucus-binding activity isolated from pig intestine. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, v. 50, p. 251–358, 2000.

SAAD, N. *et al.* An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT e Food Science and Technology*, v. 50, p. 1-16, 2013.

SAMEER, B. *et al.* Development and characterization of probiotic buffalo milk ricotta cheese. *LWT-Food Science and Technology*, v. 121, 2020.

SATTIN, E. *et al.* Microbial dynamics during shelf-life of industrial Ricotta cheese and identification of a *Bacillus* strain as a cause of a pink discolouration. *Food Microbiology*, v. 57, p. 8-15, 2016.

SELLE, K.M.; KLAENHAMMER, W.M.; RUSSEL, M. LACTOBACILLUS - *Lactobacillus acidophilus*. Reference Module in Food Science. Encyclopedia of Food Microbiology (2ª Edição), p. 412-417, 2014.

SCHULMEISTER, U. *et al.* Cloning, expression, and mapping of allergenic determinants of S1-casein, a major cow's milk allergen. *The Journal of Immunology*, v. 182, n. 11, p. 7019-7029, 2009.

SILVA, R. *et al.* Microencapsulation with spray-chilling as an innovative strategy for probiotic low sodium requeijão cremoso processed cheese processing. *Food Bioscience*, v. 46, 2022.

SILVEIRA, E.O. *et al.* 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. *Food Science and Technology*, v. 62, p. 445-451, 2015.

SON, S. *et al.* Antioxidant and immunostimulatory effect of potential probiotic *Lactobacillus paraplantarum* SC61 isolated from Korean traditional fermented food, *jangajji*. *Microbial Pathogenesis*, v. 125, p. 486-492, 2018.

SOUZA, M.F.S. *et al.* Characterisation of goat product consumers and goat farming systems in the Brazilian Northeast region, *Small Ruminant Research*, v. 179, p. 7-13, 2019.

SOUZA, J. V.; DIAS, F.S. Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products. *Current opinion in Food Science*, v. 13, p. 1-9, 2017.

STORRY, J. E. *et al.* Chemical composition and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminants. **Journal of Dairy Research**, v. 50, n. 2, p. 215-229, 1983.

TABOADA, N. *et al.* Influence of autochthonous cultures on fatty acid composition, esterase activity and sensory profile of Argentinean goat cheeses. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 86-94, 2015.

TERPOU, A. *et al.* Probiotics in Food Systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. **Nutrients**, v. 11, n. 1591, 2019.

TERZIC-VIDOJEVIC, A. *et al.* Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses. **LTW – Food and Technology**, v. 63, p. 298 – 306, 2015.

THUM, C. *et al.* Composition and enrichment of caprine milk oligosaccharides from New Zealand Saanen goat cheese whey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 42, p. 30-37, 2015.

TOMAR, O. *et al.* Some Characteristics of Erzincan Tulum Cheese Produced Using Different Probiotic Cultures and Packaging Material. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 24, n. 5, p. 647-654, 2018.

TORRES, S. *et al.* An overview of plant-autochthonous microorganisms and fermented vegetable foods. **Food Science and Human Wellness**, v. 9, p. 112-123, 2020.

VALAN ARASU, *et al.* Isolation and characterization of antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* KCC-10 from forage silage with potential beneficial properties. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, p. 1172-1185, 2013.

VALERIANO, V.D.; PARUNGAO-BALOLONG, M.M.; KANG, D.K. In vitro evaluation of the mucin-adhesion ability and probiotic potential of *Lactobacillus mucosae* LM1. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, p. 485-497, 2014.

VALERIANO, V.D.V. *et al.* Comparative genomic analysis of *Lactobacillus mucosae* LM1 identifies potential niche-specific genes and pathways for gastrointestinal adaptation. **Genomics**, v. 111, p. 24-33, 2019.

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

VICKERS, Z. Sensory specific satiety in lemonade a just right scale for sweetness. **Journal of Sensory Studies**, v. 3, p. 1-8, 1988.

WANG, X.; ZHANG, P.; ZHANG, X. Probiotics Regulate Gut Microbiota: An Effective Method to Improve Immunity. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 1-15, 2021.

WANG, G. *et al.* Probiotics-based interventions for diabetes mellitus: A review. **Food Bioscience**, v. 43, p. 1-8, 2021.

WHITE, J.A.; HART, R.J.; FRY, J.C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of Automatic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 170-177, 1986.

XIAOMIN, Y. *et al.* A novel strain of *Lactobacillus mucosae* isolated from a Gaotian villager improves in vitro and in vivo antioxidant as well as biological properties in d-galactose-induced aging mice. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, 2016.

YADAV, J.S.S. *et al.* Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 756-774, 2015.

YASMIN, I. *et al.* Characterization and Comparative Evaluation of Milk Protein Variants from Pakistani Dairy Breeds. **Food Science of Animals Resource**, v. 40, n. 5, p. 689-698, 2020.

ZENG, S.S. *et al.* Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. **Small Ruminant Research**, v. 69, p. 180-186, 2007.

ZHENG, J. *et al.* A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2021.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE
(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Convidamos V.Sa. a participar de modo voluntário da pesquisa intitulada como **Desenvolvimento de creme de ricota caprino adicionado da cepa autóctone com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC007**, sob a responsabilidade do pesquisador (a) responsável, Msc. MÁRCIA GABRIELLE SILVA VIANA, doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências da Nutrição, da Universidade Federal da Paraíba, com objetivo de elaborar e caracterizar aspectos tecnológicos, físico-químicos, químicos, microbiológicos e sensoriais de creme de ricota caprino adicionado de cepa autóctone *Lactobacillus mucosae* CNPC007.

Para realização deste trabalho será aplicado questionário de análise sensorial. Serão solicitadas informações apenas a respeito da percepção do provador em relação ao produto, incluindo as características e hábito de consumo.

Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa é o de apresentação de reação alérgica a algum componente do produto elaborado. Estes serão minimizados a partir da informação aos mesmos sobre os ingredientes com potencial alergênico presentes no produto. Caso aceite participar, estará contribuindo para a divulgação científica e caracterização do produto elaborado. Ao participar deste estudo o (a) senhor (a) não terá nenhum custo e nenhum tipo de remuneração.

Esclarecemos que manteremos em anonimato, sob sigilo absoluto, durante e após o término do estudo, todos os dados que identifiquem o sujeito da pesquisa usando apenas, para divulgação, os dados inerentes aos resultados encontrados.

O (a) senhor (a) terá os seguintes direitos: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si ou para seu tratamento (se for o caso); a garantia de que em caso haja algum dano a sua pessoa (ou o dependente), os prejuízos serão assumidos pelas pesquisadoras ou pela instituição responsável, inclusive acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso).

O TCLE deverá ainda ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término, pelo participante da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, devendo as páginas de assinatura estar na mesma folha.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, com “munus público”, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos sujeitos em sua integridade e

dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – Resolução CNS 466/12).

Nos casos de dúvida e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar a pesquisador responsável: Márcia Gabrielle Silva Viana, telefone (83) 98703-6858, e-mail mgabisviana@gmail.com. Caso suas dúvidas não sejam esclarecidas pela pesquisadora ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao **Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde/UFPB**, e-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br, Fone: (83) 3216 7791.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, após ter recebido todos os esclarecimentos e ciente dos meus direitos, concordo em participar desta pesquisa, bem como autorizo a divulgação e a publicação de toda informação por mim transmitida, exceto dados pessoais, em publicações e eventos de caráter científico. Desta forma, assino este termo, juntamente com o pesquisador, em duas vias de igual teor, ficando uma via sob meu poder e outra em poder do(s) pesquisador (es).

Local: _____ Data: ____/____/____

Assinatura do sujeito

Assinatura da pesquisadora

APENDICE B – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL – TESTE JAR OU ESCALA DO IDEAL

Universidade Federal da Paraíba, campus 1, João Pessoa

Idade:____Sexo:_____Escolaridade:_____Data: _____

Por favor, prove a amostra _____de creme de ricota caprino e indique na escala abaixo, sua opinião

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais cremoso que o ideal	☐ Um pouco mais cremoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos cremoso que o ideal	☐ Extremamente menos cremoso que o	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Em relação ao sabor salgado:

☐ Extremamente mais salgado que o ideal	☐ Um pouco mais salgado que o	☐ Ideal
☐ Um pouco menos salgado que o ideal	☐ Extremamente menos salgado que o ideal	

Em relação ao sabor caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

Por favor, prove a amostra _____ de creme de ricota caprino e indique na escala abaixo, sua opinião

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais cremoso que o ideal	☐ Um pouco mais cremoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos cremoso que o ideal	☐ Extremamente menos cremoso que o	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Em relação ao sabor salgado:

☐ Extremamente mais salgado que o ideal	☐ Um pouco mais salgado que o	☐ Ideal
☐ Um pouco menos salgado que o ideal	☐ Extremamente menos salgado que o ideal	

Em relação ao sabor caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

Por favor, prove a amostra _____ de creme de ricota caprino e indique na escala abaixo, sua opinião

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais cremoso que o ideal	☐ Um pouco mais cremoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos cremoso que o ideal	☐ Extremamente menos cremoso que o	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Em relação ao sabor salgado:

☐ Extremamente mais salgado que o ideal	☐ Um pouco mais salgado que o	☐ Ideal
☐ Um pouco menos salgado que o ideal	☐ Extremamente menos salgado que o ideal	

Em relação ao sabor caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o	

APENDICE C – FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL – TESTE DE ACEITAÇÃO, ORDENAÇÃO DE PREFERÊNCIA E INTENÇÃO DE COMPRA

Você está recebendo 03 amostras codificadas de creme de ricota caprino.

Por favor, prove as amostras da esquerda para direita. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra, coma o biscoito e lave a boca com água para retirar sabor residual. Repita esse procedimento entre cada amostra.

Avalie, de acordo com a escala abaixo, os atributos especificados:

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

AMOSTRA	APARÊNCIA	COR	CONSISTÊNCIA	AROMA	SABOR	ACEITAÇÃO GERAL

Observações:

Ordene-as de acordo com a sua preferência:

	Mais Preferida	—————→	Menos preferida
Posto	1º Lugar	2º Lugar	3º Lugar
Código			

Avalie cada amostra em relação a sua intenção de compra conforme escala abaixo:

- 5 – Certamente compraria
- 4 – Possivelmente compraria
- 3 – Tenho dúvidas se compraria
- 2 – Possivelmente não compraria
- 1 – Certamente não compraria

AMOSTRA	NOTA

APENDICE D – ARTIGO 1

Effect of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 supplementation on technological, nutritional, and fermentation parameters of goat ricotta cream formulations

Abstract

In this study we developed three different types of goat ricotta cream, as follows: CRC (Control ricotta cream) without probiotic, RCLM (ricotta cream added with *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007), RCLA (ricotta cream added with a commercial strain *Lactobacillus acidophilus* La-5, and evaluated the effect of the probiotic addition on technological, nutritional and fermentation characteristics during refrigerated storage (1, 14 and 28 days). The addition of probiotic bacteria did not alter the goat ricotta cream yield. The RCLA and RCLM samples showed greater brightness and lower tendency to green color. The texture profile analysis evidenced that the probiotic strain addition influenced the adhesiveness, that was lower in the RCLM. The water activity remained stable in all the samples. There was a decrease in lactose content and an increase in titratable acidity. The RCLA and RCLM formulations showed a maintenance of bacterial viability greater than the recommended minimal limit of $6 \log$ CFU/g during the storage. The RCLM sample presented greater proteolysis depth index and a greater release of free amino acids. This study concluded that the incorporation of probiotic strains into goat ricotta cream improve or did not influence negatively on technological, nutritional and fermentation parameters.

Keywords: Cream cheeses, *Lactobacillus* spp., texture profile analysis, fermentation parameters, protein profile.

1. Introduction

In the functional food industry, probiotics stand out as excellent options towards providing added product value (Barbosa et al., 2016; Moraes, Santos, Barcelos, Lopes, & Egypt, 2018; Misra, Pandey, & Mishra, 2021). This is because of their great potential to influence the composition of the gut microbiota (Wang, Zhang, & Zhang, 2021), and promote antihypertensive effects in both animal models and in hypertensive patients (Grylls, Seidler, & Neil, 2021). They promote stronger immune system response (Son et al., 2018),

anticarcinogenic effects (Legesse Bedada et al., 2020; Faghfoori, Gargari, Gharamaleki, Bagherpour, & Khosroushahi, 2015), and alter glucose metabolism, to favor blood glucose reduction in diabetic patients (Wang, Liu, Xia, & Ai, 2021).

The internationally accepted concept of probiotics is that they are living microorganisms which when ingested in adequate amounts, confer health benefits to the host (Hill et al., 2014). In order to be classified as probiotics, bacteria must present certain important characteristics such as resistance to prevailing conditions in the gastrointestinal tract, ability to adhere to the intestinal mucosa, and production of antimicrobial compounds (Pereira, Coelho, Magalhães Júnior, Thomaz-Soccol, & Soccol, 2018).

In general, the genera most frequently used as probiotics in food matrices are *Lactobacillus* (recently with altered taxonomy, Zheng et al., 2020), and *Bifidobacterium*. Both are associated with favorable effects on consumer health (Silva et al., 2022). *Limosylactobacillus mucosae* strains have been isolated from goat's milk, and in vitro tests reveal their probiotic potential, with emphasis on *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (Moraes et al., 2017), this raises interest in use for development of new goat products (Dantas et al., 2022; Morais et al., 2022; Moraes et al., 2018).

Due to their beneficial health effects and good sensory acceptance, the demand for fermented dairy products has been growing (Terzic -Vidojevic et al., 2015). Some studies point to cheese as a good vehicle for probiotic microorganisms, having greater potential to carry probiotic bacteria than other fermented dairy products (Moraes et al., 2018; Kisan et al., 2021). This is due to the characteristics that some cheeses enjoy, such as a slightly acid pH, high fat contents, and solid consistency, all of which provide greater protection to microorganisms during passage through the gastrointestinal tract (Barbosa et al., 2016; Meira et al., 2015; Kisan et al., 2021). The addition of probiotic cultures to dairy matrices, including cheeses, promotes consumer health benefits, and yet is also a strategy for bringing additional nutritional,

technological, and sensory qualities to the product (Lopes et al., 2021; Oliveira, Garcia, Queiroga, & Souza, 2012).

Goat's milk presents high nutritional value. It contains oligosaccharides, short-chain fatty acids, vitamins, minerals, and proteins of high biological value, as well as a great concentration of smaller fat globules, which allow for better, faster absorption (Verruck, Dantas, & Prudencio, 2019; Yangilar, 2013). Such characteristics permit innovation in the elaboration of fermented dairy products such as cheeses, dairy drinks, yogurts, frozen yogurt, ice cream, and butters, among others (Aryana & Olson, 2017; Verruck, Dantas, & Prudencio, 2019). However, the specific sensory characteristics of this milk matrix, such as its odor and flavor, have had a negative impact on consumption. This encourages the use of strategies that promote better acceptance (Bezerril et al., 2021; PAN et al., 2019). The development of new goat-derived products would allow for greater diversification and acceptance of goat milk by consumers (Souza & Dias, 2017).

Ricotta cream is obtained from the homogenization of ricotta cheese with other ingredients, it has a smooth consistency and can potentially serve as a carrier for probiotic bacteria (Buriti, Cardarelli, Filisetti, & Saad, 2007). Goat ricotta cheese, for example, has shown to be a good carrier of probiotics both during storage and when subjected to gastrointestinal tract simulations (Meira et al., 2015). However, as of this writing, there are no studies evaluating the quality impacts of adding an autochthonous probiotic strain (*Limosilactobacillus mucosae* CNPC007) to goat ricotta cream.

We aimed to develop three goat ricotta cream formulations through addition of an autochthonous strain - *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (RCLM), and separately, using a commercial strain *Lactobacillus acidophilus* La-5 (RCLA), and a control ricotta cream (CRC) without probiotic, to then characterize the formulations for their technological, nutritional, and fermentation aspects during cold storage.

2. Material and methods

2.1 Raw materials

Goat milk and butter used to produce goat ricotta cream were obtained from a cooperative in Monteiro, Paraíba, Brazil. The goat milk and butter were previously pasteurized (65°C/30 min) and stored under freezing ($-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) until be used to whey obtention. The commercial coagulating agent (0.9 mL L^{-1}) used to whey obtainment was HA-LA liquid coagulante (microbial chemosin - *Aspergillus niger* var *awamori*), from Christian Hansen® (Valinhos, Minas Gerais, Brazil) and Calcium chloride (CaCl_2) P.A, from FMaia® Ltda. (Cotia, São Paulo, Brazil), both were commercialy acquired. The indigenous culture *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 was obtained from the "Collection of Microorganisms of Interest to the Food and Agroenergy Industry" of Embrapa Agroindustry Tropical (Fortaleza, Ceará, Brazil), and was cultivated according to Moraes et al. (2017). The comercial probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* La-5 from Christian Hansen® was commercialy acquired.

2.2 Preparation of the inoculum and obtaining goat's milk whey

The *L. acidophilus* La-5 and *L. mucosae* CNPC007 strains (freeze dried) were weighed, and we considered a concentration of 0.05g of inoculum for each liter of milk used in the preparation of the ricotta creams. The microorganisms were first separately inoculated into goat milk powders (reconstituted with sterile water) (Caprilat®, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brazil). These were then incubated at 37 °C in aerobiosis, for approximately 22 h after inoculation (stationary phase), in a BOD incubator (Biochemical Oxygen Demand – Marconi, MA415, Piracicaba/SP, Brazil). After this multiplication period (to obtain the final inoculum), they were inoculated directly into the ricotta cream, together with the other ingredients, before final homogenization. The cell counts of *L. acidophilus* La-5, and *L. mucosae* CNPC007 in the

inoculum varied between 8.5 and 9 log colony forming units per milliliter – CFU/ mL. The counts of *L. acidophilus* La-5, and *L. mucosae* CNPC007 were confirmed by serially diluting the inoculum in peptone water at a concentration of 0.1 g/100 mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA). For this, 10 µL aliquots of the dilutions (10^{-3} to 10^{-6}) were seeded on MRS agar (Oxoid Ltd., Basigstoke, UK), for *L. acidophilus* La-5, and on MRS agar (Oxoid Ltd., Basigstoke, UK) acidified to pH 5 (IDF, 1995), for *L. mucosae* CNPC007, using microdrop technique. The plates were then incubated at 37°C - respectively for 72 and 48 hours, and in anaerobic and aerobic conditions for counting *L. acidophilus* La-5 and *L. mucosae* CNPC007. The results were expressed in colony forming units per milliliter – CFU/ mL.

2.3 Manufacture of goat ricotta cream

After whey goat whey obtainment, the steps to formulate the goat ricotta cream were followed as presented in Fig.1, according to methodology adapted from Meira et al. (2015) and Fritzen-Freire et al. (2013).

The inoculum containing the probiotic strains was added during the final step of mixing the ingredients. The formulations were packed in glass containers with lids, properly sanitized, and stored under refrigeration ($4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) for 28 days. Characterizations were performed in triplicate at 1, 14, and 28 days of cold storage.

2.4 Goat ricotta cream characterization

2.4.1 Evaluation of technological characteristics

The evaluation of technological characteristics of goat ricotta cream was based on yield (Zeng, Sorval, Fekadu, Bah, & Popham, 2007), texture profile and color analysis, according to Borba et al. (2014) and CIE (1996), respectively.

2.4.1.1 Yield

The yield of goat ricotta cream was determined according to Borba et al. (2014) and expressed as the fresh weight of the cheese obtained from each liter of the milk and whey mixture used for production (g of cheese per L of whey and milk – g/L).

2.4.1.2 Instrumental textural analysis

The texture parameters (hardness, springiness, adhesiveness, cohesiveness, gumminess and chewiness) were determined using a double compression test, with TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Haslemere, Reino Unido). A cylindrical probe with a diameter of 25 mm (P25), with a rate programmed to a speed of 1 mm/s and maximum penetration depth of 10 mm (Borba et al., 2014).

2.4.1.3 Color analysis

A CR-300 Minolta® colorimeter (New Jersey, USA) was used for the instrumental color evaluation. The CIELab scale was Applied, L*, a* and b* parameters were determined according to the International Commission on Illumination (CIE, 1996). The colorimeter was calibrated before the measurement.

2.4.2 Evaluation of physical and physical-chemical characteristics

The water activity was determined using a Aqualab® equipment (model CX-2 Water Activity Sistem®, Washington – USA) according to Aqualab manual (Aqualab, 2001). The pH values were measured using a potentiometer (model pH Meter Tec-2 Tecnal®, Piracicaba, BRAZIL), at 25°C, previously calibrated. The titratable acidity was measured according to AOAC (2019).

The moisture, total solids, ash, and protein contents were determined according to the methodology recommended by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2019). The lipids were determined according to methodology described by Folch, Less e Stanley (1957).

2.4.3 Sugar and organic acid profiles – fermentation parameters

The sugar (lactose) and organic acids (propionic, acetic, lactic, and citric) profiles were determined according to Ball, Bullock, Lloyd, & Mapp (2011), through high-performance liquid chromatograph (HPLC) using AGILENT®-model 1260 Infinity LC, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA. The data obtained were processed using OpenLAB CDS ChemStation Edition™ software (Agilent Technologies®). The lactose standard was obtained from Sigma-Aldrich (st. Louis, USA). The standards of organic acids were obtained from Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brazil), all with a purity of $\geq 99\%$. Ultrapure water was obtained using a MilliQ® system (EMD Millipore). All results were expressed in g/100g.

2.4.4 Determination of the protein profile

The soluble protein concentration was determined using the Bradford method (1976). For this, the ricotta cream samples were weighed and diluted to 1 mg of sample per 1 mL of ultrapure water. After complete dilution, 100 μ L of each sample was transferred to test tubes, and 2.5 mL of Bradford Reagent was added (Factor 48.22, Line Equation $y=0.019 \times R^2=99.63\%$). After 10 min at rest, the absorbance was read at 595 nm (Ultrospec 1100 Pro Amersham Biosciences, UK). The blank was performed using water. The samples were read in plastic cuvettes, and the reagent standard curve was made using BSA (Bovine Serum Albumin). The calculation was made using the method formula and the line equation.

The proteolysis index (extent and depth) was determined using the micro-Kjeldahl method (AOAC, 2019). Proteolysis was evaluated based on the extent and depth of the proteolysis index, according to Andreatta et al. (2007).

The electrophoretic profile of the proteins was performed using the technique described by Laemmli (1970). For the cheese samples, we chose a 15% concentration gel, and a 3.5% separation gel. 4 mg of each sample was weighed, with subsequent dilution in 100 μ L of buffer (SDS, betamercaptoethanol, bromophenol blue, Tris, and water), then heating at 100°C for 10 min in an oven, and centrifuging at 10,000 rpm for 1 min. For the run, 15 μ L of each sample was applied in the gel, using the High Molecular Weight Marker (Amersham™ ECL™ Rainbow™ Marker - Full range marker). The run was performed for 6 hours at 300 v and 50 mA. The gel was fixed in an acetic acid, methanol and water solution, stained in a Coomassie G250 solution in 10% acetic acid, and then un-stained in 10% acetic acid. The gels were edited in the Image J program for Windows.

2.5 Viability of probiotic strains during refrigerated storage

The enumeration of viable cells of *L. mucosae* CNPC007 e *L. acidophilus* La-5 was performed in 1, 14, and 28 days of refrigerated storage. For that, 25 g of goat ricotta cream samples were diluted in 225 mL of sterile peptone water (0,1g/100g) (Sigma, St.Louis MO, EUA). Then, serial dilutions were continued until reaching 10^{-6} . 10 μ L of each dilution were inoculated on Man Rogosa and Sharp (MRS) agar (BIOKAR Diagnostics, França), acidified until pH 5,0 (Moraes et al., 2018), for count of *L. mucosae* CNPC007. The plates were incubated at 37°C for 48h under aerobiosis. To enumeration of viable cells of *L. acidophilus* La-5, plates containing MRS agar were incubated at 37°C for 72h under anaerobiosis (BD GasPak™ EZ Anaerobe container system, Becton, Dickinson and Company, USA). The results were expressed in log de UFC/g.

2.6 Statistical analysis

The experiment followed a completely randomized design and was repeated three times. Data were submitted to the Student's t test or analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test of means considering $p \leq 0.05$. To calculate the data, the Sigma Stat software package was used. 3.5 (Jandel Scientific Software, San Jose, California) (SIGMASTAT, 2006).

3. Results and Discussion

3.1 Technological characteristics

The yield varied between 5.31 g/100 g and 5.74 g/100 g, with no influence of the probiotic bacteria on this parameter ($p > 0.05$). The values found were higher than those observed by Meira et al. (2015), and lower than those of Borba et al. (2014), who (respectively) worked with goat ricotta cheese, and goat and bovine milk creamy ricotta cheese. Regarding the color analyses, in general, the ricotta cream formulations tended to have a higher luminosity (L^*) with a yellowish-green hue. L^* values that ranged between 73.24 and 89.57, a^* values between -1.05 and -1.92, and b^* values between 5.37 and 7.88. The high values of luminosity (L^*) were related to the constituent protein matrix in all formulations (Sameer, Ganguly, Khetra, & Sabikhi, 2020). Goat cheeses generally have higher luminosity when compared to bovine cheese, which is partly explained by the smaller size of goat milk fat globules (Borba et al., 2014), and because goats have greater facility converting beta-carotene into vitamin A (Lucas et al., 2014). The low values of a^* referred to a tendency towards a green color that all of the samples presented, we emphasize that the Control Ricotta Cheese (CRC) formulation presented a stronger green hue than the formulations with the probiotic strains ($p \leq 0.05$). The same behavior was observed by Meira et al. (2015), when they evaluated goat ricotta, and by Sameer et al. (2020), studying probiotic ricotta made with buffalo milk. This greater tendency

towards a green hue can be explained by the presence of riboflavin, which is responsible for greenish coloration of whey used in the production of ricotta (Mestdagh, Kerkaert, Cucu, & Meulenaer, 2011; NOZIÈRE et al., 2006). We noted that the green chromaticity (a^*) diminished during storage for all formulations ($p \leq 0.05$), this may be related to riboflavin oxidation over time.

The b^* values increased in all samples during storage and were always higher in the RCLM formulation ($p \leq 0.05$). This parameter is related to the color spectrum that varies from blue ($-b^*$) to yellow ($+b^*$), and we found that it was influenced both by time and the type of ricotta cream. Various factors can contribute to color change during the processing of dairy products, including heat/pasteurization and handling (Prudencio et al., 2014). Pasteurization carried out during the elaboration of ricotta can also favor Maillard reactions, influencing the color of the product, and cause yellowing (Dattatreya & Rankin, 2006).

In terms of instrumental texture, the firmness parameter is related to the force required for pre-deformation of the sample. The values obtained for this parameter varied between 0.71 and 1.66 N. Since ricotta cream is characterized as a smooth consistency product, low firmness values are expected. We found other studies in the literature whose values were close to ours when using similar samples (Fritzen-Freire et al., 2013, Lopes et al., 2021).

In this study, we noted reductions in firmness, chewiness, and gumminess for all samples during storage ($p \leq 0.05$). This may have been due to weakening of the cheese protein matrix by the action of residual coagulant and microbial enzymes (Silva, Silva, Garcia, & Santos, 2019). The reductions in these parameters may also have resulted from increases in acidity that commonly occur in fermentation processes (Moraes et al., 2018). These were higher for the formulations supplemented with probiotic strains, especially RCLM ($p \leq 0.05$) beginning at 14 days of storage (Table 2). An increase in acidity during storage, both from lactic acid and from the organic acids produced during fermentation, can promote disintegration of

the product, which, according to Buriti, Rocha & Saad (2005), yields consequent drops in firmness, chewiness, and gumminess parameters. The RCLM formulation presented the highest acidity, with lower values of firmness, chewiness, and gumminess to at least 14 days of storage ($p \leq 0.05$).

The formulations tended to become less adhesive during storage ($p \leq 0.05$), and ranged from -1157.58 to -419.31, the samples being more adhesive (more negative) on the first day of storage. This may be related to increased exopolysaccharide production by lactic acid bacteria present in the ricotta creams at the beginning of storage (BONFIM et al., 2020). In general, the cheeses, because they are creamy, did not present high elasticity values (0.95 to 0.96), and the influence of the addition of the probiotic strains and of storage time on this variable was not observed ($p > 0.05$). During the storage period, no influence on cohesiveness was observed with probiotic strain supplementation ($p > 0.05$).

3.2 Physical and physico-chemical characteristics

Table 2 presents the data obtained for analysis of the physical and physico-chemical characteristics of the goat ricotta cream formulations.

Fresh ricotta is a very high moisture cheese, that is, moisture not lower than 55% (BRASIL, 2020). The moisture values observed for the ricotta cream samples ranged from 68.56 to 71.80 g/100 g, meeting the requirements of Brazilian legislation. Moisture was maintained throughout storage for both CRC and RCLM ($p > 0.05$), and at 28 days of storage RCLA presented higher moisture contents ($p \leq 0.05$) than the other formulations.

As expected and in the case of fermented products, an increase in lactic acid acidity was observed for all three formulations during refrigerated storage ($p \leq 0.05$). However, in the ricotta creams supplemented with probiotic bacteria, RCLM (followed by RCLA) presented proportionally greater increases ($p \leq 0.05$). Alongside the acidity increases in the formulations

during storage, there was a reduction in pH ($p \leq 0.05$), this result is expected due to increases in lactic acid production (Table 3). In a study carried out by Meira et al. (2015) with goat ricotta cheese, both titratable acidity and pH increased in samples supplemented with probiotic bacteria. However, the authors evaluated their formulations only at 1 and 7 days of storage, which is perhaps insufficient time to observe the fermentative behavior of the added probiotic bacteria. At the end of the cold storage period (our study), addition of probiotic microorganisms resulted in lower lactose values ($p \leq 0.05$, Table 3), this, as in a study by Lopes et al. (2021), and which can be explained by considering the action of lactic acid bacteria and/or probiotics, which convert lactose into lactic acid, justifying the data observed for acidity and pH.

The water activity values showed no significant difference between treatments and remained constant during the storage period ($p > 0.05$). There was also no influence of storage time on fixed mineral residue (minerals content). In general, the total protein contents remained constant throughout storage ($p > 0.05$), except for RCLA, which at 28 days presented a slightly higher protein content ($p \leq 0.05$). The CRC and RCLM formulations presented an increase in the amount of lipids observed during storage ($p \leq 0.05$), with higher concentrations at 28 days for the RCLM formulation ($p \leq 0.05$).

3.3 Profile of sugars and organic acids - fermentation parameters

Table 3 presents the fermentation parameters (sugar and organic acid profiles) of goat ricotta cream formulations.

Corroborating the acidity and pH data, and indicative of fermentation processes, there was a reduction in lactose content for all formulations during storage, indicating consumption, being especially in the formulations with probiotic bacteria ($p \leq 0.05$). Along with the increase in lactose consumption, there was greater production of lactic acid ($p \leq 0.05$), which was the

predominant organic acid in all formulations, especially in RCLA and CRC at 28 days of storage ($p \leq 0.05$).

Lactic acid can result from the metabolism of starter and/or probiotic cultures during fermentation (Bezerril et al., 2021; Costa, Frasao, Lima, Rodrigues, & Conte Junior, 2016 ; Fuente, Luz, Puchol, Meca, & Barba, 2021). This may remove pyruvic acid, convert malic acid, and/or degrade lactose as well (Ozcan, Ozdemir, & Avci, 2021).

Followed by acetic acid, propionic acid was the second most predominant organic acid in the formulations. Propionic acid is a short-chain fatty acid (SCFA) which has an important role in stimulating ATP production (Singh, Vishwakarma, & Singhal, 2018). It is also known to have other benefits such as inhibiting cholesterol synthesis, and helping to fight various diseases such as diabetes, cancer, obesity, and autoimmune diseases (Diez-Gutierrez et al., 2020). Short-chain fatty acid synthesis is characteristic of fermentation activity in probiotic strains (Nagpal et al., 2018) and lactic acids are naturally present in milk. Thus, consumption of goat ricotta cream may well be beneficial for people suffering from the above health conditions. The presence of acetic acid in ricotta can result from lactic acid fermentation or addition during processing. Acetic acid concentrations remained constant in the samples throughout the storage period ($p > 0.05$).

3.4 Protein profile

Proteolysis is one of the most important biochemical mechanisms for the development of texture and flavor during cheese maturation, both through protein breakdown and formation of secondary metabolites, including peptides and free amino acids (Salum et al., 2018).

The concentration of soluble proteins in the goat ricotta cream formulations at 1 and 28 days of storage is shown in Table 4. At 28 days of storage, there was a reduction in the concentration of proteins in CRC and RCLM, and an increase in RCLA ($p \leq 0.05$). The results

are consistent with the protein content observed in the samples during storage, where only the RCLA sample presented an increase in soluble proteins.

The proteolysis values index in extent and depth during cold storage of the goat ricotta cream formulations are presented in Table 4. There was an increase in proteolysis in both extent and depth during storage, mainly in the supplemented formulations - RCLM and RCLA ($p \leq 0.05$). It is known that extensive proteolysis is related to the activity of enzymes present in the coagulating agents and microbial enzymes used to make cheese. These degrade proteins into high molecular weight peptides (Xia et al., 2022). Deep proteolysis is related to the presence of low molecular weight substances, and results from the activity of proteolytic enzymes, which act by degrading casein peptides into smaller peptides and free amino acids (Bezerra et al., 2016).

In the ricotta cream elaboration, there was no addition of enzymes which act as coagulating agents. However, there may have been a residual presence of chymosin, an enzyme used in the manufacture of rennet or curd cheese, a process from which we obtained the goat whey for the preparation of the formulations studied. In our study, the amount of chymosin enzyme (rennet) added during the processing of the ricotta cheeses was the same for all formulations, which leads us to believe that the differences observed in RCLM and RCLA were more related to enzymes produced by the probiotic strains, rather than rennet activity. The highest (in depth) indices of proteolysis were observed in the supplemented ricotta cream samples (the addition of probiotic bacteria - RCLA and RCLM), on day 28. This was probably due to the action of microbial enzymes presenting direct activity involving the release of medium and small molecular weight peptides, and free amino acids. Similar behavior has also been observed by Oliveira et al. (2012), when evaluating goat curd cheese supplemented with commercial probiotic bacteria.

Bontinis et al. (2012), investigating changes which occur during goat cheese maturation, found higher proteolysis rates (both extent and depth), higher than that observed in the present study. However, the maturation period followed by their group was 180 days. Our ricotta cream formulations were fresh and un-ripened cheeses, and 28 days was likely not long enough to observe a more pronounced proteolysis.

The electrophoretic profile, observed at 1 day and day 28 of storage is presented in Figure 2. Casein fractions (α_{s2} -casein 25.23 kDa), α -lactoalbumin (14 kDa), β -lactoglobulin (18 kDa), dimers of β -lactoglobulin (36 kDa), serum albumin (66.33 kDa), and lactoferrin (80 kDa) were all identified in the image. The composition of goat milk whey is predominantly water, followed by lactose and soluble proteins, these include: α -lactoalbumin, β -lactoglobulin, serum albumin, lactoferrin, immunoglobulins, and casein macropeptides (Campos et al., 2022; Verruck, Dantas, Prudence, 2019). It is not possible to affirm a significant change in the amount of protein fractions identified. However, the image suggests that on day 28 there was an increase in low molecular weight peptides (between 12 and 20K) in all samples, which is indicative of an increase in deep proteolysis.

Ricotta, the main ingredient in ricotta cream, is a cheese made from whey, with the addition of up to 20% skimmed milk per volume of whey used. Significant amounts of soro-proteins are therefore expected. Casein, although not the main protein of this type of product, is present in milk (added during the product's manufacture), and in goat milk whey, in the form of casein macropeptides (Campos et al., 2022), justifying its appearance during electrophoresis.

Miloradovic et al. (2017) studied the effect of heat treatment on goat cheeses, and in relation to the electrophoretic profile, the presence of α_s -casein, β -casein, β -lactoglobulin, α -lactoalbumin, and traces of lactoferrin were identified.

Campos et al. (2022), when characterizing goat whey proteins, identified the presence of α -lactoalbumin, β -lactoglobulin, serum albumin, and lactoferrin (in greater amounts), and

traces of casein and immunoglobulins. These results are similar to those found in the present study. In another study, in which proteolysis was evaluated in goat curd cheeses supplemented with probiotic bacteria, the presence of α_2 -casein and β -casein were detected in the electrophoretic profile, the latter being predominant, a result expected for the type of cheese analyzed (Bezerra et al., 2016).

We also evaluated free amino acid profiles, which are presented in Table 5. In general, there was a reduction in free amino acids during storage, mainly for the CRC formulation ($p \leq 0.05$). On the other hand, we observed an increase in the concentrations of glutamic acid, alanine, and proline during storage for RCLM, and glutamic acid, arginine, tyrosine, and phenylalanine for RCLA ($p \leq 0.05$), corroborating the data found for deep proteolysis, which was higher in the formulations with the probiotic strains. The increase in total free amino acids (TFAA) during storage is in agreement with the results of Abellán et al. (2012), for goat's milk cheese made with animal rennet and vegetable coagulant; as observed in goat's milk cheese made with different coagulants (Pino, Prados, Galán, Vivo, & Fernández - Salguero, 2009); and in Caciocavallo cheese made with milks of different species (Niro et al., 2017). The different TFAA levels reported in the cited works reveal high TFAA content variability in these cheeses, attributable to the different maturation ages and conditions, different types of milk, and different technologies used.

At 28 days of storage RCLM stood out for presenting higher amounts ($p \leq 0.05$) of the essential amino acids threonine (12.26 mg/100 g), lysine (6.58 mg/100 g), phenylalanine (4.49 mg /100 g), isoleucine (1.52 mg/100 g), methionine (0.83 mg/100 g), leucine (0.47 mg/100 g), and non-essential amino acids histidine (38.16 mg/ 100 g) and tyrosine (31.67 mg/100 g). By the end of storage, RCLA stood out for presenting, higher amounts ($p \leq 0.05$) of the essential amino acids phenylalanine (4.46 mg/100 g), valine (1.29 mg/100 g), and methionine (1.00 mg /100 g), and the non-essential amino acids arginine (21.79 mg/100 g), glutamic acid (18.35

mg/100 g), proline (16.34 mg/100 g), glycine (12.01 mg /100g), cysteine (10.17mg/100g), and alanine (6.03mg/100g).

It is noteworthy that Leucine, together with the other branched-chain amino acids (such as Valine), with aromatic amino acids (Phenylalanine, and Tyrosine), and with Methionine, constitute the main aromatic compound precursors in cheese (Yvon & Rijnen, 2001). Arginine, on the other hand, a conditionally essential amino acid, assists in pressure regulation and improves physical performance, since it is a precursor of nitric oxide (Apolzan et al., 2022). Proline is present in connective tissue, playing an important role in its healing processes (Szabelak et al., 2021). The concentration of the these amino acids was higher in the formulations supplemented with the probiotic strains, principally in RCLM which presented a greater number of essential amino acids (and in higher concentrations) through to the end of shelf life.

3.5 Viability of probiotic strains during cold storage

Viable cell counts of probiotic bacteria remained above 6 log CFU/g through to the last day of storage (Fig. 3), the minimum recommended amount for products supplemented with probiotic microorganisms (Guedes et al., 2019; Terpou et al ., 2019).

The increase in viable probiotic strain counts in the formulations during the first 14 days of storage may be due to the excedent bacterial metabolic activity and the favorable conditions of pH and acidity. This is already expected in fermentation processes involving lactic acid bacteria. It has also been shown that in acidified medium, *L. mucosae* CNPC007 presents augmented multiplication (Moraes et al., 2017). This justifies the higher counts detected in the RCLM formulation (8.56 log CFU/g), compared to other formulations towards the end of storage, when lactic acid acidity was also higher (1.24 g/100 g, Table 2).

Probiotic strain multiplication during storage may have contributed to the deep proteolysis increase, and a concomitant increase in the concentration of essential and non-essential amino acids in the RCLM and RCLA formulations, increasing both the nutritional value and bioactivity of these formulations.

4. Conclusions

This study concluded that the incorporation of probiotic strains in goat ricotta cream improves or (at least) does not interfere negatively in technological, nutritional or fermentation properties. We noted that the addition of the probiotic strains did not interfere with the ricotta cream yield. The formulations supplemented with the probiotic strains tended to present greater luminosity (L^*) with a yellowish-green hue, principally in RCLM. For most of the formulations studied, there was a reduction (during storage) in most of the texture parameters, and by the end of storage, the presence of probiotic microorganisms influenced adhesion alone, which was lowest in the RCLM formulation. The fermentation process mediated by probiotic strains led to an increase in lactose degradation, with a consequent increase in lactic acid production during storage. These conditions were probably influenced by probiotic multiplication during storage, which stood out in the RCLM formulation, and which at 28 days of storage presented counts $> 8.5 \log \text{ CFU/g}$ of *L. mucosae* CNPC007, higher acidity, and lower pH, and lactose. This microbial multiplication most likely made it possible for the RCLM formulation to present deeper proteolysis with the release of a greater number of essential free amino acids, by the end of storage. This study may help to promote the beneficial use of the autochthonous strain *L. mucosae* CNPC007 in goat ricotta cream formulations, and result in functional food industry products with better nutritional, bioactive, and technological characteristics.

References

Abellán, A., Cayuela, J. M., Pino, A., Martínez-Cachá, A., Salazar, E., & Tejada, L. (2012). Free amino acid content of goat's milk cheese made with animal rennet and plant coagulant. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1657-1664. <https://doi-org.ez15.periodicos.capes.gov.br/10.1002/jsfa.5528>.

Andreatta, E., Fernandes, A. M., Santos, M. V., Lima, C. G., Mussarelli, C., Marques, M. C., & Oliveira, C. A. F. (2007). Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 62(3), 166-170. <https://repositorio.usp.br/item/001641117>.

Apolzan, J. W., Stein, J. A., Rood, J. C., Beyl, R. A., Yang, S., Greenway, F. L., & Lieberman, H. R. (2022). Effects of acute arginine supplementation on neuroendocrine, metabolic, cardiovascular, and mood outcomes in younger men: A double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif.), 101, 111658. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111658>.

Aqualab. (2001). *Analizador de atividade de água para avaliar biodegradação (alimentos e fármacos)*: Modelo CX-2. Decagon Devices, Inc. 950 NE Nelson Court Pullman, WA 99163 USA.

Aryana, K. J., and Olson, D. W. 2017. A 100-year review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987-10013. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981>.

AOAC (2019). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists: Official Methods of Analysis of AOAC International. 21st Edition, AOAC, Washington DC.

Ball, S., Bullock, S., Lloyd, L., & Mapp, K. A. (2011). Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography. In **Agilent Hi-Plex Columns Applications Compendium**. Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA.

Barbosa, I. C., Oliveira, M. E., Madruga, M. S., Gullón, B., Pacheco, M. T., Gomes, A. M., Batista, A. S., Pintado, M. M., Souza, E. L., & Queiroga, R. C. (2016). Influence of the addition of *Lactobacillus acidophilus* La-05, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and inulin on the technological, physicochemical, microbiological and sensory features of creamy goat cheese. *Food & function*, 7(10), 4356–4371. <https://doi.org/10.1039/c6fo00657d>.

Bezerra, T. K., de Araujo, A. R., do Nascimento, E. S., de Matos Paz, J. E., Gadelha, C. A., Gadelha, T. S., Pacheco, M. T., do Egypto Queiroga, R., de Oliveira, M. E., & Madruga, M. S. (2016). Proteolysis in goat "coalho" cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *Food chemistry*, 196, 359–366. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.066>

Bezerril, F. F., Magnani, M., Pacheco, M. T. P., Souza, M. F. V., Figueiredo, R. M. F., Lima, M. S., Borges, G. S. C., Oliveira, M. E. G., Pimentel, T. C., & Queiroga, R. C. R. E. (2021). *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) jam is source of fibers and mineral and improves the nutritional value and the technological properties of goat milk yogurt, LWT, 139, Article 110512. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110512>.

- Bomfim, V. B., Lopes Neto, J. H. P., Leite, K. S., Vieira, E. A., Iacomini, M., Silva, C. M., Santos, K. M. O., & Cardarelli, H. R. (2020). Partial characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* CNPC003. *LWT*, 127, Article 109349. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109349>.
- Bontinis, Th. G., Mallatou, H., Pappa, E. C., Massouras, Th., & Alichanidis, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Ruminant Research*, 105, 193-201. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.01.003>.
- Borba, K.K.S., Silva, F. A., Madruga, M. S., Queiroga, R. C. R. E., Souza, E. L., & Magnani, M. (2014). The effect of storage on nutritional, textural and sensory characteristics of creamy ricotta made from whey as well as cow's milk and goat's milk. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(5), 1279–1286. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12432>.
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>
- Brasil, M.A.P.A. Instrução Normativa nº 65, (2020, Jul.23). Dispõe sobre a identidade e os requisitos de qualidade que deve apresentar o produto denominado ricota. Retrieved on 12 August 2021 de <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-21-de-julho-de-2020-268265849>
- Buriti, F. C. A., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M. C. C., & Saad, S. M. I. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chemistry*, 104(4), 1605-1610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.001>
- Buriti, F.C.A.; Rocha, J.S.; & Saad, S.M.I. (2005). Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15(12), 1279-1288. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.12.011>.
- Campos, M. I. F., Barbosa, P. P. S., Camargo, L. J., Pinto, L. S., Mataribu, B., Serrão, C., Marques-Santos, L. F., Lopes, J. H., Oliveira, J. M. C., Gadelha, C. A. A., & Santi-Gadelha, T. (2022). Characterization of goat whey proteins and their bioactivity and toxicity assay. *Food Bioscience*, 46, Article 101591. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101591>.
- CIE - COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ÉCLAIRAGE. Colorimetry. Vienna: CIE publication, 2. ed., 1996.
- Costa, M. P., Frasao, B., Lima, B. R., Rodrigues, B. L., & Conte Junior, C. A. (2016). Simultaneous analysis of carbohydrates and organic acids by HPLC-DAD-RI for monitoring goat's milk yogurts fermentation. *Talanta*, 152, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.061>.
- Dantas, D. L. S., Vieira, V. B., Soares, J. K. B., Santos, K. M. O., Egito, A. S., Figueirêdo, R. M. F., Lima, M. S., Machado, N. A. F., Souza, M. F. V., Conceição, M. L., Queiroga, R. C. R. E., & Oliveira, M. E. G. (2022). *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional,

bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. *LWT*, 158, 113165. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113165>.

Dattatreya, A., Rankin, S. A. (2006). Moderately acidic pH potentiates browning of sweet whey poder. *International Dairy Journal*, 16(7), 822-828. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.07.006>.

Diez-Gutiérrez, L., Vicente, L. S., Barrón, L. J. R., Villarán, M. C., & Chávarri, M. (2020). Gamma-aminobutyric acid and probiotics: Multiple health benefits and their future in the global functional food and nutraceuticals market. *Journal of Functional Foods*, 64. Article 103669. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103669>.

Faghfoori, Z., Gargari, B. P., Gharamaleki, A. S., Bagherpour, H., & Khosroushahi, A. Y. (2015). Cellular and molecular mechanisms of probiotics effects on colorectal cancer. *Journal of Functional Foods*, 18, 463-472. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.08.013>.

Folch, J., Lees, M., & Stanley, G. H. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry*, 226(1), 497–509.

Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Pinto, S. S., Muñoz, I. B., Müller, C. M. O., Vieira, C. R. W., & Amboni, R. D. M. C. (2013). Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. *Food Research International*, 52(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.049>.

Fuente, B., Luz, C., Puchol, C., Meca, G., & Barba, F. J. (2021). Evaluation of fermentation assisted by *Lactobacillus brevis* POM, and *Lactobacillus plantarum* (TR-7, TR-71, TR-14) on antioxidant compounds and organic acids of an orange juice-milk based beverage. *Food chemistry*, 343, 128414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128414>.

Garcia, E. F., Oliveira, M. E. G., Queiroga, R. C. R. E., Machado, T. A., & de Souza, E. L. (2012). Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food sciences and nutrition*, 63(8), 947–956. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.687367>.

Grylls, A., Seidler, K., & Neil, J. (2021). Link between microbiota and hypertension: Focus on LPS/TLR4 pathway in endothelial dysfunction and vascular inflammation, and therapeutic implication of probiotics. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 137, Article 111334. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111334>.

Guedes, J. S., Pimentel, T. C., Diniz-Silva, H. T., Almeida, E. T. C., Tavares, J. F., Souza, E. L., Garcia, E. F., & Magnani, M. (2019). Protective effects of β -glucan extracted from spent brewer yeast during freeze-drying, storage and exposure to simulated gastrointestinal conditions of probiotic lactobacilli. *LTW-Food Science and Technology*, 116, Article 108496. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108496>.

Hagen, S. R., Frost, B., & Augustin, J. (1989). Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of amino acids in food. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 72(6), 912–916.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(2), 506-514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

Kisan, B. S., Ganguly, S., Khetra, Y., Raju, P. N., Ashok, S. P., Sakhala, S. (2021). Effect of Ricotta matrix on viability of probiotic organism exposed to simulated gastro-intestinal (GI) digestion. *LWT*, 151, Article 112099. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112099>.

Laemmli U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>.

Legesse Bedada, T., Feto, T. K., Awoke, K. S., Garedew, A. D., Yifat, F. T., & Birri, D. J. (2020). Probiotics for cancer alternative prevention and treatment. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 129, 110409. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110409>.

Lopes, L., Pimentel, T. C., Carvalho, R., Madruga, M. S., Galvão, M. S., Bezerra, T., Barão, C. E., Magnani, M., & Stamford, T. (2021). Spreadable goat Ricotta cheese added with *Lactobacillus acidophilus* La-05: Can microencapsulation improve the probiotic survival and the quality parameters?. *Food chemistry*, 346, Article 128769. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128769>

Lucas, A., Rock, E., Agabriel, C., Chilliard, Y., & Coulon, J. B. (2008). Relationships between animal species (cow versus goat) and some nutritional constituents in raw milk farmhouse cheeses. *Small Ruminant Research* 74(1-3), 243-248. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.03.011>.

Meira, Q. G. S., Magnani, M., Medeiros Júnior, F. C., Queiroga, R. C. R. E., Madruga, M. S., Gullón, B., Gomes, A. M. P., Pintado, M. M. E., & Souza, E. L. (2015). Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food research international*, 76(Pt 3), 828–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.002>

Mestdagh, F., Kerkaert, B., Cucu, T., & Meulenaer, B. (2011). Interaction between whey proteins and lipids during light-induced oxidation. *Food Chemistry*, 126(3), 1190-1197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.170>.

Miloradovic, Z., Kljajevic, N., Miocinovic, J., Tomic, N., Smiljanic, J., & Macej, O. (2017). High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 68, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.12.004>.

Moraes, G. M. D., Abreu, L. R., Egito, A. S., Salles, H. O., Silva, L. M. F., Nero, L. A., Torodov, S. D., & Santos, K. M. O. (2017). Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian Goat Milk. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 9(3), 235–245. <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9244-8>

- Moraes, G. M. D., Santos, K. M. O., Barcelos, S. C., Lopes, S. A., & Egito, A. S. (2018). Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. *LWT*, 94, 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.028>
- Moraes, J. L., Garcia, E. F., Vieira, V. B., Pontes, E. D. S., Araújo, M. G. G., Figueirêdo, R. M. F., Moreira, I. S., Egito, A. S., Santos, K. M. O., Soares, J. K. B., Queiroga, R. C. R. E., & Oliveira, M. E. G. (2022). Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk Greek-style yogurt. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 1889-1899. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21110>.
- Nagpal, R., Wang, S., Ahmadi, S., Hayes, J., Gagliano, J., Subashchandrabose, S., Kitzman, D. W., Becton, T., Read, R., & Yadav, H. (2018). Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports* 8, Article 12649. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30114-4>.
- Niro, S., Succi, M., Tremonte, P., Sorrentino, E., Coppola, R., Panfili, G., & Fratianni, A. (2017). Evolution of free amino acids during ripening of Caciocavallo cheeses made with different milks. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9521-9531. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13308>.
- Noziere, P., Graulet, B., Lucas, A., Martin, B., Grolier, P., & Doreau, M. (2006). Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3-4), 418-450. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.018>.
- Oliveira, M. E. G. de, Garcia, E. F., Queiroga, R. C. R. E. & Souza, E. L. de. (2012). Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Scientia Agricola*, 69(6), 370-379. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000600005>
- Ozcan, T., Ozdemir, T., & Avci, H. R. (2021). Survival of *Lactobacillus casei* and functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *International Journal of Dairy Technology*, 74 (1), 148-160. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12741>.
- Pan, L., Liu, F., Luo, Shui-Zhong., & Luo, J. (2019). Pomegranate juice powder as sugar replacer enhanced quality and function of set yogurts: Structure, rheological property, antioxidant activity and in vitro bioaccessibility. *LWT - Food Science and Technology*, 115, Article 108479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108479>.
- Pereira, G. V. M., Coelho, B. O., Magalhães Júnior, A. I., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060–2076. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.09.003>.
- Pino, A., Prados, F., Galán, E., Vivo, R., & Fernández-Salguero, J. (2009). Amino acids evolution during ripening of goats' milk cheese manufactured with different coagulants. *International Journal of Food Science + Technology*, 44(10), 2062-2069. <https://doi.org.ez15.periodicos.capes.gov.br/10.1111/j.1365-2621.2009.02031.x>.

- Prudencio, E. S., Müller, C. M. O., Fritzen-Freire, C. B., Amboni, R. D. M. C., & Petrus, J. C. C. (2014). Effect of whey nanofiltration process combined with diafiltration on the rheological and physicochemical properties of ricotta cheese. *Food research International*, 56, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.12.017>.
- Salum, P., Govce, G., Kendirci, P., Bas, D., & Erbay, Z. (2018). Composition, proteolysis, lipolysis, volatile compound profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey. *International Dairy Journal*, 87, 26-36. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.07.011>.
- Sameer, B., Ganguly, S., Khetra, Y., & Sabikhi, L. (2020). Development and characterization of probiotic buffalo milk ricotta cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 121, Article 108944. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108944>.
- SIGMASTAT (2006). Version 3.5. Point Richmond (Califórnia): Comercial.
- Silva, T. E, Silva, T. E, Garcia, L. G. C., & Santos, P. A. (2019). Estudo do comportamento de queijo mussarela durante armazenamento refrigerado. *Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 74(2), 135-148. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v74i2.754>.
- Silva, R., Pimentel, T. C., Matos Junior, F. E., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Fávaro-Trindade, C. S., Silva, M. C., & Cruz, A. G. (2022). Microencapsulation with spray-chilling as an innovative strategy for probiotic low sodium requeijão cremoso processed cheese processing. *Food Bioscience*, 46, Article 101517. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101517>
- Singh, A., Vishwakarma, V., & Singhal, B. (2018) Metabiotics: The Functional Metabolic Signatures of Probiotics: Current State-of-Art and Future Research Priorities—Metabiotics: Probiotics Effector Molecules. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 9, 147-189. <https://doi.org/10.4236/abb.2018.94012>.
- Son, S. H., Yang, S. J., Jeon, H. L., Yu, H. S., Lee, N. K., Park, Y. S., & Paik, H. D. (2018). Antioxidant and immunostimulatory effect of potential probiotic *Lactobacillus paraplantarum* SC61 isolated from Korean traditional fermented food, jangajji. *Microbial pathogenesis*, 125, 486–492. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.10.018>.
- Souza, J.V., & Dias, F.S. (2017). Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products. *Current opinion in Food Science*, 13, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.003>.
- Szabelak, A., Bownik, A., Knaga, S., & Kasperek, K. (2021). Effects of L-proline on cellular responses of hen erythrocytes subjected to thermal stress. *Journal of thermal biology*, 96, 102855. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2021.102855>.
- Terzic-Vidojevic, A., Tonković, K., Pavunc, A. L., Beganović, J., Strahinić, I., Kojić, M., Veljović, K., Golić, N., Kos, B., Čadež, N., Gregurek, L., Šušković, J., Raspor, P., & Topisirović, L. (2015). Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 298-306. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.050>.

- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>.
- Verruck, S., Dantas, A., & Prudencio, E.S. (2019). Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. *Journal of Functional Foods*, 52, 243 – 257. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.11.017>.
- Wang, X., Zhang, P., & Zhang, X. (2021). Probiotics Regulate Gut Microbiota: An Effective Method to Improve Immunity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(19), 6076. <https://doi.org/10.3390/molecules26196076>
- Wang, G., Liu, J., Xia, Y., & Ai, L. (2021). Probiotics-based interventions for diabetes mellitus: A review. *Food Bioscience*, 43, Article 101172. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101172>.
- White, J.A.; Hart, R.J.; Fry, J.C. (1986). An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. *The Journal of Automatic Chemistry*, 8(4), 170-177. <https://doi.org/10.1155/S1463924686000330>.
- Xia, X., Kelly, A. L., Tobin, J. T., Meng, F., Fenelon, M. A., Li, B., McSweeney, P. L. H., Kilcawley, K. N., Sheehan, J. J. (2022). Effect of heat treatment on whey protein-reduced micellar casein concentrate: A study of texture, proteolysis levels and volatile profiles of Cheddar cheeses produced therefrom. *International Dairy Journal*, 129, Article 105280. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105280>.
- Yangilar, F. (2013). As a potentially functional food: Goats' milk and products. *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(4), 68 –81. <http://pubs.sciepub.com/jfnr/1/4/6>
- Yvon, M., & Rijnen, L. (2001). Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *International Dairy Journal* , 11, 185-201. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00049-8).
- Zeng, S. S., Sorval, K., Fekadu, B., Bah, B., & Popham, T. (2007). Predictive formulae for goat cheese yield based on milk composition. *Small Ruminant Research*, 69(1-3), 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.01.007>.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C., Harris, H., Mattarelli, P., O'Toole, P. W., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.

Figure captions

Figure 1. Flowchart of the processes for manufacturing goat ricotta cream containing or not containing the probiotic bacterium *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 or *Lactobacillus acidophilus* La-5.

Figure 2. Electropherograms (SDS-PAGE) of goat ricotta cream formulations during 28 days of refrigerated storage.

Figure 3. Viability of probiotic strains of *L. mucosae* CNPC007 (A) e *L. acidophilus* La-5 (B) in goat ricotta cream samples during 28 days of refrigerated storage.

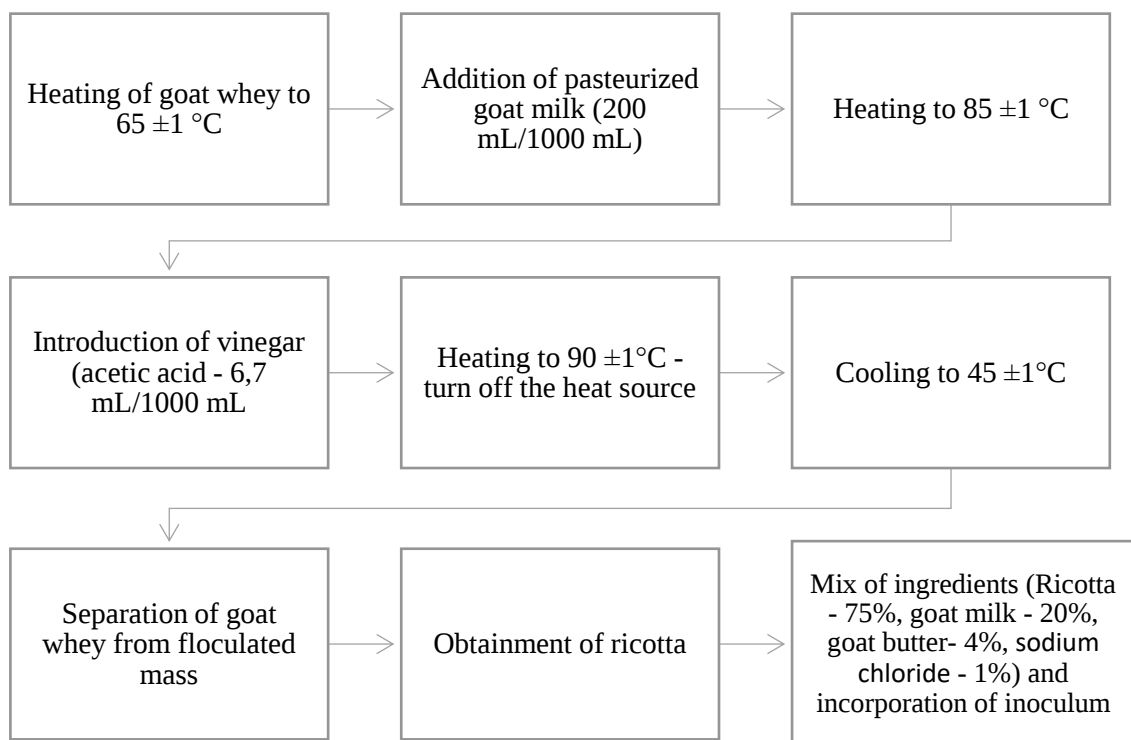


Fig. 1.

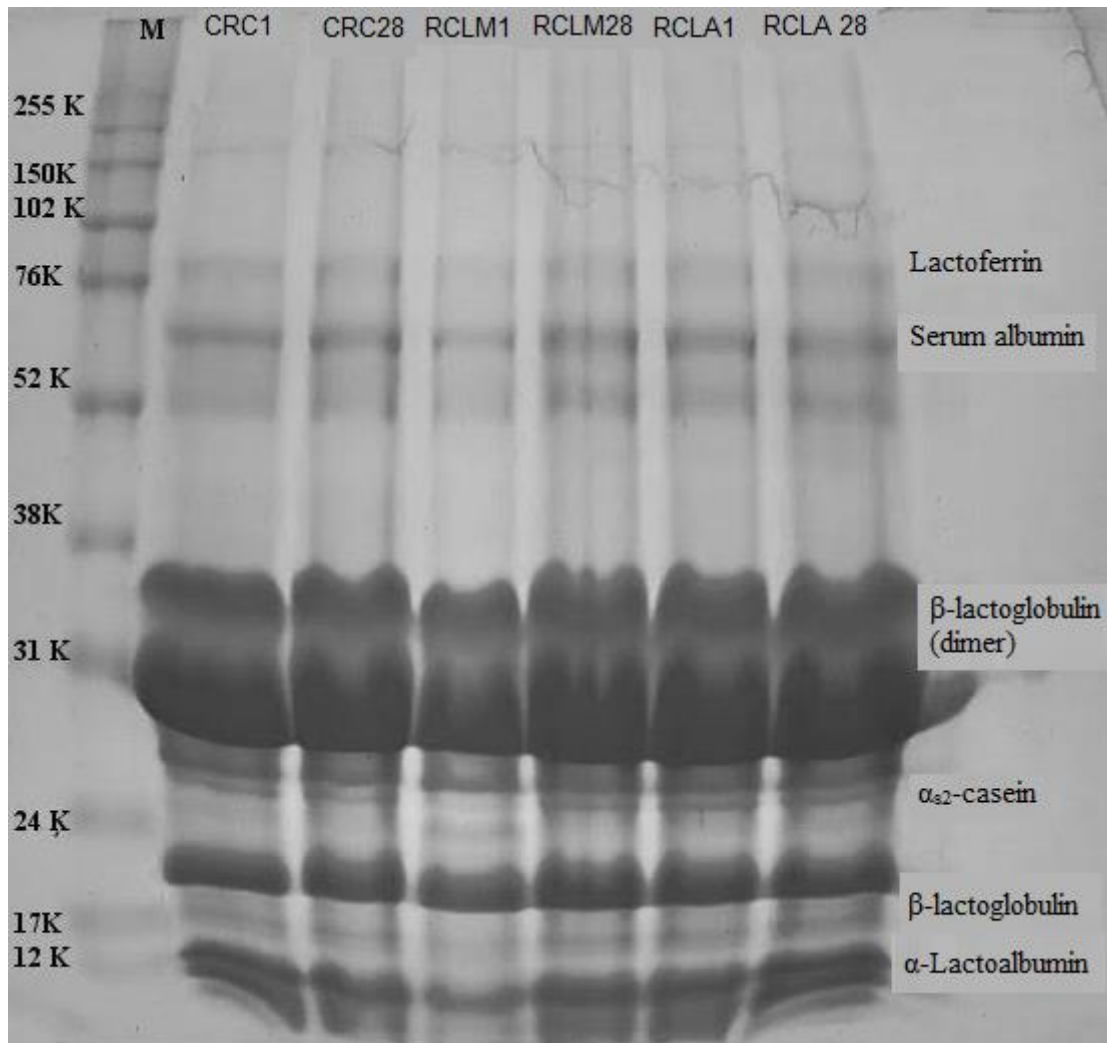


Fig. 2.

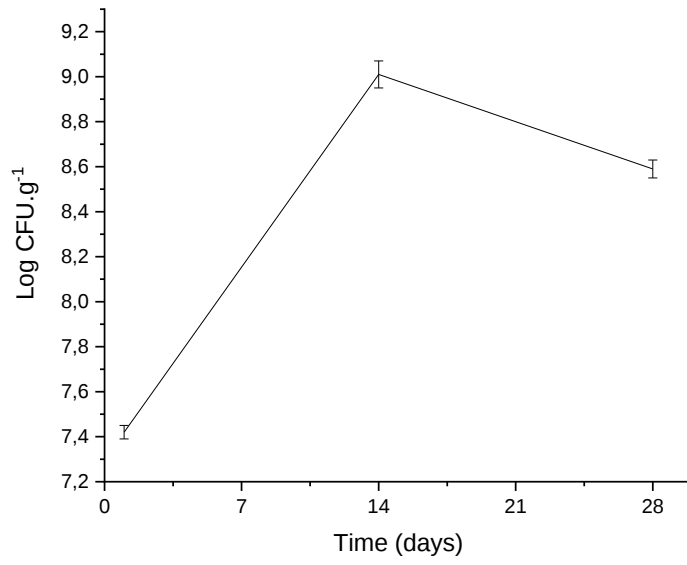
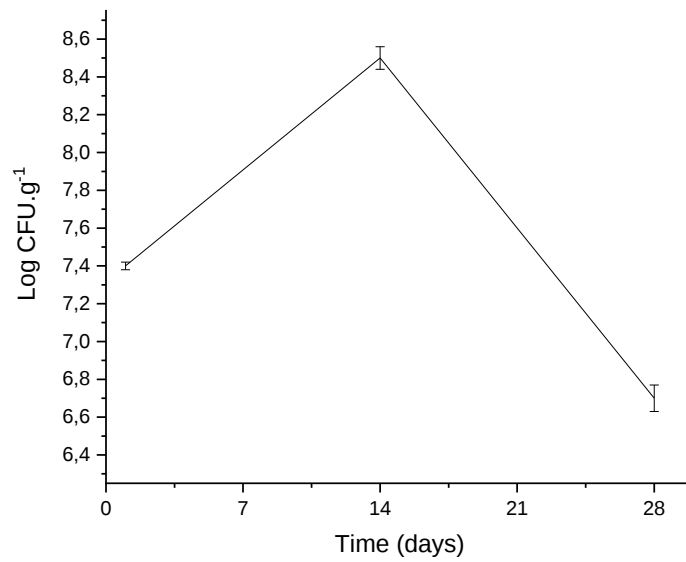
A**B****Fig. 3.**

Table 1. Mean values $\pm$ standard deviation for the technological parameters of goat ricotta cream formulations stored for 28 days under refrigeration.

Parameters	Time (days)	Formulations		
		CRC	RCLM	RCLA
Yield (g/L)	1	5.31 $\pm$ 0.07 ^A	5.37 $\pm$ 0.11 ^A	5.74 $\pm$ 0.18 ^A
Color	L*	1	76.28 $\pm$ 0.24 ^{Bc}	73.24 $\pm$ 0.03 ^{Cc}
		14	89.57 $\pm$ 0.06 ^{Aa}	87.34 $\pm$ 0.30 ^{Bb}
		28	81.13 $\pm$ 0.61 ^{Cb}	88.81 $\pm$ 0.18 ^{Aa}
	a*	1	-1.59 $\pm$ 0.01 ^{Ca}	-1.05 $\pm$ 0.02 ^{Aa}
		14	-1.92 $\pm$ 0.03 ^{Cb}	-1.29 $\pm$ 0.02 ^{Ab}
		28	-1.91 $\pm$ 0.08 ^{Cb}	-1.62 $\pm$ 0.03 ^{Ac}
	b*	1	6.44 $\pm$ 0.02 ^{Bb}	6.54 $\pm$ 0.02 ^{Ac}
		14	6.68 $\pm$ 0.01 ^{Ba}	7.85 $\pm$ 0.05 ^{Ab}
		28	6.83 $\pm$ 0.11 ^{Ba}	8.62 $\pm$ 0.06 ^{Aa}
Hardness	1	1.17 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	1.22 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	1.66 $\pm$ 0.13 ^{Aa}
	14	0.84 $\pm$ 0.08 ^{Bb}	0.82 $\pm$ 0.10 ^{Bb}	1.44 $\pm$ 0.12 ^{Aa}
	28	0.71 $\pm$ 0.05 ^{Ab}	0.79 $\pm$ 0.09 ^{Ab}	0.72 $\pm$ 0.06 ^{Ab}
Adhesiveness	1	-885.59 $\pm$ 9.01 ^{Ab}	-869.12 $\pm$ 6.51 ^{Ab}	-1157.58 $\pm$ 10.11 ^{Bc}
	14	-467.01 $\pm$ 50.96 ^{Aa}	-473.17 $\pm$ 34.44 ^{Aa}	-1034.32 $\pm$ 18.41 ^{Bb}
	28	-419.31 $\pm$ 16.70 ^{Aa}	-533.70 $\pm$ 35.84 ^{Ba}	-421.00 $\pm$ 13.32 ^{Aa}
Springiness	1	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{Aa}
	14	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}
	28	0.95 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.96 $\pm$ 0.01 ^{Aa}
Cohesiveness	1	0.79 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.83 $\pm$ 0.08 ^{Aa}	0.80 $\pm$ 0.01 ^{Aa}
	14	0.79 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.81 $\pm$ 0.02 ^{Aa}	0.78 $\pm$ 0.02 ^{Aa}
	28	0.79 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	0.79 $\pm$ 0.11 ^{Aa}	0.77 $\pm$ 0.04 ^{Aa}
Chewiness	1	0.92 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	1.01 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	1.32 $\pm$ 0.10 ^{Aa}
	14	0.66 $\pm$ 0.05 ^{Bb}	0.66 $\pm$ 0.09 ^{Bb}	1.12 $\pm$ 0.08 ^{Aa}
	28	0.56 $\pm$ 0.05 ^{Ab}	0.62 $\pm$ 0.07 ^{Ab}	0.55 $\pm$ 0.04 ^{Ab}
Gumminess	1	0.87 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	0.96 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	1.27 $\pm$ 0.11 ^{Aa}
	14	0.62 $\pm$ 0.05 ^{Bb}	0.63 $\pm$ 0.08 ^{Bb}	1.08 $\pm$ 0.09 ^{Aa}
	28	0.53 $\pm$ 0.05 ^{Ab}	0.59 $\pm$ 0.07 ^{Ab}	0.53 $\pm$ 0.04 ^{Ab}

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLM – Ricotta cream with *Lactobacillus mucosae* CNPC007; RCLA – Ricotta cream with *Lactobacillus acidophilus* La-5.

A–C: different capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the formulations in the the same time during storage, according to the Tukey's test.

a-c: diferente superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) between the same formulation in different times during storage, according to the Tukey's test.

Tabela 2. Mean values $\pm$ standard deviation for the physical and physical-chemical parameters of goat ricotta cream formulations stored for 28 days under refrigeration.

Parameters	Time (days)	Formulations		
		CRC	RCLM	RCLA
A_w	1	0.92 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.01^{Aa}
	14	0.92 ± 0.01^{Aa}	0.91 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.01^{Aa}
	28	0.91 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.01^{Aa}	0.92 ± 0.01^{Aa}
pH	1	6.80 ± 0.04^{Aa}	6.71 ± 0.01^{Aa}	6.15 ± 0.42^{Aa}
	14	5.50 ± 0.06^{Bb}	5.24 ± 0.01^{Cb}	5.72 ± 0.06^{Aa}
	28	5.27 ± 0.03^{Ac}	5.02 ± 0.03^{Cc}	5.19 ± 0.01^{Bb}
Titratable acidity (g/100 g)	1	0.26 ± 0.01^{Ac}	0.32 ± 0.02^{Ac}	0.33 ± 0.01^{Ac}
	14	0.34 ± 0.01^{Cb}	0.94 ± 0.01^{Ab}	0.41 ± 0.01^{Bb}
	28	0.38 ± 0.01^{Ca}	1.24 ± 0.02^{Aa}	0.52 ± 0.01^{Ba}
Moisture (g/100 g)	1	68.84 ± 0.18^{Ba}	68.56 ± 0.03^{Ca}	70.92 ± 0.05^{Ab}
	14	68.75 ± 0.54^{Aa}	69.06 ± 0.40^{Aa}	70.34 ± 0.29^{Ab}
	28	68.86 ± 0.55^{Ba}	68.58 ± 0.40^{Ba}	71.80 ± 0.05^{Aa}
Ash (g/100 g)	1	1.59 ± 0.05^{Ca}	1.89 ± 0.01^{Ba}	2.03 ± 0.01^{Aa}
	14	1.60 ± 0.02^{Ba}	1.66 ± 0.06^{Bb}	1.97 ± 0.01^{Aa}
	28	1.63 ± 0.02^{Ca}	1.77 ± 0.02^{Bab}	2.00 ± 0.05^{Aa}
Protein (g/100 g)	1	8.85 ± 0.42^{Aa}	9.13 ± 0.07^{Aa}	7.72 ± 0.03^{Bb}
	14	9.03 ± 0.04^{Aa}	8.59 ± 0.26^{Aa}	7.64 ± 0.38^{Bb}
	28	8.97 ± 0.11^{Ba}	8.35 ± 0.43^{Ba}	10.44 ± 0.49^{Aa}
Lipid (g/100 g)	1	13.88 ± 0.13^{Cc}	15.90 ± 0.13^{Ab}	15.08 ± 0.11^{Ba}
	14	15.39 ± 0.13^{Aa}	14.94 ± 0.14^{Ac}	15.18 ± 0.52^{Aa}
	28	14.53 ± 0.13^{Cb}	17.12 ± 0.09^{Aa}	15.86 ± 0.23^{Ba}

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLM – Ricotta cream with *Lactobacillus mucosae* CNPC007; RCLA – Ricotta cream with *Lactobacillus acidophilus* La-5.

A–C: different capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the formulations in the the same time during storage, according to the Tukey's test.

a-c: diferente superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) between the same formulation in different times during storage, according to the Tukey's test.

Tabela 3. Mean values $\pm$ standard deviation for lactose and organic acids of goat ricotta cream formulations stored for 28 days under refrigeration.

Parameters	Time (days)	Formulations		
		CRC	RCLM	RCLA
Lactose	1	2.42 ± 0.43^{ABa}	2.50 ± 0.14^{Aa}	2.32 ± 0.11^{Ba}
	14	0.93 ± 0.10^{Ab}	0.83 ± 0.07^{Ab}	0.52 ± 0.11^{Ab}
	28	0.79 ± 0.01^{Ab}	0.30 ± 0.02^{Cc}	0.48 ± 0.02^{Bb}
Acetic acid	1	0.01 ± 0.00^{Ab}	0.02 ± 0.00^{Aa}	0.02 ± 0.01^{Aa}
	14	0.05 ± 0.02^{Aa}	0.01 ± 0.00^{Aa}	0.02 ± 0.01^{Aa}
	28	0.06 ± 0.0^{Aa}	0.01 ± 0.00^{Ab}	0.03 ± 0.02^{Aa}
Citric acid	1	0.02 ± 0.00^A	0.07 ± 0.00^A	0.03 ± 0.00^A
	14	<LOD	<LOD	<LOD
	28	<LOD	<LOD	<LOD
Lactic acid	1	0.47 ± 0.00^{Ac}	0.15 ± 0.03^{Bb}	0.05 ± 0.02^{Cb}
	14	0.93 ± 0.01^{Ab}	0.92 ± 0.07^{Aa}	0.62 ± 0.21^{Bab}
	28	1.44 ± 0.01^{Aa}	0.61 ± 0.17^{Ba}	1.30 ± 0.37^{Aa}
Propionic acid	1	0.68 ± 0.30^{Aa}	0.74 ± 0.17^{Aa}	0.53 ± 0.02^{Aa}
	14	0.21 ± 0.00^{Aa}	0.37 ± 0.10^{Aab}	0.13 ± 0.03^{Aa}
	28	0.53 ± 0.02^{Aa}	0.13 ± 0.05^{Ab}	0.33 ± 0.17^{Aa}

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLM – Ricotta cream with *Lactobacillus mucosae* CNPC007; RCLA – Ricotta cream with *Lactobacillus acidophilus* La-5.

A–C: different capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the formulations in the the same time during storage, according to the Tukey's test.

a-c: diferente superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) between the same formulation in different times during storage, according to the Tukey's test.

Tabela 4. Mean values $\pm$ standard deviation for soluble protein, EPI, and DPI of goat ricotta cream formulations stored for 28 days under refrigeration.

Parameters		Time (days)	Formulations		
			CRC	RCLM	RCLA
Soluble protein ($\mu\text{g}/\text{mg}$)		1	$4.18 \pm 0.01^{\text{Ba}}$	$4.35 \pm 0.08^{\text{Aa}}$	$2.82 \pm 0.05^{\text{Cb}}$
		28	$3.14 \pm 0.01^{\text{Cb}}$	$3.91 \pm 0.07^{\text{Bb}}$	$4.21 \pm 0.08^{\text{Aa}}$
EPI (Extent of the proteolysis index)		1	$3.01 \pm 0.13^{\text{Aa}}$	$1.98 \pm 0.01^{\text{Cb}}$	$2.31 \pm 0.02^{\text{Bc}}$
		14	$2.96 \pm 0.01^{\text{Ba}}$	$2.11 \pm 0.10^{\text{Cb}}$	$2.85 \pm 0.08^{\text{Ab}}$
		28	$2.82 \pm 0.04^{\text{Ca}}$	$3.16 \pm 0.09^{\text{Ba}}$	$4.29 \pm 0.02^{\text{Aa}}$
DPI (Depth of the proteolysis index)		1	$1.75 \pm 0.08^{\text{Cb}}$	$1.92 \pm 0.01^{\text{Bb}}$	$3.39 \pm 0.03^{\text{Ac}}$
		14	$1.96 \pm 0.02^{\text{Ba}}$	$2.06 \pm 0.10^{\text{Bb}}$	$3.52 \pm 0.01^{\text{Ab}}$
		28	$2.02 \pm 0.01^{\text{Ba}}$	$5.24 \pm 0.16^{\text{Aa}}$	$5.32 \pm 0.03^{\text{Aa}}$

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLM – Ricotta cream with *Lactobacillus mucosae* CNPC007; RCLA – Ricotta cream with *Lactobacillus acidophilus* La-5.

A–C: different capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the formulations in the the same time during storage, according to the Tukey's test.

a-c: diferente superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) between the same formulation in different times during storage, according to the Student's t-test ou Tukey.

Tabela 5. Mean values $\pm$ standard deviation for free amino acids of goat ricotta cream formulations stored for 28 days under refrigeration.

Aminoácidos Livres	Tempo (dias)	Formulações		
		CRC	RCLA	RCLM
Ác. Aspártico	1	20.44 $\pm$ 0.17 ^{Ab}	1.41 $\pm$ 0.21 ^{Ba}	1.63 $\pm$ 0.01 ^{Ba}
	14	24.18 $\pm$ 0.83 ^{Aa}	0.54 $\pm$ 0.01 ^{Cb}	1.19 $\pm$ 0.27 ^{Bb}
	28	18.72 $\pm$ 0.38 ^{Ac}	0.27 $\pm$ 0.08 ^{Cb}	1.03 $\pm$ 0.04 ^{Bb}
Ác. Glutâmico	1	11.19 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	9.78 $\pm$ 0.11 ^{Cb}	10.69 $\pm$ 0.09 ^{Bc}
	14	7.66 $\pm$ 0.70 ^{Cb}	16.18 $\pm$ 0.95 ^{Aa}	11.97 $\pm$ 0.05 ^{Bb}
	28	2.22 $\pm$ 0.08 ^{Cc}	15.40 $\pm$ 0.15 ^{Ba}	18.35 $\pm$ 0.49 ^{Aa}
Serina	1	11.68 $\pm$ 0.01 ^{Aa}	3.34 $\pm$ 0.47 ^{Ca}	4.67 $\pm$ 0.30 ^{Ba}
	14	7.74 $\pm$ 0.07 ^{Ab}	2.63 $\pm$ 0.50 ^{Bb}	2.97 $\pm$ 0.05 ^{Bb}
	28	6.91 $\pm$ 0.04 ^{Ac}	2.20 $\pm$ 0.30 ^{Bb}	2.09 $\pm$ 0.13 ^{Bc}
Glicina	1	10.52 $\pm$ 0.59 ^{Ba}	2.71 $\pm$ 0.16 ^{Ca}	13.01 $\pm$ 0.20 ^{Aa}
	14	10.06 $\pm$ 0.03 ^{Ba}	3.27 $\pm$ 0.63 ^{Ca}	12.97 $\pm$ 0.04 ^{Aa}
	28	3.26 $\pm$ 0.01 ^{Bb}	3.42 $\pm$ 0.28 ^{Ba}	12.01 $\pm$ 0.01 ^{Ab}
Histidina	1	31.35 $\pm$ 0.49 ^{Ba}	47.85 $\pm$ 0.49 ^{Aa}	<LOD
	14	29.13 $\pm$ 0.71 ^{Bb}	38.48 $\pm$ 0.22 ^{Ab}	<LOD
	28	28.84 $\pm$ 0.02 ^{Bb}	38.16 $\pm$ 0.08 ^{Ab}	<LOD
Arginina	1	1.97 $\pm$ 0.16 ^{Cc}	16.44 $\pm$ 0.08 ^{Ba}	17.34 $\pm$ 0.83 ^{Ac}
	14	13.48 $\pm$ 0.74 ^{Cb}	16.78 $\pm$ 0.45 ^{Ba}	19.28 $\pm$ 0.39 ^{Ab}
	28	15.42 $\pm$ 0.11 ^{Ba}	15.14 $\pm$ 0.20 ^{Bb}	21.79 $\pm$ 0.30 ^{Aa}
Treonina	1	11.10 $\pm$ 0.13 ^{Ba}	13.81 $\pm$ 0.64 ^{Aa}	6.39 $\pm$ 0.04 ^{Ca}
	14	10.15 $\pm$ 0.06 ^{Bb}	12.47 $\pm$ 0.31 ^{Ab}	4.81 $\pm$ 0.28 ^{Cb}
	28	9.95 $\pm$ 0.06 ^{Bb}	12.26 $\pm$ 0.21 ^{Ab}	4.88 $\pm$ 0.17 ^{Cb}
Alanina	1	5.96 $\pm$ 0.25 ^{Ba}	0.81 $\pm$ 0.01 ^{Cb}	7.05 $\pm$ 0.19 ^{Aa}
	14	2.40 $\pm$ 0.06 ^{Cb}	4.30 $\pm$ 0.18 ^{Ba}	6.20 $\pm$ 0.28 ^{Ab}
	28	1.44 $\pm$ 0.01 ^{Cc}	4.38 $\pm$ 0.06 ^{Ba}	6.03 $\pm$ 0.04 ^{Ab}
Prolina	1	8.81 $\pm$ 0.02 ^{Bb}	1.89 $\pm$ 0.13 ^{Cc}	19.34 $\pm$ 0.77 ^{Aa}
	14	10.63 $\pm$ 0.46 ^{Ba}	6.55 $\pm$ 0.08 ^{Cb}	18.06 $\pm$ 0.17 ^{Ab}
	28	11.30 $\pm$ 0.14 ^{Ba}	6.83 $\pm$ 0.07 ^{Ca}	16.34 $\pm$ 0.37 ^{Ac}
Tirosina	1	9.54 $\pm$ 0.11 ^{Ca}	29.81 $\pm$ 0.55 ^{Aa}	0.75 $\pm$ 0.19 ^{Cc}
	14	8.37 $\pm$ 0.08 ^{Bb}	29.93 $\pm$ 0.59 ^{Aa}	8.16 $\pm$ 0.25 ^{Bb}
	28	7.72 $\pm$ 0.14 ^{Bc}	31.67 $\pm$ 3.17 ^{Aa}	10.70 $\pm$ 0.22 ^{Ba}
Valina	1	4.12 $\pm$ 0.57 ^{Aa}	1.53 $\pm$ 0.11 ^{Ba}	3.50 $\pm$ 0.25 ^{Aa}
	14	2.55 $\pm$ 0.15 ^{Ab}	1.44 $\pm$ 0.10 ^{Ba}	2.12 $\pm$ 0.17 ^{Ab}
	28	<LOD	0.59 $\pm$ 0.02 ^{Bb}	1.29 $\pm$ 0.01 ^{Ac}
Metionina	1	4.04 $\pm$ 0.98 ^{Ba}	7.15 $\pm$ 0.04 ^{Aa}	0.73 $\pm$ 0.19 ^{Ca}
	14	0.16 $\pm$ 0.05 ^{Cb}	4.44 $\pm$ 0.34 ^{Ab}	0.88 $\pm$ 0.17 ^{Ba}
	28	0.07 $\pm$ 0.01 ^{Bb}	0.83 $\pm$ 0.17 ^{Ac}	1.00 $\pm$ 0.13 ^{Aa}
Cistina	1	5.54 $\pm$ 0.38 ^{Ba}	4.60 $\pm$ 0.14 ^{Ca}	10.37 $\pm$ 0.08 ^{Aa}
	14	5.97 $\pm$ 0.04 ^{Ba}	2.34 $\pm$ 0.08 ^{Cb}	10.26 $\pm$ 0.36 ^{Aa}
	28	0.88 $\pm$ 0.02 ^{Cb}	2.11 $\pm$ 0.17 ^{Bb}	10.17 $\pm$ 0.23 ^{Aa}
Isoleucina	1	3.41 $\pm$ 0.43 ^{Aa}	1.13 $\pm$ 0.39 ^{Ba}	<LOD
	14	1.66 $\pm$ 0.01 ^{Ab}	1.15 $\pm$ 0.12 ^{Aa}	<LOD
	28	0.89 $\pm$ 0.32 ^{Ab}	1.52 $\pm$ 0.12 ^{Aa}	<LOD
Leucina	1	7.40 $\pm$ 0.47 ^{Aa}	5.72 $\pm$ 0.25 ^{Ba}	2.21 $\pm$ 0.28 ^{Ca}
	14	0.72 $\pm$ 0.03 ^{Cb}	3.76 $\pm$ 0.23 ^{Ab}	2.00 $\pm$ 0.01 ^{Ba}
	28	0.12 $\pm$ 0.01 ^{Bb}	0.47 $\pm$ 0.07 ^{Ac}	0.03 $\pm$ 0.04 ^{Cb}
Fenilalanina	1	6.59 $\pm$ 0.11 ^{Aa}	3.58 $\pm$ 0.40 ^{Ba}	1.38 $\pm$ 0.08 ^{Cc}
	14	2.56 $\pm$ 0.01 ^{Cb}	4.12 $\pm$ 0.54 ^{Aa}	3.06 $\pm$ 0.08 ^{Bb}

	28	1.87 ± 0.04^{Bb}	4.49 ± 0.17^{Aa}	4.46 ± 0.14^{Aa}
Lisina	1	4.01 ± 0.64^{Ca}	10.80 ± 0.20^{Aa}	6.10 ± 0.13^{Ba}
	14	2.31 ± 0.20^{Bb}	5.88 ± 0.72^{Ab}	6.22 ± 0.30^{Aa}
	28	1.01 ± 0.01^{Cc}	6.58 ± 0.19^{Ab}	4.90 ± 0.14^{Bb}

Formulations: CRC – Control ricota cream; RCLM – Ricotta cream with *Lactobacillus mucosae* CNPC007; RCLA – Ricotta cream with *Lactobacillus acidophilus* La-5.

A–C: different capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$) between the formulations in the the same time during storage, according to the Tukey's test.

a-c: diferente superscript letters in the same column denote differences ($p \leq 0.05$) between the same formulation in different times during storage, according to the Student's t-test ou Tukey.

APENDICE E – ARTIGO 2

Impact of supplementation with probiotic strains of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 on the concentration of volatile compounds and the sensory characteristics of goat ricotta cream during refrigerated storage

Running Title: Aromatic and sensorial characterization of goat ricotta cream supplemented with probiotic strains of *Lactobacillus* spp.

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of the indigenous strain *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, and commercial strain *Lactobacillus acidophilus* La-5 addition on volatile profile, and sensory characteristics of goat ricotta cream during refrigerated storage (1, 7 and 14 days). Three formulations of goat ricotta cream were elaborated, as follows: CRC – control ricotta cream, without probiotic, RCLM – ricotta cream added of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, RCLA – ricotta cream added of *Lactobacillus acidophilus* La-5. In addition to volatile profile determination, the samples were submitted to sensory evaluation. A total of 17 volatile compounds were identified in the three ricotta cream formulations: 7 ketones, 2 aldehydes, 4 acids, 2 esters, 1 hydrocarbon, and 1 terpene. The global acceptance and purchase intention were not influenced by probiotic strain presence. In ranking test, the formulations added with probiotic strains (RCLA and RCLM) were more preferred than control (CRC). In JAR test, regarding to goat aroma, RCLA and RCLM samples were considered ideal. The PCA results corroborate the others results of sensory tests. The RCLA and RCLM showed lower goat aroma, and a fermented and acid aroma most outstanding. The incorporation of probiotic strains improved the volatile profile and sensory characteristics of goat ricotta cream.

Keywords: Cream cheeses, JAR, PAE, volatile profile, acceptance tests.

1. Introduction

Probiotics are defined as living microorganisms, which when ingested in adequate amounts, are capable of conferring health benefits to the consumer (Hill et al., 2014). There are many health benefits associated with the consumption of probiotics, such as: fighting poor nutrient absorption and food intolerance side effects (Maske et al., 2021), diminished risk of

postoperative infection (Liu et al., 2022), auxiliary treatment of viral infections through intestinal modulation (Sadiq, 2021), and blood glucose reduction in diabetic patients due to glucose metabolism alteration (Wang et al., 2021), among others.

The diversity of probiotic dairy derivatives is increasing; an industry response to consumer demand for healthy foods (Soares et al., 2019). Among dairy products, cheeses (including cream cheeses) are good carriers of probiotic microorganisms. This characteristic is associated with their high pH, and lipid contents, and low oxygen contents (Silva et al., 2022; Soares et al., 2019). In particular, ricotta cream (obtained from the homogenization of ricotta cheese with other ingredients), presents a smooth consistency, and can potentially serve as a food matrix to carry probiotic bacteria for human consumption (Buriti et al., 2007). In fact, it has been previously shown that goat ricotta cheese is a good carrier of probiotics, with good counts of these microorganisms during cold storage, and the ability to protect probiotic bacteria during *in vitro* digestion processing (Meira et al., 2015).

Lactobacillus (recently with altered taxonomy, Zheng et al., 2020) and *Bifidobacterium* are genera frequently used as probiotics in food matrices and associated with favorable effects on consumer health (Silva et al., 2022). The *Bifidobacterium* strains *lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 are the commercially available strains most commonly used in the fermentation of dairy products (Amiri et al., 2020), with effects already well documented in the literature.

In a recent study, strains of *Limosilactobacillus mucosae* were isolated from samples of goat's milk, and *in vitro* tests revealed their probiotic potential, especially *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (Moraes et al., 2017). This raised interest in using the strain in development of new goat industry dairy products (Dantas et al., 2022; Moraes et al., 2018; Morais et al., 2022). It is noteworthy that the development of new formulations for goat dairy products is a useful strategy towards greater diversification and acceptance of goat milk by consumers

(Souza and Dias, 2017; Cais - Sokolińska and Walkowiak-Tomczak, 2021). Goat flavor and aroma are known for their lower sensory acceptance as food (Fazilah et al., 2018).

Probiotic cultures often produce volatile compounds that can contribute to product aroma, resulting in goat dairy products with minimized intensities of the typically unpleasant aroma of these foods (Ranadheera et al., 2019). The sensory perception of consumers in relation to dairy products is influenced by the aromatic profile of the product (Bezerra et al., 2017; Bezerril et al., 2022). Addition of probiotic cultures can directly impact this profile to promote sensory changes (Kavas et al., 2021). We therefore evaluated the effects (during storage) of goat ricotta cream supplementation with *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 and *Lactobacillus acidophilus* La-5.

2. Material and Methods

2.1 Raw materials

Goat milk and butter used to produce goat ricotta cream were obtained from a cooperative in Monteiro, Paraíba, Brazil. The goat milk and butter were previously pasteurized (65°C/30 min) and stored under freezing ($-18\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) until be used to whey obtention. The commercial coagulating agent (0.9 mL L^{-1}) used to whey obtainment was HA-LA liquid coagulante (microbial chemosin - *Aspergillus niger* var *awamori*), from Christian Hansen® (Valinhos, Minas Gerais, Brazil) and Calcium chloride (CaCl_2) P.A, from FMaia® Ltda. (Cotia, São Paulo, Brazil), both were commercialy acquired. The indigenous culture *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 was obtained from the "Collection of Microorganisms of Interest to the Food and Agroenergy Industry" of Embrapa Agroindustry Tropical (Fortaleza, Ceará, Brazil), and was cultivated according to Moraes et al. (2017). The comercial probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* La-5 from Christian Hansen® was commercialy acquired.

2.2 Preparation of the inoculum and obtaining goat's milk whey

The *L. acidophilus* La-5 and *L. mucosae* CNPC007 strains (freeze dried) were weighed, and we considered a concentration of 0.1%, equivalent to 0.05g of inoculum for each liter of milk used in the preparation of the ricotta creams. The microorganisms were first separately inoculated into goat milk powders (reconstituted with sterile water) (Caprilat[®], Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brazil). These were then incubated at 37°C in aerobiosis, for approximately 22 h after inoculation (stationary phase), in a BOD incubator (Biochemical Oxygen Demand – Marconi, MA415, Piracicaba/SP, Brazil). After this multiplication period (to obtain the final inoculum), they were inoculated directly into the ricotta cream, together with the other ingredients, before final homogenization. The cell counts of *L. acidophilus* La-5, and *L. mucosae* CNPC007 in the inoculum varied between 8.5 and 9 log colony forming units per milliliter – CFU/ mL. The counts of *L. acidophilus* La-5, and *L. mucosae* CNPC007 were confirmed by serially diluting the inoculum in peptone water at a concentration of 0.1 g/100 mL (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA). For this, 10 µL aliquots of the dilutions (10^{-3} to 10^{-6}) were seeded on MRS agar (Oxoid Ltd., Basigstoke, UK), for *L. acidophilus* La-5, and on MRS agar (Oxoid Ltd., Basigstoke, UK) acidified to pH 5 (IDF, 1995), for *L. mucosae* CNPC007, using microdrop technique. The plates were then incubated at 37°C - respectively for 72 and 48 hours, and in anaerobic and aerobic conditions for counting *L. acidophilus* La-5 and *L. mucosae* CNPC007. The results were expressed in colony forming units per milliliter – CFU/ mL.

2.3 Elaboration of goat ricotta cream formulations

After whey goat whey obtainment, the steps to formulate the goat ricotta cream were followed as presented in Fig.1, according to methodology adapted from Meira et al. (2015) and Fritzen-Freire et al. (2013).

The inoculum containing the probiotic strains was added during the final step of mixing the ingredients. The formulations were packed in glass containers with lids, properly sanitized, and stored under refrigeration ($4 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$) for 28 days. Characterizations were performed in triplicate at 1, 14, and 28 days of cold storage.

2.4 Profile of volatile compounds

Volatile compounds from the goat ricotta cream formulations were extracted using the HS-SPME technique (Bezerra et al., 2017). The fiber used was 50/30 μm Divinylbenzene/Carboxen/Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellafonte, Pennsylvania, USA), and was packaged according to the manufacturer's instructions prior to extraction. First, 20 g of cheese was transferred to a 100 mL flat-bottomed headspace flask, with a PTFE/silicone septa magnetic seal and cap. The volatile compounds were then extracted by placing the flask in a water bath at 40°C with internal magnetic stirring. The sample reached equilibrium in 20 minutes and was then exposed to the fiber for 40 minutes. A 7890B gas chromatograph (GC), coupled to an Agilent® Technologies 5977B mass spectrometer (Little Falls, DE, USA), and a VF-5MS column ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$) was used to separate and identify the volatiles collected by SPME.

The GC inlet temperature was set to 240°C ; the helium carrying gas flow rate was 1.2 mL /min. The initial oven temperature was 40°C , which was maintained for 1 min, followed by rising temperature steps of $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ until reaching 220°C , and remaining so for 30 min. The mass spectrometer was operated in electronic impact mode at 70 eV. The GC transfer line, ion source, and quadrupole analyzer temperatures were respectively set to 250, 230, and 150°C , the mass range of 25–500 m/z was recorded in full scan mode. Data were acquired and analyzed using the Mass Hunter (Agilent) software program. The linear retention index (LRI) of each compound was calculated using the retention times of a homologous series of C6-C25 n-

alkanes. The volatile components were identified by comparing their mass spectra and LRI values with the NIST 2014 computer database (Version 2.2 2014).

2.5 Sensory analysis

The research was approved by the Research Ethics Committee of the Health Sciences Center of the Federal University of Paraíba, under protocol No. 3,853,726; which is recognized by the National Research Ethics Commission (CONEP).

The ricotta cream formulations were subjected to JAR (*Just about right*) or Ideal Scaling, sensory acceptance tests, and purchase intent and ordering-preference tests at 7 days of cold storage (Faria; Yotsuyanagi, 2002; Nguyen; Wismer, 2019). The PAE (Preferred Attribute Elicitation), a descriptive sensory test method which uses untrained consumers as judges (Silva et al., 2021); was performed with the formulations at 1, 7, and 14 days of refrigerated storage.

Untrained persons (60) participated in the study, using the JAR tests, sensory acceptance, purchase intention, and preference ordering, these "tasters" were selected based on their habits and interest in consuming goat dairy products, made up of both males and females, whose ages ranged from 18 to 45 years of age, who did not have any health problems involving allergy to milk protein and/or lactose intolerance, or physical disability that might compromise sensory evaluation of the products, or specifically related to one of the three human senses: smell, taste, and vision. For the PAE methodology, the consumer panel was composed of 5 women and 2 men, between 30 and 45 years of age, being selected according to their habit of consuming goat cheese.

The JAR (*Just about right*) test, or Ideal Scale were performed to measure the ideal amount of a certain component that should be present in this dairy product. Consumers

evaluated the samples by recording their responses on specific scales (Ideal Scale), identifying how ideal such a sample was in relation to a given attribute under study (Vickers, 1988).

Sensory acceptance tests were also carried out, in which the appearance, color, aroma, flavor, texture, and global acceptance were analyzed. The tasters assigned values to the samples, in a structured hedonistic scale with nine points (1 = disliked very much; 5 = neither liked nor disliked; 9 = liked very much). The forms intended for this test contained fields that allowed the panelists to write down descriptions they considered important. Formulations were considered accepted when they obtained a mean ≥ 5.0 (equivalent to the hedonic term “I moderately liked it”).

At the same time, purchase intention was also evaluated. For this, a structured hedonic scale with five points was used (1 = would never buy; 3 = maybe would buy/maybe not buy; 5 = would buy). The relative preference among the cheese samples was conducted according to an ordering design in randomized blocks of 60 untrained tasters, using a preference test, with scores ranging from 1 (“most preferred sample”) to 5 (“least preferred sample”).

The PAE methodology was conducted according to Grygorczyk et al. (2013) and Bezerril et al. (2022). This test was performed in analysis cabins and a room (for discussion), in three PAE sessions, where each taster received 25 g of each sample at 5°C in a plastic container.

2.6 Statistical analysis

The experiment was completely randomized and repeated three times. The determination of the volatile profile was carried out in triplicate and the results were submitted to the Student's t test (between storage times) and analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's mean comparison test (between formulations) and considering $p \leq 0.05$. The sensory

acceptance and purchase intention test results were expressed as mean and standard deviation. Analysis of variance (ANOVA) was applied followed by Tukey 's test of means comparison (between the formulations) considering $p \leq 0.05$. To calculate the data, the Sigma Stat 3.5 software package was used (Jandel Scientific Software, San Jose, California) (SIGMASTAT, 2006).

The data obtained in the Ideal Scale affective test were evaluated by penalty analysis. This type of analysis is used to show "penalties" (average drops in overall taste) for each non-JAR attribute in each sample. Non-JAR attributes with statistically significant penalties are highlighted with an “*” in the penalty analysis graphs (Nguyen; Wismer, 2019). The results of the ordering-preference sensory tests were analyzed according to the Friedman test, using the Newell Mac Farlane Table (Faria and Yotsuyanagi, 2002).

Sensory data obtained by the PAE method were treated using principal component analysis (PCA), where the objective was to evaluate the correlation matrix of the evaluators' perception in relation to a specific characteristics of the ricotta cream samples, this at 1, 7, and 14 days of cold storage. The samples were evaluated in relation to aroma (fermented, goat, normal, and dairy) and flavor (acid, salty, goaty, and normal) characteristics. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 9.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

3. Results and discussion

3.1 Profile of volatile compounds

A total of 17 volatile compounds were identified in the three ricotta cream formulations at 14 days: 7 ketones, 2 aldehydes, 4 acids, 2 esters, 1 hydrocarbon, and 1 terpene (Table 1). Interestingly, only the ricotta cream supplemented with the autochthonous strain *L. mucosae*

CNPC007 (RCLM) presented 2,3-butanedione (at both storage times) and did not present ethyl-decanoate in any detectable amount. Variations in the amounts of volatile compounds at 14 days of storage were also highlighted in the RCLM formulation, with a reduction in the concentration of 2-pentanone, nonanal, 1-decyne, and caryophyllene; and increases in 2,3-butanedione, acetic, and octanoic acid ($p \leq 0.05$).

When compared to other studies that also evaluated the aromatic profile of goat cheeses stored for periods of 28 to 60 days (Bezerra et al., 2017; Jia et al., 2021), few volatile compounds were identified. The microorganisms present in cheese are essential to formation of volatile compounds, which are nothing more than metabolites resulting from the microbial enzymatic breakdown of molecules such as proteins, lactose, lipids, lactate, and citrate, (by different mechanisms) (Kavas et al., 2021). These reactions continue to occur during the cheese maturation and storage period (Ramirez-Lopez and Velez-Ruiz, 2018), and therefore, matured cheeses or those stored for long periods tend to present a greater variety of volatile compounds. This explains the lower number of compounds identified in the present study as compared to other studies, considering that fresh cheese (without maturation) stored for a short period of time (up to 14 days) was evaluated.

From the ketone group, the compounds 2-nonanone (58.64 to 83.85 AU x 10⁻⁵), 2-heptanone (38.25 to 47.00 AU x 10⁻⁵), and 2-pentanone (1.50 to 7.40 AU x 10⁻⁵) appeared in higher amounts in goat ricotta cream formulations. The compound 2-heptanone contributes to the herbaceous aroma of some cheeses (Bezerra et al., 2016). In yogurts and fermented milks, 2-nonanone together with 2-heptanone are cited as responsible for fresh creamy aromas (Dan et al., 2017; Jia et al., 2022), which may justify their presence in fresh un-ripened cheeses, such as those studied in this research. The pyruvate derivative 2,3-butanedione appeared only in the RCLM sample and showed a significant increase during storage. 2,3-butanedione comes from

the fermentative metabolism of glucose and citrate (Dan et al., 2017), and is associated with butter flavor (Ranadheera et al., 2019).

Two compounds were identified from the aldehyde group, benzaldehyde (2.40 to 3.39 AU x 10⁻⁵), and nonanal (0.30 to 2.97 AU x 10⁻⁵). In most of the formulations these remained constant during storage ($p \geq 0.05$), except nonanal in the RCLM formulations which after 14 days of storage presented a reduction ($p \leq 0.05$). Aldehydes are of great importance for the aroma and flavor of foods (Dabaj et al., 2020). During maturation, there is a general tendency for reduction in the amounts of aldehyde compounds, since they are converted into acids or alcohols (Bezerra et al., 2016). This was not observed for all the formulations studied, likely due to the cheese being fresh (un-ripened) with short storage times, insufficient for complete conversion of aldehydes into their metabolite derivatives, such as acids and alcohols.

In total, four acid compounds were identified, though in these goat ricotta cream formulations, octanoic acid (14.73 to 33.79 AU x 10⁻⁵), decanoic acid (8.39 to 19.95 AU x 10⁻⁵), and acetic acid (2.69 to 12.42 AU x 10⁻⁵) were found in greater quantities ($p \leq 0.05$). In our study, we observed that at 14 days of cold storage, there was an increase in octanoic acid (from 16.78 to 33.79 AU x 10⁻⁵) in the RCLM formulation alone ($p \leq 0.05$). The characteristic aroma of goat cheese is attributed to octanoic acid. In general, due to lipolysis during maturation/storage, there is a tendency to increase acid concentrations, including octanoic acid (Bontinis et al., 2012). Hexanoic acid is associated with the typical goat milk aroma, and the sickening, sweet, and rancid cheese-like aroma (Ranadheera et al., 2019). The reduced hexanoic acid concentrations found in our study, as compared to the other acids detected, are essential for reduced goat aroma.

Acetic acid can result from the catabolism of lactose, citrate, and amino acids, or from propionic fermentation (Faccia et al., 2018), during maturation and storage. In our study, we noted that after 14 days of storage, the formulations containing the probiotic microorganisms

presented higher concentration of acetic acid ($p \leq 0.05$), this can be explained by the higher catabolism of acetic acid precursors by these bacteria, as well as via propionic fermentation also performed by these microorganisms. Only 2 esters were identified, ethyl octanoate (1.16 to $1.53 \text{ AU} \times 10^{-5}$) and ethyl decanoate (1.47 to $2.17 \text{ AU} \times 10^{-5}$). Esters contribute floral and fruity notes to dairy products (Dabaj et al., 2020). This group of compounds is characterized by volatility at room temperature and is responsible for fruity and fermented aromas, which can mask unwanted odors, such as those characteristic of lipolysis (Evert-Arriagada et al., 2013). This feature may be interesting in goat dairy products, since it would minimize the perception of the characteristic and more distinct goat odors, attributable to the presence of medium-chain fatty acids, such as capric, caprylic, and caproic acid (Costa et al., 2017).

From the hydrocarbon group, only 1-decyne was detected in all formulations, at 14 days of refrigerated storage, the concentration had increased in RCLA (from 1.79 to $2.95 \text{ AU} \times 10^{-5}$), and decreased in RCLM (from 3.34 to $0.74 \text{ AU} \times 10^{-5}$) ($p \leq 0.05$). Due to high detection thresholds, this group of compounds normally has little influence on aroma. Still, they act as precursors for other volatile compounds (Bezerra et al., 2017). Terpene derivatives come from vegetables in the animal's diet and are transferred to the milk (Bezerril et al., 2022). The only compound identified which belonged to this group was caryophyllene, present only in the probiotic supplemented samples.

It was also observed that the addition of probiotic bacteria contributed to increases in the amounts of certain compounds which can have a positive influence on aroma and flavor. For example, in the presence of *L. mucosae* (RCLM) there was an increase in the amount of 2,3-butanedione and octanoic acid, which are responsible for the characteristic odor of fermented milk, and have a positive impact on dairy product flavor (Dan et al., 2017).

3.2 Sensory analysis

For the sensory attributes, evaluated using a 9-point hedonic scale, all formulations were well accepted (Table 2), the scores were higher than 5, which corresponds to the hedonic term “neither liked/neither disliked”. The goat ricotta cream formulations presented no significant differences ($p \geq 0.05$) in sensory terms for appearance, color, consistency, aroma, global acceptance, or purchase intent. For flavor, the RCLA formulation presented a lower score than the CRC formulation ($p \leq 0.05$), while the RCLM sample did not differ significantly from either ($p \geq 0.05$). Even so, the hedonic term for RCLA flavor acceptance ranged from “liked moderately” to “liked very much”. It is thus possible to affirm that supplementation with probiotic strains did not interfere negatively in sensorial acceptance or purchase intentions for the goat ricotta cream formulations.

According to the general preference ranking test, the RCLA and RCLM samples were equally preferred ($p \geq 0.05$), significantly differing from the CRC sample, which was the least preferred ($p \leq 0.05$).

Regarding JAR parsing (Just About Right) or Ideal Scaling, any attribute that 70% or more of the respondents consider ideal exerts a strong influence on global acceptance. According to the data presented in Figure 2, the attributes of color, consistency, and texture presented the greatest impact on the global impression for goat ricotta cream formulations. Regarding saltiness, the RCLM formulation was considered by 71.7% of the tasters as ideal, followed by the CRC formulation with 65% and RCLA, considered by 31.7% to be above ideal for salty taste. The data corroborate the results for sensory acceptance of flavor, whose score for this formulation was lower than the score attributed to CRC ($p \leq 0.05$).

Using the ideal scale for the goat flavor attributes, no formulation presented a negative impact for sensory evaluations. In relation to goat aroma, the RCLA and RCLM formulations were identified as ideal. However, we noted that there was no statistical difference ($p \geq 0.05$) for aroma when the formulations were evaluated in sensory acceptance testing (Table 2).

In the PAE method, 4 aroma attributes (fermented, goat, typical, and dairy) and 4 flavor attributes (acid, salty, goat, and typical) were defined and considered important for consumers. The correlation between aroma and flavor attributes in the evaluators' perceptions was analyzed at 1, 7, and 14 days of cold storage, and is presented in Figure 3, which is the PCA map. The data variation is 99.90% explained by PC1, and 0.07% by PC2. This result is essential, as untrained consumers were used as evaluators in the PAE methodology.

In accordance with the PCA map, the RCLA and RCLM samples were identified by the evaluators, principally at 7 and 14 days of storage, as the samples with the most outstanding acidic and fermented aromas and characteristic product flavor. These results corroborate those found in the volatiles profiling, where it was observed that the samples supplemented with probiotic microorganisms presented higher acid concentrations, especially at the end of the storage period (14 days). The Control Ricotta Cream (CRC) formulations, at different storage times (1, 7, and 14 days), were those most associated with goat flavor and aroma. This result is important; since it appears that the probiotic strain supplementations minimized perceptions of these common attributes.

Still, as illustrated in Figure 3, the CRC and RCLM samples, from days 7 to 14, were identified with salty tastes. However, perception of a more salty taste in these formulations did not negatively impact the sensory evaluations. According to the JAR results presented in Figure 2, the RCLM and CRC formulations were considered as ideal in terms of saltiness by a great percentage of evaluators.

4 Conclusions

This is the first study evaluating the effects of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 supplementation on volatilomic profile and sensory parameters of goat ricotta cream during a 14 day cold storage period. In the volatilomic profile, the presence of *L. mucosae* CNPC007

influenced the concentration of compounds responsible for characteristic flavors in fermented dairy products. As to the sensory analyses, the presence of the microorganisms did not affect the overall acceptance or purchase intention of the products. In the preference ranking tests, the formulations RCLA and RCLM were preferred more than the CRC formulation. In the JAR test, the RCLA and RCLM formulations were identified as ideal in terms of goat aroma. These results were reinforced by principal component analysis, from which it was seen that the RCLA and RCLM formulations presented less goat aroma, with acidic fermentation aromas as the most outstanding flavor characteristic of the product.

References

- Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R. & Khaledabad, M. A. 2020. *In situ* production of conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5 in milk model medium. *Lebensm Wiss Technol*, 132, 109933. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109933>.
- Bezerra, T. K., de Araujo, A. R., do Nascimento, E. S., de Matos Paz, J. E., Gadelha, C. A., Gadelha, T. S., Pacheco, M. T., do Egypto Queiroga, R., de Oliveira, M. E., & Madruga, M. S. 2016. Proteolysis in goat "coalho" cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *Food Chem*, 196:359–366. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.066>
- Bezerra, T. K. A., Arcanjo, N. M. O., Araújo, A. R. R., Queiroz, A. L. M., Oliveira, M. E. G., Gomes, A. M. P., & Madruga, M. S. 2017. Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *Lebensm Wiss Technol*, 76:209-215. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.041>
- Bezerril, F. F., Pimentel, T. C., Sant'Ana, A. M. S., Souza, M. F. V., Medeiros, L. L., Galvão, M., Madruga, M. S., Queiroga, R. C. R. E., & Magnani, M. 2022. *Lactocaseibacillus casei* 01 improves the sensory characteristics in goat milk yogurt added with xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) jam through changes in volatiles concentration. *Lebensm Wiss Technol*, 154, 112598. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112598>
- Buriti, F. C. A., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M. C. C., & Saad, S. M. I. 2007. Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chem*, 104:1605-1610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.001>
- Cais-Sokolińska, D., & Walkowiak-Tomczak, D. 2021. Consumer-perception, nutritional, and functional studies of a yogurt with restructured elderberry juice. *J Dairy Sci*, 104:1318-1335. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18770>

Costa, M. P. C., Monteiro, M. L. G., Frasao, B. S., Silva, V. L. M., Rodrigues, B. L., Chiappini, C. C. J., & Conte-Junior, C. A. 2017. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *J Dairy Sci*, 100:157–168. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11315>

Dabaj, F. K., Lasekan, O., Manap, M. Y. A., & Ling, F. H. 2020. Evaluation of the volatilomic potentials of the *Lactobacillus casei* 431 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 in fermented milk. *CYTA J Food*, 18: 291-300. <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1741688>

Dan, T., Wang, D., Jin, R. L., Zhang, H. P., Zhou, T. T. & Sun, T. S. 2017. Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *J Dairy Sci*, 100:2488-2500. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11528>.

Dantas, D. L. S., Vieira, V. B., Soares, J. K. B., Santos, K. M. O., Egito, A. S., Figueirêdo, R. M. F., Lima, M. S., Machado, N. A. F., Souza, M. F. V., Conceição, M. L., Queiroga, R. C. R. E., & Oliveira, M. E. G. 2022. *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. *Lebensm Wiss Technol*, 158, 113165.

Evert-Arriagada, K., Hernández-Herrero, M. M., Gallardo-Chacón, J. J., Juan, B. & Trujillo, A. J. 2013. Effect of high pressure processing on volatile compound profile of a starter-free fresh cheese. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 19:73-78. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.04.001>.

Faccia, M., Trani, A., Natrella, G., & Gambacorta, G. 2018. Short communication: Chemical-sensory and volatile compound characterization of ricotta forte, a traditional fermented whey cheese. *J Dairy Sci*, 101:5751–5757. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14424>.

Faria, E. V.; Yotsuyanagi, K. 2002. **Técnicas de Análise Sensorial**. Campinas: ITAL/LAFISE.

Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rio-Solis, L., & Halim, M. 2018. **Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt**. *J Funct Foods*, 48:387- 399. <http://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.039>

Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Pinto, S. S., Muñoz, I. B., Müller, C. M. O., Vieira, C. R. W. & Amboni, R. D. M. C. (2013). Effect of the application of *Bifidobacterium* BB-12 microencapsulated by spray drying with prebiotics on the properties of ricotta cream. *Food Res Int*, 52:50-55. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.049>.

Garcia, E. F., de Oliveira, M. E., Queiroga, R., Machado, T. A., & de Souza, E. L. 2012. Development and quality of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Sci Nutr*, 63: 947–956. <https://doi.org/10.3109/09637486.2012.687367>

Grygorczyk, A., Lesschaeve, I., Corredig, M. & Duizer, L. 2013. Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to

conventional profiling. *Food Qual Prefer*, 27:215-222.
<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.02.017>.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. 2014. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11: 506-514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

Jia, R., Zhang, F., Song, Y., Lou, Y., Zhao, A., Liu, Y., Peng, H., Hui, Y., Ren, R. & Wang, B. 2021. Physicochemical and textural characteristics and volatile compounds of semihard goat cheese as affected by starter cultures. *J Dairy Sci*, 104:270-280.
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-18884>.

Kavas, N., Kavas, G., Kınık, Ö., Ateş, M., Şatır, G., & Kaplan, M. 2021. The effect of using microencapsulated pro and prebiotics on the aromatic compounds and sensorial properties of synbiotic goat cheese. *Food Biosci*, 43, 101233. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101233>

Liu, G., Cao, S., Liu, X., Li, Z., Tian, Y., Zhang, X., Zhong, H., & Zhou, Y. 2022. Effect of perioperative probiotic supplements on postoperative short-term outcomes in gastric cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy: A double-blind, randomized controlled trial. *Nutrition*, 96, 111574. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2021.111574>

Maske, B. L., Pereira, G. V. M., Vale, A. S., Carvalho Neto, D. P., Karp, S. G., Viesser, J. A., Lindner, J. D. D., Pagnoncelli, M. G., Soccol, V. T., & Soccol, C. R. 2021. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. *Enzyme Microb Technol*, 149, 109836.

Meira, Q. G. S., Magnani, M., Medeiros Júnior, F. C., Queiroga, R. C. R. E., Madruga, M. S., Gullón, B., Gomes, A. M. P., Pintado, M. M. E., & Souza, E. L. 2015. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int*, 76(Pt 3):828–838. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.002>

Moraes, G. M. D., Abreu, L. R., Egito, A. S., Salles, H. O., Silva, L. M. F., Nero, L. A., Torodov, S. D., & Santos, K. M. O. 2017. Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian Goat Milk. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 9:235–245.
<https://doi.org/10.1007/s12602-016-9244-8>

Moraes, G. M. D., Santos, K. M. O., Barcelos, S. C., Lopes, S. A., & Egito, A. S. 2018. Potentially probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. *Lebensm Wiss Technol*, 94:57-63. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.028>

Moraes, J. L., Garcia, E. F., Vieira, V. B., Pontes, E. D. S., Araújo, M. G. G., Figueirêdo, R. M. F., Moreira, I. S., Egito, A. S., Santos, K. M. O., Soares, J. K. B., Queiroga, R. C. R. E., & Oliveira, M. E. G. 2022. Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk Greek-style yogurt. *J Dairy Sci*, 105:1889-1899. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21110>

Nguyen, H. & Wismer, W. V. 2019. A comparison of sensory attribute profiles and liking between regular and sodium-reduced food products. *Food Res Int*, 123:631-641. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.05.037>.

Oliveira, M. E. G. de, Garcia, E. F., Queiroga, R. C. R. E. & Souza, E. L. de. 2012. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. *Sci Agric*, 69:370-379. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000600005>

Ramírez-López, C. & Vélez-Ruiz, J. F. 2018. Effect of Goat and Cow Milk Ratios on the Physicochemical, Rheological, and Sensory Properties of a Fresh Panela Cheese. *J Food Sci*, 83:1862-1870. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14195>

Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Baines, S. K., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Pimentel, T. C., Wittwer, A. E., Naumovski, N., Graça, J. S., Sant'Ana, A. S., Ajlouni, S., & Vasiljevic, T. 2019. Probiotics in Goat Milk Products: Delivery Capacity and Ability to Improve Sensory Attributes. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 18:867–882. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12447>

Sadiq, F. A. 2021. Is it time for microbiome-based therapies in viral infections? *Virus Res*, 291, 198203. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198203>

Silva, R., Pimentel, T. C., Matos Junior, F. E., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Fávaro-Trindade, C. S., Silva, M. C., & Cruz, A. G. 2022. Microencapsulation with spray-chilling as an innovative strategy for probiotic low sodium requeijão cremoso processed cheese processing. *Food Biosci*, 46, 101517. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101517>

Silva, J. M., Barão, C. E., Esmerino, E. A., Cruz, A. G., & Pimentel, T. C. 2021. Prebiotic frozen dessert processed with water-soluble extract of rice byproduct: Vegan and nonvegan consumers perception using preferred attribute elicitation methodology and acceptance. *J Food Sci*, 86:523–530. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15566>.

Soares, M. B., Santos-Junior, V. A., Tavares Filho, E. R., Lollo, P., Morato, P. N., Amaya-Farfan, J., Pereira, E., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Martinez, R., & Sant'Ana, A. S. 2019. The Step of Incorporation of *Bacillus coagulans* GBI-30 6086 Into "requeijão cremoso" Processed Cheese Does Not Affect Metabolic Homeostasis of Rats. *Front Microbiol*, 10, 2332. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02332>

Souza, J. V., & Dias, F. S. 2017. Protective, technological, and functional properties of select autochthonous lactic acid bacteria from goat dairy products. *Curr Opin Food Sci*, 13:1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.01.003>

Vickers, Z. 1988. Sensory specific satiety in lemonade a just right scale for sweetness. *J Sens Stud*, 3:1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1988.tb00425.x>

Wang, X., Yang, J., Qiu, X., Wen, Q., Liu, M., Zhou, D., & Chen, Q. 2021. Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Treatment of Pre-diabetes: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Front Public Health*, 9, 645035. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.645035>

Zheng, J.; Wittouck, S.; Salvetti, E.; Franz, C. M. A. P.; Harris, H. M. B.; Mattarelli, P.; Toole, P. W. O.; Pot, B.; Vandamme, P.; Walter, J.; Watanabe, K.; Wuyts, S.; Felis, G. E.; Gänzle, M. G.; & Lebeer, S. 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*, 70:2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.

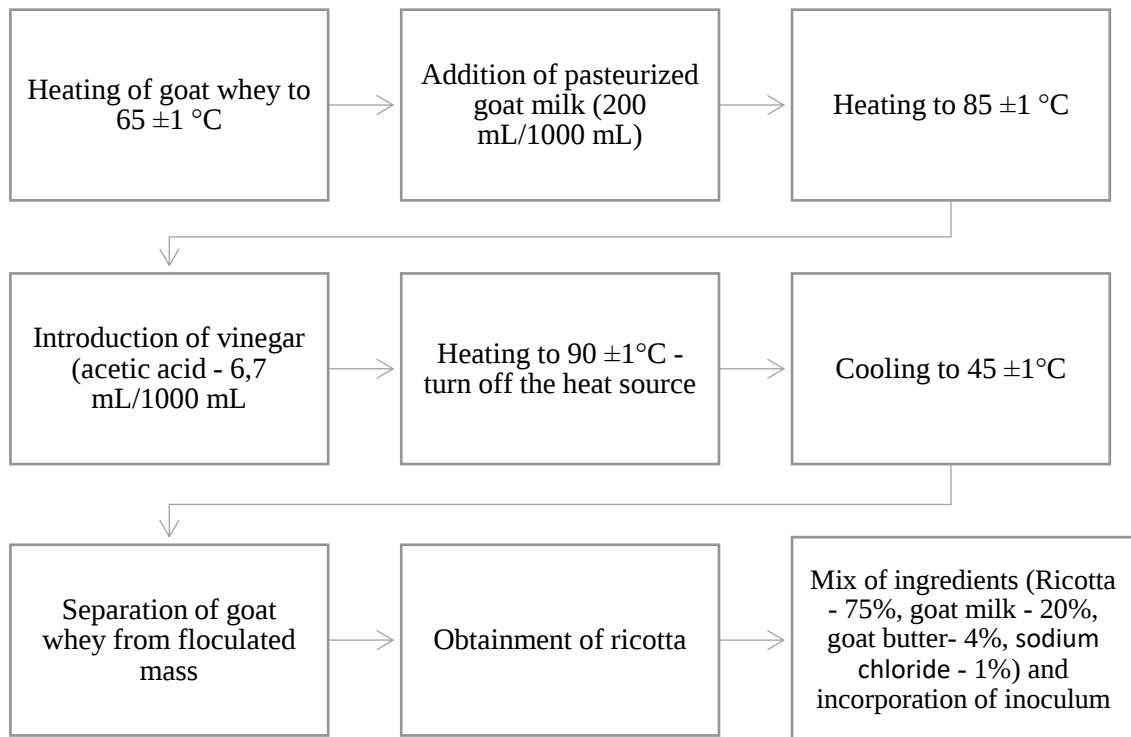
Figure Captions

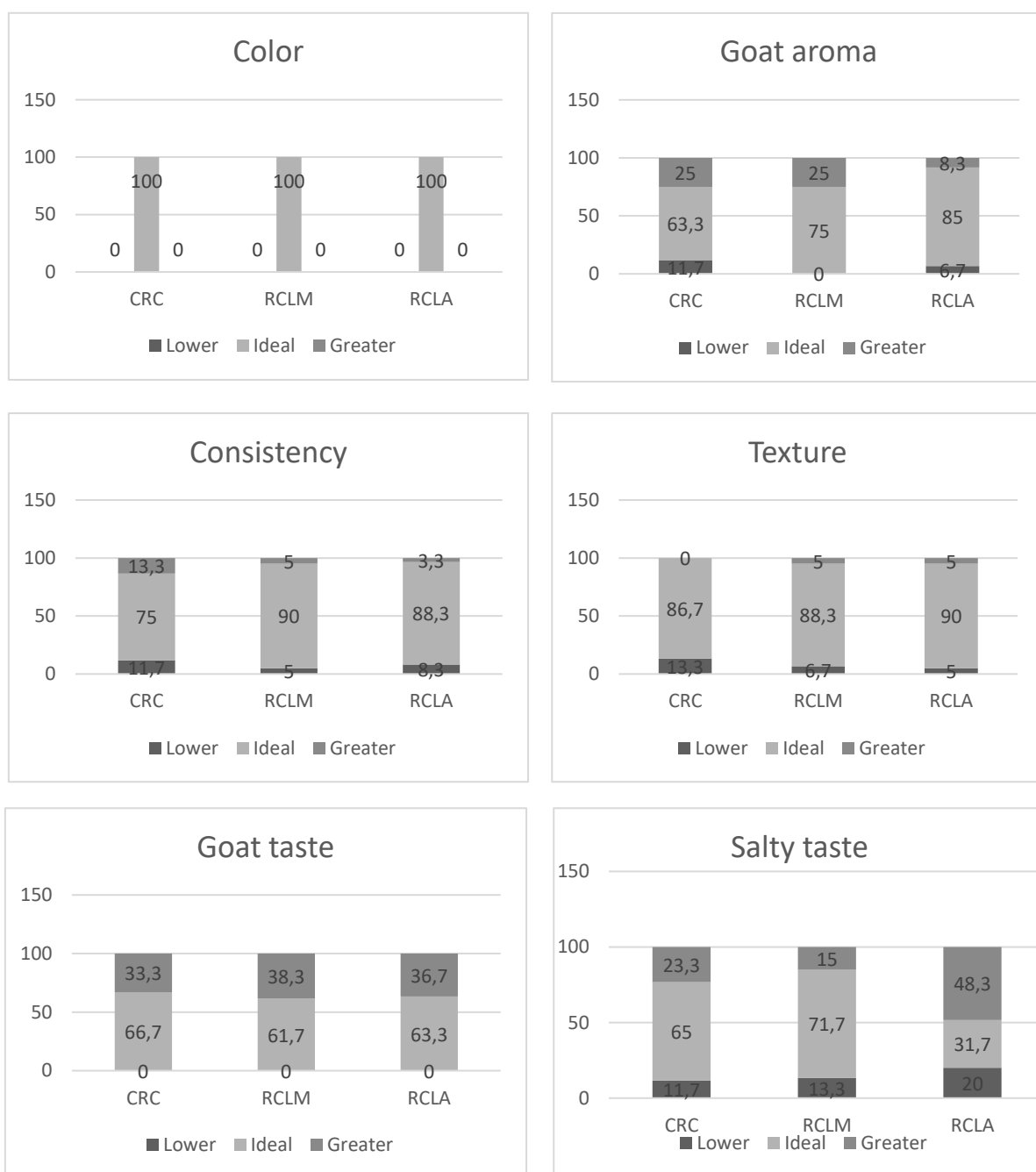
Figure 1. Flowchart of the processes for manufacturing goat ricotta cream containing or not containing the probiotic bacterium *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007 or *Lactobacillus acidophilus* La-5.

Figure 2. Comparison of JAR results for different attributes between the goat ricotta cream formulations.

Figure 3. Principal component analysis (PCA) of correlation between evaluators' perception of some specific characteristics of goat ricotta cream formulations (n=3) during times 1, 7 and 14 days of refrigerated storage.

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLA – Ricotta cream with the addition of *Lactobacillus acidophilus* LA-5; RCLM – Ricotta cream with the addition of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007.

**Fig. 1.**

**Fig. 2.**

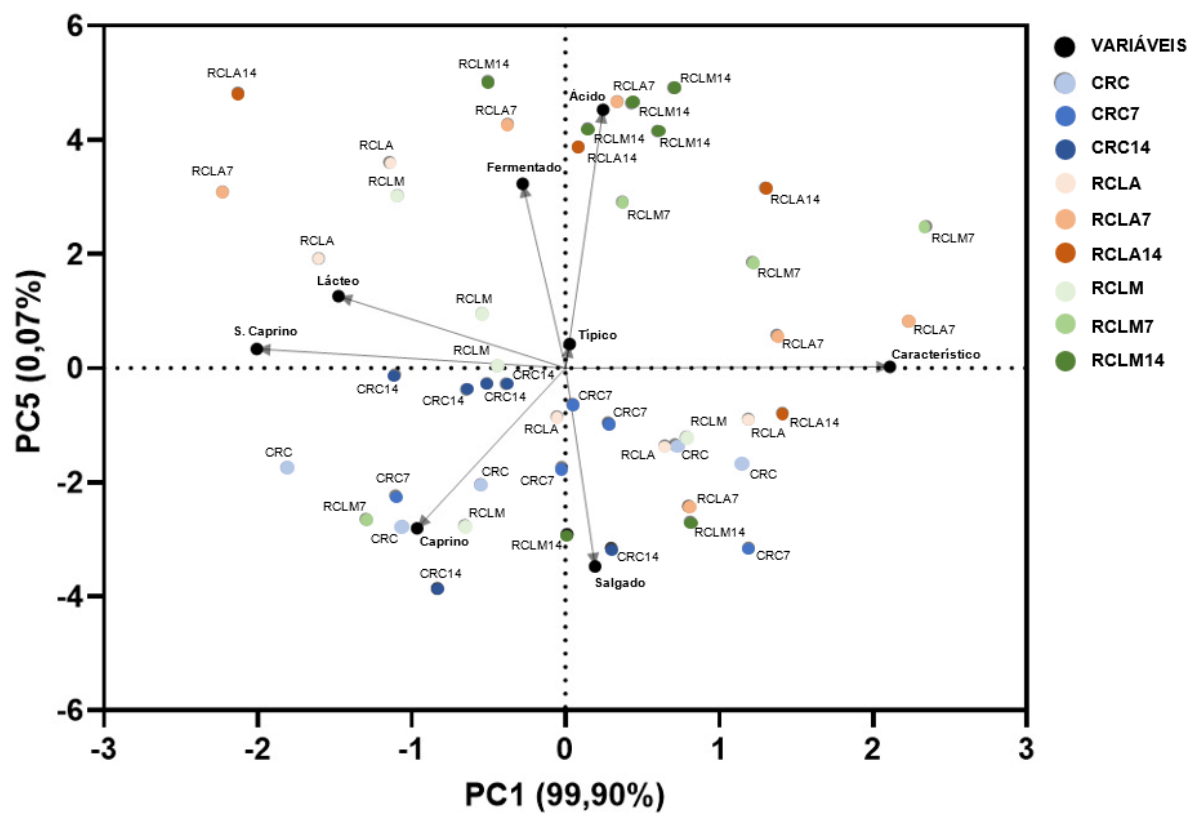


Fig. 3.

Table 1. Volatile profile (AU x 10⁵) of goat ricotta cream formulations stored under refrigeration for 14 days.

Class	Compounds	IR Lit	IR	Storage (Days)	CRC	RCLA	RCLM
Cetone	2,3-Butanedione	595	<800	1	nd	nd	7.00 ± 0.48 ^b
				14	nd	nd	26.50 ± 3.60 ^a
Cetone	2-Pentanone	655	<800	1	5.92 ± 2.30 ^{Aa}	7.40 ± 0.07 ^{Aa}	5.90 ± 0.27 ^{Aa}
				14	4.60 ± 2.50 ^{ABa}	7.20 ± 0.86 ^{Aa}	1.50 ± 0.53 ^{Bb}
Cetone	2-Octanone	990	994	1	0.68 ± 0.06 ^{Aa}	0.67 ± 0.03 ^{Aa}	0.80 ± 0.11 ^{Aa}
				14	0.91 ± 0.41 ^{Aa}	1.10 ± 0.18 ^{Aa}	0.67 ± 0.14 ^{Aa}
Cetone	8-Nonen-2-one	1085	1085	1	0.46 ± 0.09 ^{Aa}	0.54 ± 0.08 ^{Ab}	0.69 ± 0.16 ^{Aa}
				14	0.76 ± 0.35 ^{Aa}	0.92 ± 0.10 ^{Aa}	0.72 ± 0.07 ^{Aa}
Cetone	2-Nonanone	1092	1094	1	59.30 ± 2.48 ^{Aa}	70.13 ± 9.47 ^{Aa}	83.85 ± 16.66 ^{Aa}
				14	65.04 ± 18.19 ^{Aa}	70.88 ± 8.42 ^{Aa}	58.64 ± 3.18 ^{Aa}
Cetone	2-Undecanone	1294	1295	1	1.86 ± 0.05 ^{Ba}	2.34 ± 0.10 ^{ABb}	2.60 ± 0.40 ^{Aa}
				14	2.63 ± 0.88 ^{Aa}	3.18 ± 0.10 ^{Aa}	2.16 ± 0.18 ^{Aa}
Cetone	2-Heptanone	891	890	1	41.70 ± 1.40 ^{Aa}	41.42 ± 4.61 ^{Aa}	47.00 ± 6.43 ^{Aa}
				14	42.30 ± 6.84 ^{Aa}	45.48 ± 8.26 ^{Aa}	38.25 ± 2.04 ^{Aa}
Aldehyde	Benzaldehyde	962	962	1	2.52 ± 0.30 ^{Aa}	2.87 ± 0.33 ^{Aa}	2.99 ± 0.32 ^{Aa}
				14	2.50 ± 0.61 ^{Aa}	3.39 ± 1.12 ^{Aa}	2.40 ± 0.48 ^{Aa}
Aldehyde	Nonanal	1104	1105	1	2.36 ± 0.06 ^{Aa}	2.39 ± 0.21 ^{Aa}	2.73 ± 0.30 ^{Aa}
				14	2.97 ± 0.97 ^{Aa}	2.53 ± 0.50 ^{Aa}	0.30 ± 0.05 ^{Bb}
Acid	Acid acetic	660	<800	1	4.26 ± 0.90 ^{Aa}	5.64 ± 0.40 ^{Aa}	3.90 ± 0.74 ^{Ab}
				14	2.69 ± 1.60 ^{Ba}	9.68 ± 4.25 ^{Aa}	12.42 ± 0.48 ^{Aa}
Acid	Hexanoic acid	1001	1003	1	3.33 ± 0.65 ^{Aa}	2.10 ± 0.35 ^{Aa}	3.09 ± 1.03 ^{Aa}
				14	2.29 ± 1.05 ^{Aa}	2.95 ± 1.41 ^{Aa}	1.64 ± 0.73 ^{Aa}
Acid	Octanoic acid	1192	1191	1	14.73 ± 1.36 ^{Aa}	22.34 ± 3.55 ^{Aa}	16.78 ± 4.12 ^{Ab}
				14	18.74 ± 6.55 ^{Ba}	22.57 ± 2.09 ^{Ba}	33.79 ± 2.51 ^{Aa}
Acid	Decanoic acid	1373	1376	1	8.39 ± 1.43 ^{Aa}	15.35 ± 1.34 ^{Aa}	13.84 ± 5.62 ^{Ab}
				14	12.01 ± 5.99 ^{Aa}	15.04 ± 0.91 ^{Aa}	19.95 ± 2.78 ^{Aa}
Ester	Ethyl octanoate	1196	1199	1	1.17 ± 0.06 ^{Aa}	1.44 ± 0.32 ^{Aa}	1.52 ± 0.24 ^{Aa}
				14	1.53 ± 0.49 ^{Aa}	1.56 ± 0.19 ^{Aa}	1.16 ± 0.68 ^{Aa}
Ester	Ethyl decanoate	1396	1397	1	1.47 ± 0.04 ^{Ba}	1.88 ± 0.18 ^{Aa}	Nd
				14	1.81 ± 0.86 ^{Aa}	2.17 ± 0.03 ^{Aa}	Nd
Hydrocarbon	1-Decyne	-	1027	1	1.40 ± 0.12 ^{Ba}	1.79 ± 0.53 ^{Bb}	3.34 ± 0.18 ^{Aa}
				14	2.57 ± 1.84 ^{Aa}	2.95 ± 0.49 ^{Aa}	0.74 ± 0.27 ^{Ab}
Terpene	Caryophyllene	1419	1423	1	nd	1.06 ± 0.05 ^{Ab}	1.17 ± 0.07 ^{Aa}
				14	nd	1.37 ± 0.13 ^{Aa}	0.80 ± 0.13 ^{Bb}

^{A-C} Mean ± standard deviation with different capital letters on the same line differed by the Student's t-test or Tukey's test ($p < 0.05$) between formulations ($n = 9$).

^{a-b} Mean ± standard deviation with different lowercase letters in the same column differed by Student's t-test ($p < 0.05$) over storage time ($n = 9$).

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLA – Ricotta cream with the addition of *Lactobacillus acidophilus* LA-5; RCLM – Ricotta cream with the addition of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007.

IR Lit: Literature retention index.

IR: Calculated retention index.

Table 2. Sensory acceptance of goat ricotta cream formulations at day 7 of refrigerated storage.

Sensory attributes	Goat ricotta cream formulations		
	CRC	RCLA	RCLM
Appearance	8.30 ±0.56 ^A	8.37 ±0.69 ^A	8.53 ±0.60 ^A
Color	8.55 ±0.54 ^A	8.48 ±0.60 ^A	8.48 ±0.52 ^A
Texture	8.40 ±0.76 ^A	8.05 ±0.96 ^A	8.17 ±0.69 ^A
Aroma	8.30 ±0.93 ^A	8.06 ±0.76 ^A	8.01 ±0.67 ^A
Taste	8.38 ±0.88 ^A	7.85 ±1.18 ^B	8.22 ±0.80 ^{AB}
Global acceptance	8.30 ±0.65 ^A	7.98 ±0.94 ^A	8.08 ±0.65 ^A
Purchase intention	4.45 ±0.68 ^A	4.28 ±0.70 ^A	4.35 ±0.66 ^A

Results are expressed as average (n = 180 panelists) ± standard deviation.

^{A-B} Mean ± standard deviation with different capital letters on the same line differed by the Tukey's test (p < 0.05) between formulations.

Formulations: CRC – Control ricotta cream; RCLA – Ricotta cream with the addition of *Lactobacillus acidophilus* LA-5; RCLM – Ricotta cream with the add

ANEXO A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de creme de ricota caprino adicionado da cepa autóctone com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC007

Pesquisador: Marcia Gabrielle Silva Viana

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 26350319.3.0000.5188

Instituição Proponente: Centro De Ciências da Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.853.726

Apresentação do Projeto:

O projeto intitulado, Desenvolvimento de creme de ricota caprino adicionado da cepa autóctone com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNPC007, pertence a aluna Márcia Gabrielle Silva Viana, do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO CURSO DE DOUTORADO- UFPB.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário:

Elaborar e caracterizar aspectos tecnológicos, físico-químicos, químicos, microbiológicos e sensoriais de creme de ricota caprino adicionado de cepa autóctone *Lactobacillus mucosae* CNPC007, bem como avaliar in vitro o efeito protetor da matriz alimentar sobre este micro-organismo.

Objetivo secundário:

•Elaborar creme de ricota caprino adicionado do micro-organismo;•Caracterizar as variáveis tecnológicas, físico-químicas, químicas, microbiológicas e sensoriais do creme de ricota armazenado durante 28 dias sob refrigeração;•Analisar o efeito protetor do creme de ricota

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

Cepa: 58.051-900

UF: PB

Município: JOÃO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**UFPB - CENTRO DE CIÊNCIAS
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA**



Continuação do Parecer: 3.853.726

caprino sobre a sobrevivência da cepa adicionada quando submetida às condições simuladas do trato gastrointestinal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O risco decorrente da participação no estudo será a possibilidade de reação alérgica a algum dos ingredientes do produto elaborado, a fim de evitar isso, os participantes serão informados sobre a composição do produto. A análise será realizada no laboratório de Técnica Dietética/UFPB, onde os participantes responderão os questionários individualmente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresentada continua bem instruída no contexto geral, os documentos que estavam faltando na versão 1, de acordo com a resolução 466/12 do CEP, foi sanada na versão 2 do projeto!

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O projeto encontra-se dentro das normas da resolução 466/12!

Recomendações:

Recomenda-se aprovar!

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1410053.pdf	02/01/2020 22:44:42		Aceito

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CxP: 58.051-900
UF: PB Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

ANEXO B - COMPROVANTE DE DEPÓSITO DE PATENTE**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT****Número do Processo:** BR 10 2022 003106 1**Dados do Depositante (71)**

Depositante 1 de 1

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

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): QUEIJO TIPO CREME DE RICOTA CAPRINO COM POTENCIAL PROBIÓTICO E MÉTODO DE OBTENÇÃO

Resumo: A invenção apresentada neste documento refere-se a um queijo tipo creme de ricota caprino adicionado de cepa autóctone com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNP007. O produto caracteriza-se por sua textura cremosa e homogênea, cor clara, sabor e consistência suave, quando comparada a produtos semelhantes no mercado. As cepas de *Lactobacillus mucosae* CNP007 adicionadas apresentam boa capacidade de sobrevivência às condições do trato gastrointestinal e de adesão ao epitélio intestinal, como também tolerância aos sais biliares. Essas características tornam esta cepa um potencial probiótico, podendo vir a desempenhar outros benefícios a saúde do consumidor, como melhora da saúde intestinal e do sistema imunológico, entre outros benefícios, o que agrega valor ao creme de ricota caprino com adição de cepa autóctone com potencial probiótico *Lactobacillus mucosae* CNP007. O preparo do produto descrito na presente invenção é de fácil execução e baixo custo, além de constituir uma alternativa para o aproveitamento do soro de leite caprino resultante da fabricação de queijos.

Figura a publicar: 1

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3

Nome: MÁRCIA GABRIELLE SILVA VIANA

CPF: 06808882410

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Doutorando

Endereço: Rua Ana de Fátima Gama Cabral, nº701, apto 103, Bloco 10. Portal do Sol

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58046-780

País: BRASIL

Telefone: (83) 987 036858

Fax:

Email: mgabisviana@gmail.com

Inventor 2 de 3

Nome: MARIA ELIEIDY GOMES DE OLIVEIRA

CPF: 01187544400

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

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

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58051-900

País: BRASIL

Telefone: (83) 996 886068

Fax:

Email: elieidynutri@yahoo.com.br

Inventor 3 de 3

Nome: GEORGIA MACIEL DIAS DE MORAES

CPF: 80246826304

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Pesquisador

Endereço: Avenida Margarida Moura nº 1320

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 82044-240

País: BRASIL

Telefone: (88) 999 622910

Fax:

Email: geogiamacioldm@gmail.com