

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

**ERICKA OLIVEIRA DA SILVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ACHOCOLATADA  
DE CABRA CONTENDO *Bifidobacterium lactis*, INULINA E  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS.**

**JOÃO PESSOA  
2014**

**ERICKA OLIVEIRA DA SILVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ACHOCOLATADA  
DE CABRA CONTENDO *Bifidobacterium lactis*, INULINA E  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS.**

**JOÃO PESSOA  
2014**

**ERICKA OLIVEIRA DA SILVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ACHOCOLATADA  
DE CABRA CONTENDO *Bifidobacterium lactis*, INULINA E  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS.**

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

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Haíssa Roberta Cardarelli

**JOÃO PESSOA  
2014**

S587d Silveira, Ericka Oliveira da.

Desenvolvimento de bebida láctea achocolatada de cabra contendo  
Bifidobacterium lactis, inulina e Frutooligossacarídeos / Ericka  
Oliveira da Silveira.-- João Pessoa, 2014.

63f.

Orientadora: Haíssa Roberta Cardarelli

Dissertação (Mestrado) – UFPB/CT

1. Tecnologia de alimentos. 2. *Bifidobacterium lactis*. 3. Inulina.
4. Leite de cabra. 5. Frutooligossacarídeos. 6. Queijo de cabra – soro.

**ERICKA OLIVEIRA DA SILVEIRA**

**DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA LÁCTEA ACHOCOLATADA DE  
CABRA CONTENDO *Bifidobacterium lactis*, INULINA E  
FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS**

Dissertação \_\_\_\_\_ em \_\_\_\_\_ / 2014.

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Haíssa Roberta Cardarelli**  
Coordenadora da Banca Examinadora

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Carolina Alonso Buriti**  
Examinadora Externa

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marciane Magnani**  
Examinadora Interna

**À melhor mãe do mundo: Adeilde Pereira de Oliveira,  
Pela sua dedicação, força e apoio em todos os momentos.  
DEDICO.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua presença constante em minha vida, pelo conforto nas horas difíceis e principalmente pelas bênçãos derramadas sobre mim;

A minha mãe, por toda dedicação, preocupação, apoio e incentivo;

Aos meus irmãos que nunca mediram esforços para me ajudar, dando-me força para nunca desistir dos meus sonhos;

Ao meu namorado, Mateus, pela paciência, apoio, incentivo, torcida, conselhos, alegrias compartilhadas e conquistas alcançadas;

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Haíssa Roberta Cardarelli, pelo exemplo de profissional e, acima de tudo, de pessoa, pela paciência, orientações e conselhos;

Aos amigos José Honório, Annie e Liliane, pela amizade, ajudas mútuas, torcida, apoio, incentivo, enfim, por tudo que vivemos nesta fase de nossas vidas;

A professora Dr<sup>a</sup> Marciane Magnani e a professora Dr<sup>a</sup> . Flávia Carolina Alonso Buriti pela disponibilidade, apoio e sugestões para o meu trabalho;

A Universidade Federal da Paraíba (UFPB), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade concedida para a realização do Mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa durante o curso;

Às empresas Sacco Brasil, Beneo – Orafti e Genkor Ingredientes pelas doações das matérias-primas utilizadas neste estudo;

Ao Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Laticínios (PDLAT), pertencente ao Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA), Campus III da UFPB (Bananeiras, Brasil) pela disponibilização do soro de queijo de coalho caprino;

Ao professor Dr. Fabio Santos de Souza pela disponibilidade do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica para a utilização do viscosímetro (FUGILAB, Itália);

A professora Dra. Janeeyre Ferreira Maciel pela disponibilidade do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba (João Pessoa, Brasil).

A professora Dra. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga pela disponibilidade do Laboratório de Técnica Dietética da Universidade Federal da Paraíba (João Pessoa, Brasil).

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste sonho. **Muito obrigada!**

## RESUMO

O desenvolvimento de derivados lácteos funcionais de cabra é uma alternativa viável para agregação de valor ao leite de cabra e popularização de novos alimentos funcionais, considerando a crescente demanda por alimentos com qualidade nutricional, sabor agradável e promotores de bem-estar e saúde. O objetivo deste estudo foi elaborar bebidas lácteas achocolatadas de cabra (F1 a F7) contendo *Bifidobacterium lactis* e avaliar os efeitos do soro de queijo de cabra e do prebiótico Synergy 1® (inulina e oligofrutose) sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais durante 28 dias de armazenamento refrigerado. As bebidas lácteas foram avaliadas imediatamente após a fabricação quanto à proteína, gordura, cinzas e lactose, submetidas às análises físico-químicas (acidez titulável, sólidos totais, pH, sinérese, viscosidade aparente) e microbiológicas, incluindo a viabilidade da *B. lactis*, durante o armazenamento após 1, 7, 14, 21 e 28 dias. Após 14 dias de armazenamento foi determinada a aceitabilidade sensorial. Todas as formulações tiveram uma diminuição do pH concomitante a um aumento na acidez ao longo do armazenamento refrigerado. As bebidas formuladas com menor quantidade de soro (F1 e F3) tiveram uma queda maior no pH a partir de 14 dias de armazenamento. As formulações F3 e F4 (contendo 6 g 100 g<sup>-1</sup> de prebiótico) apresentaram teor de sólidos totais significativamente mais elevados. A viscosidade aparente aumentou até 21 dias em todas as formulações, e para F4 (maiores proporções de soro e de prebióticos - 45 mL 100 mL<sup>-1</sup> e 6 g 100 mL<sup>-1</sup> - respectivamente) este aumento se estendeu até os 28 dias, possivelmente relacionado à influência do soro e da inulina. Durante todo o período estudado *B. lactis* apresentou contagens entre 6 e 8 log UFC mL<sup>-1</sup>, sendo a maior viabilidade observada para a formulação F1 ( $8,13 \pm 0,03$  UFC mL<sup>-1</sup>). A maior mediana nos atributos sabor e aroma foi observada para F4. Aparentemente uma maior quantidade de prebiótico na bebida melhorou a percepção do sabor, o que pode ser uma consequência da intensificação do sabor de cacau e ou da menor percepção da acidez. Já o aumento do soro melhorou a percepção do aroma na bebida láctea. Assim, F4 foi a formulação que melhor representou o perfil de desejabilidade escolhido para a bebida láctea probiótica achocolatada de cabra, como melhor viscosidade e características sensoriais.

**Palavras chaves:** *Bifidobacterium lactis*, inulina, leite de cabra, frutooligossacarídeos, soro de queijo de cabra

## ABSTRACT

The development of functional goat dairy products is a viable alternative to add value to goat milk and to popularize new functional foods, considering the growing demand for foods with high nutritional quality, tasteful and promoters of well-being and health. This study aimed to produce chocolate goat dairy beverages with the probiotic *Bifidobacterium lactis* and evaluate the effects of goat cheese whey and prebiotics (inulin and oligofructose) on the physicochemical parameters and sensory features of the beverages during 28 days of refrigerated storage. Seven formulations of dairy beverages were analyzed for protein, fat, ash and lactose immediately after production, and submitted to physicochemical analysis (titratable acidity, total solids, pH, syneresis, apparent viscosity) and microbiological analysis, including *B. lactis* viability, after 1, 7, 14, 21 and 28 days. Sensory acceptability was determined after 14 days. All formulations had decreased pH and concomitant increase in the acidity during refrigerated storage. Beverages made with the lowest amounts of whey (F1 and F3) had greater decrease in pH from 14 days of storage. The apparent viscosity increased up to 21 days for all formulations, and up to 28 days for F4 (6 g 100 g<sup>-1</sup> prebiotics and 45 mL 100 mL<sup>-1</sup> whey), possibly related to the higher amounts of whey and inulin. *B. lactis* showed counts between 6 and 8 log CFU mL<sup>-1</sup>. F4 presented the highest average in sensory attributes flavor and aroma. Apparently, larger amounts of prebiotics and whey in the beverage enhance the flavor perception, which may be a consequence of the intensification of cocoa flavor and / or lower acidity perception. Thus, F4 was the formulation that best represented the desirability profile chosen for the probiotic chocolate goat dairy beverage as best viscosity and improved sensory features.

**Key words:** *Bifidobacterium lactis*, inulin, goat milk, fructooligosaccharides, goat cheese whey

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1-** Fluxograma do processo de fabricação da bebida láctea. ..... 26

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - Distribuição da produção de leite caprino no Brasil e no Mundo.....	13
<b>Tabela 2</b> - Valores médios (%) de proteína, lactose e gordura dos leites de cabra e vaca. ....	15
<b>Tabela 3</b> - Benefícios nutricionais e para saúde de alimentos funcionais com micro-organismos probióticos.....	20
<b>Tabela 4</b> - Delineamento experimental central composto utilizado para estudo das formulações da bebida láctea.....	27

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO-----</b>	<b>12</b>
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA -----</b>	<b>13</b>
2.1 LEITE DE CABRA -----	13
2.2 SORO DE QUEIJO -----	16
2.3 BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA -----	17
2. 4 ALIMENTOS FUNCIONAIS -----	19
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS -----</b>	<b>25</b>
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO -----	25
3.2 MATÉRIA-PRIMA -----	25
3.3 ELABORAÇÃO DO INÓCULO -----	26
3.4 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS -----	26
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA -----	27
3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS-----	28
3.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS LÁCTEAS-----	29
3.8 AVALIAÇÃO DAS BEBIDAS LÁCTEAS DURANTE O ARMAZENAMENTO-----	29
3.8.1. Determinação das análises físico-químicas -----	29
3.8.2 Análises microbiológicas -----	30
3.8.3 Viabilidade de <i>B. lactis</i> -----	30
3.9 ANÁLISE SENSORIAL -----	31
<b>REFERÊNCIAS -----</b>	<b>32</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO -----</b>	<b>39</b>
<b>ANEXOS -----</b>	<b>60</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de alimentos que promovem bem-estar, saúde e redução do risco de doenças tem se tornado popular entre os consumidores pela introdução de ingredientes fisiologicamente ativos, como, por exemplo, os micro-organismos probióticos e os carboidratos prebióticos. Os produtos lácteos são importantes para a sobrevivência dos probióticos ao suco gástrico, particularmente por seu efeito tamponante e protetor (ROSS et al., 2005). O leite de cabra por sua vez constitui uma importante fonte nutricional por seu elevado valor biológico e alta digestibilidade. Estas características do leite podem ser exploradas a partir da elaboração de diversos derivados, como bebidas lácteas, iogurtes, queijos finos e doces que agregam valor aos derivados lácteos. Dentre os lácteos fermentados, a bebida láctea destaca-se como alternativa ao iogurte, empregando-se na sua fabricação leite ou leite reconstituído e derivados de leite, como o soro de leite resultante da produção de queijos, aproveitando um subproduto nutricionalmente rico e evitando que o seu descarte inadequado provoque importantes problemas ambientais. Assim, a bebida láctea é uma opção viável dos pontos de vista nutricional, econômico e ambiental.

A caprinocultura leiteira revela-se como uma atividade próspera no cenário atual de desenvolvimento econômico mundial e brasileiro, cumprindo um papel socioeconômico importante nas diversas regiões, por gerar renda direta e representar uma excelente fonte alimentar. O aumento do consumo de leite de cabra em todo o mundo contribui para que os derivados caprinos se tornem mais populares e demonstrem sua capacidade de oferecer produtos de alta qualidade sob diversas condições climáticas e a ambientes extremos (SILANIKOVE et al., 2010). Os derivados lácteos de cabra fornecem uma alternativa lucrativa como substitutos dos de vaca, por apresentarem características específicas que lhes conferem um sabor agradável, textura típica mais suave e aparência natural e saudável (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2008).

A adição de ingredientes prebióticos como a inulina e oligossacarídeos aos alimentos está relacionada a efeitos benéficos como a modulação de funções fisiológicas chaves, o aumento na absorção de cálcio, a alteração do metabolismo lipídico, além de possuírem propriedades bifidogênicas sem prejudicar o sabor do produto, e de contribuir para o equilíbrio da microbiota intestinal (ROBERFROID, 2007). Destaca-se também o emprego de bifidobactérias que são probióticos largamente conhecidos, bactérias que não são tolerantes ao ácido e apresentam baixa viabilidade e multiplicação em pH inferior a 4,0 (SAARELA et al. 2011). Estes probióticos podem ser veiculados através de derivados lácteos fermentados,

incluindo leites fermentados, iogurte e bebidas lácteas (CASTRO et al. 2009; CASTRO et al. 2013; RANADHEERA et al. 2013).

Considerando tais aspectos, os objetivos do presente estudo foram elaborar bebidas lácteas achocolatadas de cabra com potencial funcional contendo *Bifidobacterium lactis* e avaliar os efeitos do soro de queijo de cabra e do prebiótico (inulina e oligofrutose) sobre as propriedades físico-químicas e sensoriais ao longo do armazenamento refrigerado.

## **2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 LEITE DE CABRA**

A criação de cabras para a produção de leite é de fundamental importância em diversos países especialmente no Mediterrâneo, Oriente médio, Europa Oriental e América do Sul (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010). A população de cabras no Brasil, ultrapassou 9 milhões em 2011 (FAO, 2013), e cerca de 92% deste rebanho encontra-se na região Nordeste, principalmente na zona semiárida, onde mais recentemente iniciou-se um sistema organizado de aquisição, industrialização e distribuição de leite com os programas institucionais de governos estaduais (COSTA et al., 2009; SILVA et al., 2013).

A produção mundial de leite de cabra decresceu no ano de 2011, atingindo a marca dos 17 bilhões de toneladas produzidos, entretanto a produção aumentou no cenário brasileiro e gerou cerca de 148 milhões de toneladas de leite de cabra, sendo o maior produtor do continente americano. No entanto, a produção média do rebanho brasileiro ainda é muito baixa quando comparada a de países da Europa (*Tabela 1*) (FAO, 2013; SILVA et al., 2013).

**Tabela 1** - Distribuição da produção de leite caprino no Brasil e no Mundo.

<b>Ano</b>	<b>Produção de leite caprino (mil toneladas)</b>		<b>Relação Produção Nacional/Mundial (%)</b>
	<b>Mundial</b>	<b>Brasil</b>	
2008	16.230.565	139.586	0,86
2009	16.478.066	143.768	0,87
2010	17.236.272	148.149	0,86
2011	17.091.225	148.149	0,87

Fonte: FAO, 2013.

Segundo dados do Brasil (2007), o rebanho caprino do Estado da Paraíba ocupa o quinto lugar em relação ao número de cabeças, todavia representa o maior produtor de leite de

cabra do país. Este Estado tem um rebanho caprino leiteiro na ordem de 653.730 animais, com uma produção média de 6.000 litros/dia, produzido por criadores agregados em 22 associações de produtores rurais na região do Cariri paraibano, região esta formada por Municípios com menos de 50 mil habitantes e economia eminentemente agropecuária. Nesse contexto a caprinocultura se destaca como atividade eficiente para o desenvolvimento socioeconômico da região, pela facilidade de adaptação desses animais que produzem proteína a baixo custo nas formas de leite e carne para as populações de média e baixa renda (SILVA et al., 2013).

Assim, estimular a demanda de leite e produtos lácteos caprinos e gerar oportunidades consistentes de agregação de valor a esses produtos são ações com impacto potencial positivo tanto na geração de renda nessa cadeia produtiva quanto na inclusão de pequenos produtores (SANTOS et al., 2008).

Segundo definição do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000), “o leite de cabra é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de cabras sadias, bem alimentadas e descansadas”. Aspectos nutricionais e de saúde podem representar um diferencial importante para os produtos lácteos caprinos no mercado, em função do leite de cabra ser considerado um dos alimentos mais completos por apresentar vários elementos importantes para a nutrição humana, como sua composição química, constituída de proteínas de alto valor biológico e maior digestibilidade, de gordura facilmente digerível, de ácidos graxos essenciais, além, do conteúdo mineral e vitamínico (HAENLEIN, 2004; NAVARRO-ALARCÓN et al., 2011).

O tamanho menor dos glóbulos de gordura no leite de cabra em comparação com os do leite de vaca (o número de glóbulos de gordura menores de 5 $\mu$ m é aproximadamente 60 % no leite de vaca enquanto que no leite de cabra é de aproximadamente 80 %), resulta na textura mais macia e suave dos produtos de leite de cabra (SILANIKOVE et al., 2010).

Além disso, o leite de cabra excede o leite de vaca em ácidos graxos mono e poli-insaturados, que são reconhecidos como benéficos para a saúde humana, especialmente na prevenção de doenças cardiovasculares. Os ácidos graxos linoleico e linolênico e o ácido linoleico conjugado (CLA) possuem efeito cardioprotetor, agindo como antiaterogênico vascular (HAENLEIN, 2004).

Assim como no leite bovino, a lactose é o carboidrato principal do leite caprino. O leite de cabra apresenta conteúdo ligeiramente inferior de lactose quando comparado ao leite de vaca, mas não pode ser considerado como uma solução alimentar para pessoas que sofrem de intolerância à lactose (SILANIKOVE et al., 2010). No entanto, de acordo com Kunz et al.

(2000), o leite caprino possui maiores quantidades de oligossacarídeos derivados da lactose em comparação ao leite bovino, que são benéficos para a nutrição humana devido às suas propriedades prebióticas e anti-infecciosas. Muitos autores têm chamado o leite de cabra de um alimento funcional, devido ao seu valor nutritivo e propriedades de manutenção da saúde, redução dos riscos de doenças crônicas, e modificação de funções fisiológicas de uma forma positiva (CORREIA; CRUZ, 2006).

Dados médios para comparação entre a composição do leite de cabra e de vaca, em relação aos teores de proteína, lactose e gordura, foram adaptados de vários autores e são apresentados na *Tabela 2*.

**Tabela 2** - Valores médios (%) de proteína, lactose e gordura dos leites de cabra e vaca.

COMPOSIÇÃO	Park et al. (2007)	Ceballos et al. (2009)	Sheehan et al. (2009)	Eissa et al. (2011)
<b>GORDURA (%)</b>				
Vaca	3,60	3,42	3,70	3,70
Cabra	3,80	5,23	3,53	4,30
<b>LACTOSE (%)</b>				
Vaca	4,70	4,47	4,57	4,83
Cabra	4,10	4,11	4,28	3,90
<b>PROTEÍNA (%)</b>				
Vaca	3,20	2,82	3,27	3,35
Cabra	3,40	3,48	2,91	4,18

Fonte: Adaptado de Park et al., 2007; Ceballos et al., 2009; Sheehan et al., 2009 e Eissa et al., 2011.

Alférez et al. (2006) afirmam que a inclusão de leite de cabra na dieta pode ajudar na prevenção do desenvolvimento de anemia por deficiência de ferro e que a ingestão de leite de cabra melhora a biodisponibilidade do ferro, aumenta a sua ação digestiva e metabólica e incrementa os depósitos de ferro nos órgãos-alvo, favorecendo a recuperação dos parâmetros hematológicos após a anemia ferropriva. Além disso, o leite de cabra tem em sua composição teores elevados de vitamina A, 1850 a 2264 Unidades Internacionais (UI) de retinol, que ajudam a restituir ou manter os níveis desta vitamina no organismo, evitando-se doenças degenerativas da visão, reprodução, pele e perda de funções orgânicas (LAGUNA, 2003). O leite caprino apresenta concentrações significativamente superiores para cálcio (Ca), magnésio (Mg), potássio (K), cloro (Cl), manganês (Mn), selênio (Se) e menores para sódio (Na) e enxofre (S) em relação ao leite de vaca. Quanto à presença de vitaminas, o leite de

cabra se destaca do leite de vaca pela maior presença das vitaminas A, C, D, tiamina, riboflavina e niacina e teor reduzido de ácido fólico.

## 2.2 SORO DE QUEIJO

Soro de queijo é o líquido remanescente da precipitação e remoção da caseína do leite durante a fabricação dos queijos, podendo ser classificado em dois tipos, doce ou ácido (MAGALHÃES et al., 2010). O soro doce é proveniente da coagulação enzimática do leite, ocasionada pela hidrólise das caseínas por enzimas proteolíticas de origem animal como, por exemplo, a renina, sendo obtido a partir de queijos como Coalho, Andino, Minas, entre outros. O soro ácido provém do processamento de queijos Boursin, Pelardon, entre outros, sendo obtido a partir da coagulação ácida do leite após a transformação da lactose em ácido láctico por ação das bactérias láticas presentes no leite cru ou no fermento lácteo adicionado após a pasteurização (EGITO et al., 2007; PANESAR et al., 2007).

O soro do queijo de leite de cabra apresenta alto teor de cálcio e de peptídeos bioativos com possíveis efeitos hipotensivo, antioxidante e hipocolesterolêmico (HARAGUCHI et al., 2006; KOSSEVA et al., 2009). Segundo Hernández-Ledesma et al. (2011), o soro apresenta ainda uma composição única de proteína de alto valor nutricional, contendo alto teor de aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada - com inúmeras atividades biológicas que influenciam na digestão, respostas metabólicas na absorção de nutrientes, crescimento e desenvolvimento de órgãos específicos, e resistência às doenças - que depende de fatores como o tipo de soro de leite (ácido ou doce), a época do ano, o tipo de alimentação, a fase de lactação e da qualidade de processamento. A concentração total de proteínas no soro de queijo de cabra varia de 3,7 a 7,0 g/100g.

As principais proteínas do soro são  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) (1,8 a 2,8 g/100g) e  $\alpha$ -lactalbumina ( $\alpha$ -La) (0,6 a 1,1 g/100g). Estas podem desempenhar, respectivamente, papéis importantes no metabolismo de absorção de ácido graxos, e na atividade antitumoral. As imunoglobulinas (Igs), albumina de soro (0,26 g/100g) e proteose-peptonas estão presentes em concentrações menores. A lactoferrina (LF) (0,12 g/100g) e caseíno-macropéptideo (CMP) também estão presentes. Componentes como lactose, oligossacarídeos ou minerais também são importantes no soro (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2011).

As características nutricionais como seu alto conteúdo de matéria orgânica tornam o soro de queijo um importante agente poluidor se descartado como efluente no ambiente (SANMARTÍN et al., 2011). Segundo Barbosa et al (2010), em torno de 85% a 95% do

volume total de leite utilizado na fabricação de queijos resulta em soro, ou seja, para se fabricar 1kg de queijo, cerca de 9kg de soro são gerados, e, com isso, uma indústria que processa 1.000 litros de leite/dia gera aproximadamente a mesma quantidade de matéria orgânica no seu esgoto que geraria 550 habitantes de uma cidade.

Atualmente as tecnologias como a ultrafiltração e a secagem por pulverização permitem a separação de diferentes frações de soro de leite (lactose, proteínas do soro - concentrado proteico de soro, lactoalbumina, lactoglobulina), podendo ser comercializados nas indústrias farmacêuticas e de alimentos comprimidos (para mastigar), como suplementos esportivos, na fabricação de queijos e como meio de cultura bacteriana ou de leveduras para produção de biomassa (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010; AGUIRRE-EZKAURIATZA et al., 2010). A indústria de laticínios também tem utilizado o soro na elaboração de bebidas lácteas como uma forma racional de aproveitamento deste produto que é visto também como uma fonte natural de componentes bioativos, com potencial de uso em várias formulações de alimentos funcionais (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2011).

### 2.3 BEBIDA LÁCTEA FERMENTADA

A Instrução Normativa nº 16 de 23/08/2005 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento é a legislação brasileira vigente que traz o regulamento técnico de identidade e qualidade de bebida láctea, e define bebida láctea como “produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos, onde a base láctea representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto”. Neste produto, a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser de no mínimo  $10^6$  UFC/g no produto final para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s) durante todo o prazo de validade (BRASIL, 2005). As bebidas lácteas contêm proteínas, gorduras, lactose, minerais e vitaminas, sendo, devido à sua composição, consideradas nutritivas. Podem também se constituir em alimentos funcionais, promovendo benefícios à saúde (THAMER; PENNA, 2006).

O consumo de bebidas lácteas fermentadas vem crescendo no Brasil, estudos apontam que este mercado chega a quase 50 % do segmento e o maior volume de consumo desta bebida é realizado durante o café da manhã. As bebidas lácteas aparecem na 4ª posição, com

12 % do volume total de consumo diário de líquidos não alcoólicos, e as principais razões de consumo de lácteos pelos brasileiros estão ligadas aos cuidados com a saúde, a gratificação gerada pelo sabor e para acompanhar as refeições ou digestão de alimentos (FIB, 2011).

O lançamento de diversos novos produtos, sabores e embalagens inovadoras, e mais alternativas de bebidas lácteas e de soja entrando no mercado contribuíram para este crescimento. Os fatores primários de expansão global foram conveniência e praticidade, saúde e segurança, novos produtos e inovação da categoria (SBAF, 2012).

A bebida láctea pode ser facilmente produzida e comercializada pelas pequenas fábricas e pela agricultura familiar, não havendo necessidade de grandes gastos com investimentos, aproveitando o soro disponível gerado durante a fabricação de queijos como o coalho (PAULA et al., 2012).

A produção de bebida láctea adicionada de soro de queijo em sua formulação vem elevando sua participação no mercado, por causa do maior nível de informação sobre a importância do cálcio, a qualidade das proteínas, o papel dos componentes bioativos, do custo do produto para o fabricante e do preço final para o consumidor (THAMER; PENNA, 2006). Segundo Pflanzer et al. (2010), constitui-se em uma forma racional e lógica de aproveitamento do soro de queijo para retorno à cadeia humana de forma palatável, sem prejuízo ao meio ambiente. A adição de soro na formulação contribui para que o produto tenha uma melhor coesão em sua estrutura, o que pode ser explicado pelo aumento da capacidade de ligar água de iogurtes ou bebidas lácteas enriquecidas com proteínas do soro, aumentando a viscosidade desses produtos (GAUCHE et al., 2009).

A adição de estabilizantes, tais como gelatina, amidos modificados e polissacarídeos, também é uma prática comum na produção de bebidas lácteas (CIRON et al., 2011). Assim, polissacarídeos como pectina, goma guar, carragena e goma xantana que promovem um aumento de viscosidade e funcionam como estabilizantes coloidais e protetores em alimentos e bebidas tem sido aplicados em iogurtes e similares (CANTERI et al., 2012). Tais substâncias são fundamentais principalmente ao se considerar o uso de leite de cabra como matéria prima destas bebidas, uma vez que o reduzido tamanho dos glóbulos de gordura influencia diretamente na viscosidade final. Contudo, as bebidas lácteas são caracterizadas como fluidos não newtonianos com comportamento tixotrópico (KRISTO et al, 2003). Entre os fatores que influenciam estas propriedades reológicas estão a composição do leite, o conteúdo de matéria seca, a quantidade da cultura usada, a temperatura de incubação e o tempo de armazenamento (PENNA et al., 2003).

Neste contexto, Thamer e Penna (2006) afirmam que o desenvolvimento de uma bebida láctea funcional contendo culturas probióticas e acrescida de prebiótico, é uma alternativa bastante inovadora para o aproveitamento do soro pelas indústrias lácteas, agregando valor, sem a necessidade de grandes investimentos ou de grandes mudanças na rotina de fabricação.

## 2. 4 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais representam uma das principais tendências do mercado de alimentos, em franca expansão, devido à conscientização crescente dos consumidores com relação à alimentação e saúde. Estes alimentos podem ser definidos como semelhantes em aparência ao alimento convencional, consumidos como parte da dieta usual, capazes de produzir efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além das suas funções nutricionais básicas (TERATENAVAT; HOOKER, 2006).

Com a demanda crescente por alimentos saudáveis, a pesquisa e o desenvolvimento de novas categorias de produtos têm sido estimulados na indústria de alimentos de todo o mundo. Nos últimos anos, estes alimentos têm despertado o interesse da comunidade científica e das indústrias de alimentos, aumentando também a aplicação dos micro-organismos probióticos e dos carboidratos prebióticos.

Probióticos são definidos como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO, 2006). Um produto só é considerado probiótico caso apresente uma concentração mínima de micro-organismos capazes de conferir determinado benefício à saúde de quem os consome com regularidade. De acordo com a legislação brasileira, produtos alimentícios que demonstrem conter ao final do seu prazo de validade uma concentração de  $10^8$  a  $10^9$  UFC de bactérias probióticas em uma porção de consumo diário estão autorizados a inserir alegação de propriedade funcional em sua rotulagem. Contudo é necessário que o consumo do produto esteja associado a uma alimentação equilibrada e a hábitos de vida saudáveis (BRASIL, 2008). Alguns dos benefícios nutricionais e para saúde de alimentos funcionais contendo bactérias probióticas já mencionados em literatura estão apresentados na *Tabela 3*.

**Tabela 3** - Benefícios nutricionais e para saúde de alimentos funcionais com micro-organismos probióticos.

EFEITOS BENÉFICOS	POSSÍVEIS CAUSAS E MECANISMOS
Modulação Imunológica	Interação na formação de macrófagos
Anticarcinogênico	Conversão de pré-carcinógenos em compostos inofensivos; ação inibitória de alguns tipos de câncer, em particular os do trato gastrintestinal pela degradação de pré-carcinógenos, redução das enzimas promotoras do câncer e estímulo do sistema imune
Hipocolesterolêmico	Produção de inibidores da síntese do colesterol, uso do colesterol pela assimilação e precipitação com desconjugação de sais biliares, conversão do colesterol em coprostanol
Colonização no intestino	Sobrevivência ao ácido gástrico, resistência à lisozima e baixa tensão superficial do intestino, aderência à mucosa, multiplicação no trato intestinal, modulação do sistema imunológico
Melhor digestibilidade/valor nutricional	Quebra parcial de proteínas; gorduras e carboidratos; elevação dos níveis de vitamina B e certos aminoácidos como metionina, lisina e triptofano; conversão de bilirrubina em urobilina; síntese de vitamina K
Ação antagônica aos patógenos entéricos	Ação contra desordens como diarreia, colites, úlceras, diverticulite e colites antibióticas controladas pela acidificação; produção de inibidores microbianos e prevenção da adesão patogênica; competição por sítios de adesão; competição por nutrientes; produção de um ambiente fisiologicamente restritivo; produção de substâncias antimicrobianas
Melhor utilização da lactose	Reduz a lactose no produto e disponibiliza a lactase

Fonte: Adaptado de GOMES; MALCATA (1999) e BRANDT et al. (2006).

A indústria de alimentos, especialmente o setor de laticínios, tem adicionado culturas probióticas para conferir propriedades funcionais aos seus produtos. Leites fermentados e iogurtes contendo probióticos são os principais produtos comercializados no mundo com alegação de promover a saúde, mas há também sobremesas a base de leite, leite em pó destinado a recém-nascidos, sorvetes, manteiga, maionese, diversos tipos de queijos, produtos em cápsulas ou em pó para serem dissolvidos em bebidas frias e alimentos de origem vegetal fermentados (SAAD, 2006). As bactérias com ação probiótica pertencem em sua maioria a dois gêneros que são os *Lactobacillus* e as *Bifidobacterium*, normalmente encontrados no intestino delgado e grosso de pessoas saudáveis, respectivamente. Entretanto deve ser salientado que o efeito de uma bactéria é específico para cada cepa, não podendo ser extrapolado, inclusive para outras cepas da mesma espécie (GUARNER; MALAGELADA, 2003).

As bifidobactérias são heterofermentativas, produzem principalmente ácido acético e lático na proporção de 3:2 a partir de carboidratos, não formam gás carbônico, exceto durante a degradação do gluconato, e são capazes de utilizar a glicose, a galactose, a lactose e a frutose como fontes de carbono. Multiplicam-se em temperatura ótima de 37 - 41°C, com pH ótimo de 6 a 7. Abaixo de 4,5 e acima de 8,5, bem com a 45 °C, não há multiplicação, sendo destruídas a 60 °C (GOMES; MALCATA, 1999). As bifidobactérias fermentam seletivamente os carboidratos prebióticos do tipo frutano, preferencialmente a outras fontes de carboidratos (ROBERFROID, 2007).

A produção de ácido lático por bifidobactérias parece ter um papel significativo na manutenção da colonização por vários mecanismos (GIBSON et al., 2005). As bifidobactérias também são capazes de produzir vitaminas B1, B2, B6, B12, ácidos nicotínico e fólico (SAARELA et al., 2000). Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Bifidobacterium*, destacam-se devido ao potencial probiótico *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. longum* e *B. thermophilum* (SAAD, 2006).

Bottacini et al. (2011) ao estudar a estrutura do genoma de *B. animalis* subsp. *lactis* BLC1 concluiu que a estrutura é altamente sintética com a do genoma sequenciado recentemente de *B. animalis* subsp. *lactis* BB12. *B. lactis* são resistentes a um pH baixo e a concentrações elevadas de sais biliares, sendo bem adaptadas para sobreviver em grande quantidade durante o processo de fabricação e de armazenagem até ao consumo, permitindo desta forma a sua utilização como culturas comerciais pela indústria alimentar, especialmente na produção de leites fermentados (GUEIMONDE et al., 2004). Devido a isto, o desenvolvimento de produtos lácteos fermentados incorporando bactérias probióticas como as bifidobactérias cresceu muito na última décadas (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Contudo, apesar da prática comum na produção de iogurte funcional com probióticos de se utilizar cultura mista contendo *Streptococcus. thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii*. subsp. *bulgaricus* e *Bifidobacterium* spp., alternativamente, *Bifidobacterium* spp. pode ser multiplicada separadamente antes da incorporação no iogurte para assegurar um nível desejável desta cultura probiótica no produto final (KAILASAPATHY; RYBKA, 1997). Modler (1993) descreve que o procedimento ideal para a incorporação do probiótico seria a multiplicação de *Bifidobacterium* spp. separadamente, seguido pelo enxágue dos metabólitos e transferência das células para o iogurte. O consumo de iogurte que contém bifidobactérias, além de diminuir a quantidade de substâncias putrefatativas presentes nas fezes (tais como amônia), melhora o trânsito intestinal pelo aumento de volume da biomassa intestinal (SAAD, 2006).

Gibson et al. (2004) propõem que "prebiótico é um ingrediente seletivamente fermentado que permite alterações específicas, tanto na composição e/ou atividade na microbiota gastrintestinal, conferindo benefícios ao bem-estar e à saúde do hospedeiro". Uma substância (ou grupo de substâncias), para ser considerada prebiótica, deve atender aos seguintes requisitos: ser de origem vegetal; fazer parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas; ser fermentável por bactérias benéficas, como bifidobactérias e lactobacilos (probióticos); ser osmoticamente ativa; ser resistente ao processo digestivo (acidez gástrica, hidrólise enzimática e absorção gastrintestinal); e ser benéfica à saúde do hospedeiro (RENHE et al., 2008; WANG, 2009; AIDA et al., 2009).

As substâncias prebióticas agem alimentando e estimulando a multiplicação de diversas bactérias intestinais benéficas, cujos metabólitos atuam diminuindo o pH mediante o aumento da quantidade de ácidos orgânicos presentes no ceco. Por outro lado, atuam bloqueando os sítios de aderência (principalmente a D-manose), imobilizando e reduzindo a capacidade de fixação de algumas bactérias patogênicas na mucosa intestinal. Estudos mencionam que os oligossacarídeos podem atuar, também, estimulando o sistema imune, mediante a diminuição indireta da translocação intestinal por patógenos, que desencadeariam infecções após atingir a corrente sanguínea (MAKRAS et al., 2005; SHOAF et al., 2006; HAFER et al., 2007).

Diversos estudos experimentais mostraram a aplicação da inulina e da oligofrutose como fatores bifidogênicos, ou seja, estimulam a predominância de bifidobactérias no cólon. Consequentemente, há estímulo do sistema imunológico do hospedeiro, redução nos níveis de bactérias patogênicas no intestino - a inulina é capaz de restringir a multiplicação de bactérias patogênicas potenciais, tais como *Escherichia coli* e *Salmonella* (LATTIMER; HAUB, 2010) -; alívio da constipação; redução do risco de arteriosclerose através da diminuição na síntese de triacilgliceróis e ácidos graxos no fígado e diminuição do nível desses compostos no sangue em virtude do baixo valor de energia não digerível (menor que 9 kJ/g) (SAAD, 2006).

A inulina é uma fibra solúvel, fermentável e não digerível pela α-amilase e por enzimas hidrolíticas, como a sacarase, a maltase e a isomaltase, no trato gastrintestinal (SAAD, 2006). Pertence ao grupo dos frutanos, e é um polímero linear de D-frutose com ligações glicosídicas β (2→1), com grau de polimerização de 11 a 60 monômeros. Quando o número de unidades de monossacarídeos varia entre 2 e 8, e estes são produzidos por hidrólise enzimática parcial da inulina, chama-se fruto-oligossacarídeos (FOS). A alta especificidade dos FOS bem como da inulina como substratos para bifidobactérias resulta da atividade das enzimas β - frutosidases (inulinases) associadas a células específicas, as quais hidrolisam

monômeros de frutose da extremidade não-redutora da cadeia de inulina ou de determinados açúcares em que o resíduo de frutose ocorre na posição (2→1). Essas hidrolases são produzidas por alguns bolores e leveduras e só esporadicamente por bactérias (FORTES, 2006; SAAD, 2006; CATALDO et al., 2007).

Como prebióticos, a maior parte dos efeitos da inulina e dos FOS se processa essencialmente pela modificação benéfica da microbiota endógena intestinal, interferindo na sua composição, nas funções da mucosa, nas atividades das glândulas endócrinas e a absorção de minerais (ROBERFROID, 2007; LATTIMER; HAUB, 2010). A degradação da inulina por ação de bactérias benéficas produz os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) que possibilitam vários benefícios à saúde como: diminuição do pH luminal; diminuição do número de patógenos; aumento da absorção mineral; absorção adequada de água e sódio; prevenção de colite (inflamação do cólon); prevenção da diferenciação celular (de células normais a células tumorais); estímulo na proliferação celular da mucosa; e auxílio na circulação sanguínea da mucosa (beneficiando a nutrição celular) (NAIR et al., 2010).

A composição da microbiota intestinal pode ser modificada através da introdução de prebióticos na dieta, sendo os mais estudados e utilizados comercialmente a inulina, os FOS e os galactooligossacarídeos (GOS). Estes glicosídeos ligados por ligações  $\beta$  são resistentes à digestão por enzimas secretadas pelo hospedeiro no intestino delgado e atingem o cólon intactos. Tornam-se, então, disponíveis para a microbiota do cólon preparada para metabolizar estes oligossacarídeos específicos (DAVIS et al., 2010). A garantia de estímulo da multiplicação de bifidobactérias no cólon pode ser assegurada com doses diárias de 4 a 5g de inulina e/ou oligofructose (SAAD, 2006). Quando fermentada, a inulina tende a favorecer a produção de propionato que, por sua vez, reduz a relação acetato/propionato, conduzindo a uma diminuição do colesterol sérico total e de LDL (lipoproteínas de baixa densidade), que são fatores de risco importantes para as doenças cardiovasculares (LATTIMER; HAUB, 2010).

As propriedades químicas da inulina e FOS variam com o comprimento da cadeia dos polímeros. Moléculas pequenas, com 3 a 6 monômeros, são usadas como adoçantes de baixo valor energético e de 6 a 60 monômeros são usadas como substitutos de gorduras em preparações alimentares como sorvete (RENHE et al., 2008; NAIR et al., 2010). A inulina de cadeia longa apresenta maior estabilidade térmica, é menos solúvel e mais viscosa que a inulina de cadeia curta e tem sido utilizada em diversos produtos lácteos (BAYARRI et al., 2010; ERTEKIN; GUZEL-SEYDIM, 2010).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) permite alegação de funcionalidade desde que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 3g de inulina ou FOS se o alimento for sólido, ou 1,5 g se o alimento for líquido (BRASIL, 2008).

Neste contexto estudos envolvendo bebidas lácteas prebióticas estão em grande expansão, contudo, bebidas lácteas de cabra ainda são pouco estudadas.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO**

A elaboração das bebidas lácteas fermentadas foi desenvolvida no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba - UFPB. As análises físico-químicas e de sinérese, microbiológicas e sensoriais foram realizadas nos laboratórios de Bioquímica de Alimentos, Microbiologia de Alimentos e de Análise Sensorial, todos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Tecnologia da UFPB. A análise de viscosidade foi realizada no Laboratório da Farmácia-Escola do Centro de Ciências da Saúde da UFPB.

#### **3.2 MATÉRIA-PRIMA**

Os ingredientes utilizados nas formulações das bebidas lácteas estão listados abaixo:

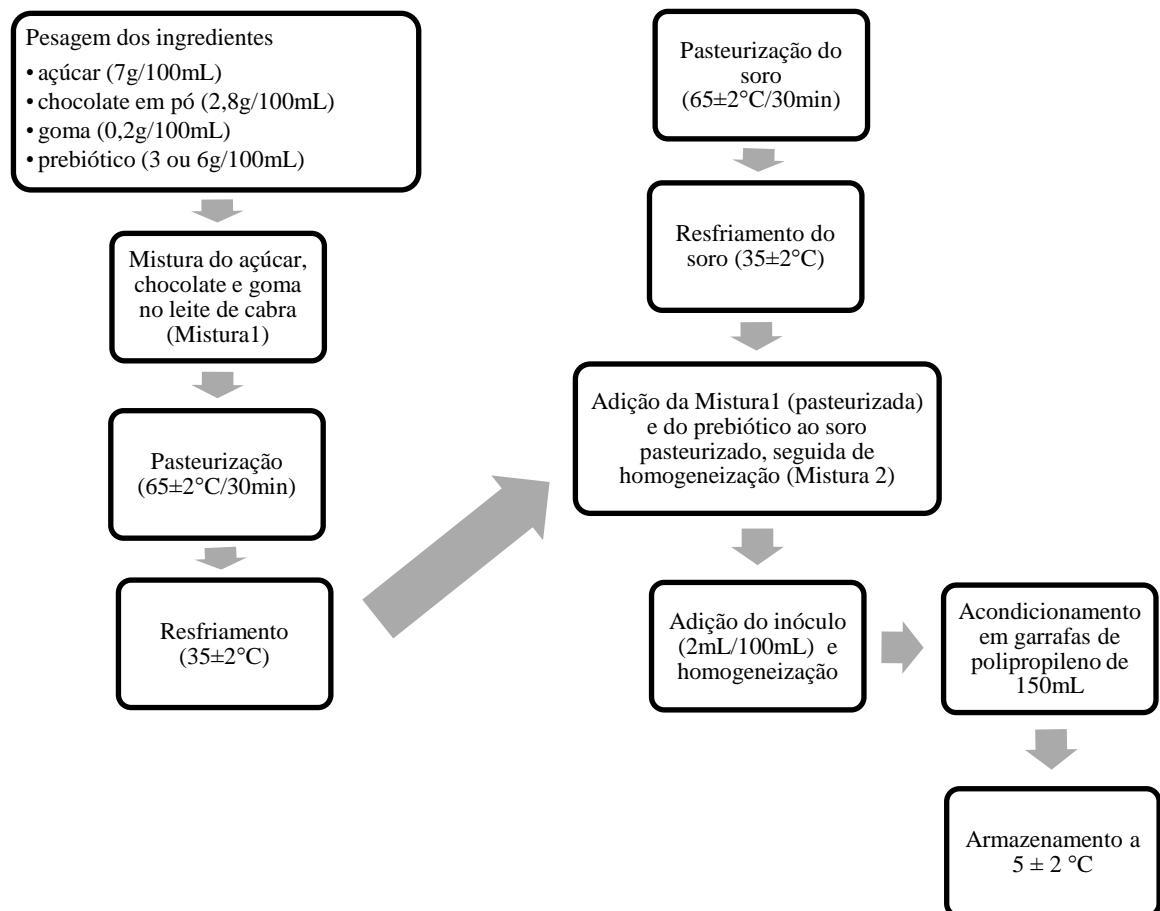
- a. Leite de cabra UHT (Lote C046615A) (CCA Laticínios, Castro, Paraná, Brasil).
- b. O soro de queijo de cabra foi obtido da produção de queijos tipo coalho por coagulação enzimática, no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Produtos Laticínios (PDLAT), pertencente ao Centro de Ciências Humanas Sociais e Agrárias (CCHSA), Campus III da UFPB, localizado no município de Bananeiras – PB. O soro foi envasado em embalagens plásticas, congelado e acondicionado em isopor com gelo reciclável e transportado para o laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFPB na cidade de João Pessoa.
- c. Sacarose – açúcar refinado comercialmente distribuído (União, Sertãozinho, São Paulo, Brasil) (Lote 5063).
- d. Cultura probiótica - *Bifidobacterium lactis* (BLC 1) (Sacco Group, Cadorago, Itália), liofilizada do tipo DVS (“direct vat set”) (Lote C046615A).
- e. Chocolate em pó solúvel, comercialmente distribuído (Nestlé, São Paulo, São Paulo, Brasil) (Lote 31411216).
- f. Ingrediente prebiótico Synergy1® (mistura de inulina e oligofrutose) contendo cerca de 6 a 10% de outros carboidratos (glucose, frutose, sacarose) (Beneo – Orafti, Oreye, Belgium) (Lote YAECX1DCX1).
- g. Mistura de gomas xantana, carboximetilcelulose de sódio e carragena (Genkorlac CM 130) (Genkor Ingredientes, Itupeva, São Paulo, Brasil) (Lote 13030077-AP).

### 3.3 ELABORAÇÃO DO INÓCULO

O preparo do inóculo, adaptado de Modler (1993), consistiu na pesagem e diluição de 1g da cultura de *B. lactis* liofilizada para cada 100 mL de leite de cabra UHT, incubação em erlenmeyer de 150 mL vedado com algodão e gase estéril, por 12h na temperatura de 35 °C, sendo em seguida adicionado às formulações da bebida láctea.

### 3.4 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DAS BEBIDAS LÁCTEAS FERMENTADAS

De acordo com estudos preliminares e com base na legislação brasileira para bebidas lácteas (BRASIL, 2005), as bebidas lácteas deste estudo foram desenvolvidas conforme apresentado na *Figura 1*.



**Figura 1-** Fluxograma do processo de fabricação da bebida láctea.

### 3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O estudo foi desenvolvido através de ensaios com diferentes proporções de prebiótico - Synergy 1® (oligofrutose e inulina) e de soro de leite de cabra, na formulação da bebida láctea obtida a partir dos resultados dos ensaios prévios. Foi utilizado um delineamento experimental central composto (um ponto central e dois fatores) para a obtenção de um modelo que representasse os efeitos das duas variáveis independentes analisadas, conforme a *Tabela 4*.

**Tabela 4** - Delineamento experimental central composto utilizado para estudo das formulações da bebida láctea

Formulações	Variáveis independentes codificadas		Variáveis independentes decodificadas	
	Soro	Prebiótico	Soro (g/100g)	Prebiótico (g/100g)
1	-1	-1	15	0
2	1	-1	45	0
3	-1	1	15	6
4	1	1	45	6
5	0	0	30	3
6	0	0	30	3
7	0	0	30	3

A análise dos resíduos, o coeficiente de determinação ( $R^2$  ajustado) e a falta de ajuste foram utilizados para verificar a adequação do modelo. A equação polinomial canônica de Scheffé foi usada para avaliar o efeito do ingrediente prebiótico e do soro sobre as seguintes variáveis-dependentes, selecionadas dentre os diversos parâmetros analisados: viabilidade da bactéria probiótica *B. lactis*, viscosidade aparente, pH e teor de sólidos totais, aos 14 dias de armazenamento, para as formulações F1 a F7, admitindo um modelo linear para explicar os resultados, conforme segue:

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_{12}, \text{ onde:}$$

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_{12}$ : coeficientes da regressão

$x_1, x_2, x_{12}$ : variáveis independentes soro, prebióticos e interação do soro com o prebiótico, respectivamente

$\hat{y}$ : resposta determinada no produto

Os coeficientes de regressão da equação polinomial canônica de Scheffé do modelo ajustado foram utilizados para avaliar os efeitos do prebiótico e do soro sobre as variáveis - dependentes, aos 14 dias de armazenamento, para as formulações F1 a F7. Os resultados foram apresentados graficamente e as variáveis dependentes foram utilizadas para o cálculo das desejabilidades individuais e global associadas com cada resposta e com todo o sistema, respectivamente. As variáveis-respostas foram expressas como média [desvio padrão], após avaliação da normalidade (teste de Shapiro-Wilks com  $p < 0,05$ ). A homogeneidade das variâncias foi previamente analisada através do teste de Levene e parâmetros com desvios significativos foram submetidos aos respectivos testes não-paramétricos. Os resultados quantitativos obtidos para as demais variáveis-respostas foram avaliados estatisticamente pela análise de variância ANOVA e a comparação das médias foi feita pelo teste de Tukey com  $p < 0,05$ . A análise sensorial foi expressa pela mediana [quartil 25 % - quartil 75 %] e com comparação de mediana realizada pelo teste de Mann-Whitney U com  $p < 0,05$ . O software utilizado foi o STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., USA).

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

O soro e leite caprinos foram analisados quanto às características físico-químicas e microbiológicas. Na avaliação físico-química foram determinados, em triplicata, os parâmetros de sólidos totais (990.19), proteínas (939,02), lactose (923.09), cinzas (930.30), gordura (2000.18), acidez em ácido lático (947.05) e pH, conforme metodologia recomendada pela *AOAC international* (AOAC, 2005). A determinação dos parâmetros microbiológicos seguiu metodologia recomendada pela *American Public Health Association* (APHA, 2001) sendo submetidas à determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (NMP/mL) e termololerantes (NMP/mL), contagem total de bactérias aeróbias mesófilas (Unidades Formadoras de Colônias por mL - UFC/mL), detecção de *Salmonella* spp., contagem de *Staphylococcus aureus* (UFC/mL) e contagem de bolores e leveduras (UFC/mL).

### 3.7 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DAS BEBIDAS LÁCTEAS

As bebidas lácteas elaboradas foram submetidas às análises de sólidos totais, procedendo-se secagem de 5 g da amostra em estufa (Fanem 3155E, São Paulo, Brasil) a 105 °C por 12h até obtenção de peso constante; teor de proteínas, seguindo-se o método Micro-Kjedahl; lactose, pelo método de Fehling; cinzas, por incineração em mufla (Quimis, São Paulo, Brasil) a 550 °C utilizando-se a amostra seca (já utilizada para a análise de sólidos totais). Todas as análises foram realizadas em triplicata segundo recomendação da *AOAC International* (2005).

### 3.8 AVALIAÇÃO DAS BEBIDAS LÁCTEAS DURANTE O ARMAZENAMENTO

Toda as formulações das bebidas lácteas foram armazenadas sob refrigeração (5 °C) e avaliadas nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias, quanto às análises físico-químicas (pH, acidez titulável, sólidos totais, viscosidade aparente e sinérese) e microbiológicas (coliformes totais e termotolerantes – NMP/mL, contagem de bolores e leveduras - UFC/mL e viabilidade de *B. lactis*). A detecção de *Salmonella* ssp e contagem de *Staphylococcus aureus* (UFC mL<sup>-1</sup>) foram realizadas apenas após 7 dias de armazenamento refrigerado para assegurar a qualidade sanitária do produto. Análise Sensorial (teste de aceitação) foi realizada no tempo de 14 dias.

#### 3.8.1. Determinação das análises físico-químicas

A determinação do pH foi realizada em potenciômetro digital modelo Q488AS (Quimis, Brasil) aferido com as soluções tampões pH 4,0 e 7,0. A acidez titulável foi determinada por titulometria com solução de NaOH 0,1 Mol/L, utilizando-se como indicador a fenolftaleína, sendo os resultados expressos em porcentagem de ácido lático presente na amostra. O teor de sólidos totais foi determinado procedendo-se secagem de 5 g da amostra em estufa a 105 °C por 12h até obtenção de peso constante. Todas as análises foram realizadas em triplicata segundo metodologia recomendada pela *AOAC International* (2005). A sinérese foi realizada com base no método da centrifugação utilizado por Gauche et al. (2009), em que 10 g de amostra a 8 ± 1 °C foram centrifugadas sob refrigeração a 417 x g por 10 minutos, onde foi utilizada uma centrifuga refrigerada modelo CT - 5000R (Cientec, São Paulo, Brasil). Nesta análise, o soro separado foi coletado e o resultado foi expresso em porcentagem, dividindo-se a massa de soro separada pela massa inicial da amostra e

multiplicando-se por 100. Para as medidas de viscosidade aparente foi utilizado o viscosímetro FUNGILAB BASIC PLUS tipo *Brookfield* (FUNGILAB, Itália). As análises foram realizadas à temperatura de  $5 \pm 1^\circ\text{C}$  com velocidade de rotação de 60 rpm, utilizou-se o *spindle L2*. Os resultados foram obtidos em milipascal-segundo (mPa s).

### **3.8.2 Análises microbiológicas**

A determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes foi realizada com a inoculação de alíquotas das amostras (10, 1 e 0,1 mL) em três séries de três tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% e calco EC, respectivamente, e tubos de fermentação (Durham), seguida de incubação a  $35^\circ\text{C}$  por 24 a 48 horas e a  $45^\circ\text{C}$  por 24 horas, respectivamente. Após incubação, foi observado se houve turvação e produção de gás e estimado o NMP com uso da tabela de Henkins. A contagem de bolores e leveduras baseou-se na semeadura da amostra e de suas diluições em ágar batata dextrose (PDA) adicionado de cloranfenicol (100 mg/L), seguido de incubação em temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por 5 dias, na qual os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL). A determinação dos parâmetros microbiológicos seguiu a metodologia recomendada pela *American Public Health Association* (APHA, 2001).

### **3.8.3 Viabilidade de *B. lactis***

A viabilidade de *B. lactis* nas bebidas lácteas foi determinada a partir de porções de 25 mL de amostra colhidas assepticamente, diluídas em 225 mL de água peptonada (diluição  $10^{-1}$ ) e submetidas a diluições decimais seriadas com o mesmo diluente. *B. lactis* foi enumerada utilizando semeadura em profundidade em ágar DeMan-Rogosa-Sharpe (MRS Agar, Himedia, Índia) acrescido de propionato de sódio (0,3% m/v), cloreto de lítio (0,2% m/v) e L-cisteína HCL (0,05% m/v), e em anaerobiose a  $37^\circ\text{C}$  (Anaerobac sistema anaeróbio, PROBAC, Santa Cecília, SP) por 72 horas conforme descrito por Vinderola e Reinheimer (1999). Os resultados foram expressos em logaritmo de unidades formadoras de colônias por mL de produto ( $\log \text{UFC mL}^{-1}$ ).

### 3.9 ANÁLISE SENSORIAL

Este estudo foi submetido à avaliação e apreciação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba e aprovado sob o número do Protocolo 440.040/2013 e do Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE): 17196513.3.0000.5188, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) (ANEXO A).

Conforme recomendações de Meilgaard et al. (2007), o teste de aceitação foi conduzido com 50 avaliadores não treinados e amostras de 50 mL recém removidas da refrigeração, devidamente codificadas, que foram apresentadas aleatoriamente em cabines individuais, servidas em copos de plástico descartáveis, acompanhadas da ficha de avaliação sensorial (ANEXOS B e C). O teste foi realizado após 14 dias de armazenamento refrigerado da bebida láctea. Cada avaliador testou no máximo duas amostras de diferentes formulações de forma monádica. Os avaliadores avaliaram as amostras quanto ao sabor, cor, aroma e textura, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (9 = gostei muitíssimo; 5 = nem gostei e nem desgostei; 1 = desgostei muitíssimo). Para anular sabores residuais foram oferecidos aos avaliadores, nos intervalos de cada prova, biscoitos de água e sal e água.

## REFERÊNCIAS

- AGUIRRE-EZKAURIATZA, E. J.; AGUILAR-YÁÑEZ, J. M.; RAMÍREZ-MEDRANO, A.; ALVAREZ, M. M. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 2837-2844, 2010.
- AIDA, F.M.N.A.; SHUHAIMI, M.; YAZID, M.; MAARUF, A.G. Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. **Trends in Food Science & Technology**, Maryland Heights, v. 20, p. 567-575, 2009.
- ALFÉREZ, M. J. M.; LÓPEZ-ALIAGA, I.; NESTARES, T.; DÍAZ-CASTRO, J.; BARRIONUEVO, M.; ROS, P. B.; CAMPOS, M. S. Dietary goat milk improves iron bioavailability in rats with induced feropenic anaemia in comparison with cow milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 813-821, 2006.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. AOAC Intl., Gaithersburg, MD, 2005.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 th ed. Chapter 7, p. 63-67, Washington, 2001.
- BARBOSA, A. S.; FLORENTINO, E. R.; FLORÊNCIO, I. M.; ARAÚJO, A. S. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v. 5, n. 1, p. 07-25, 2010.
- BAYARRI, S. CHULIÁ, I.; COSTELL, E. Comparing  $\lambda$ -carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. Rheological and sensory aspects. **Food Hydrocol**, Wrexham, v. 24, n. 6/7, p. 578-587, 2010.
- BRANDT, K. G.; SAMPAIO, M. M. S.; MIUKI, C. J. Importância da microflora intestinal. **Revista de Pediatria**, v. 28, n. 2, p. 117-127, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Instrução Normativa nº 37**, de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da União**, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 16**, de 23 de agosto de 2005. Regulamento de Identidade e Qualidade de Bebidas Lácteas. Brasília: **Diário Oficial da União**, 2005.
- BRASIL. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo agropecuário: banco de dados, 2007. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/>>. Acesso em 14 Nov. 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probiótico. **Diário Oficial da União**, 2008.

- BOTTACINI, F.; DAL BELLO, F.; TURRONI, F.; MILANI, C.; DURANTI, S.; FORONI, E.; VIAPPIANI, A.; STRATI, F.; MORA, D.; SINDEREN, F.; VENTURA, M. Complete Genome Sequence of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1. **Journal of bacteriology**, v. 193, n. 221, p. 6387–6388, 2011.
- CANTERI, M. H. G.; MORENO, L.; WOSIACKI, G. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.
- CASTRO, W. F.; CRUZ, A.G.; BISINOTTO,M. S.; GUERREIRO, L.M. R.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Development of probiotic dairy beverages: Rheological properties and application of mathematical models in sensory evaluation. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 16–25, 2013.
- CASTRO, F. P. DE; CUNHA, T. M.; OGLIARI, P. J.; TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C.; PRUDÊNCIO, E. S. Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, n. 5, p. 993–997, 2009.
- CATALDO, L. F., SILVA, C. A., MENDES, M. F., NOGUEIRA, R. I., FREITAS S.P. Extração de inulina a partir da raiz de chicória (*Chicorium intybus*) usando dióxido de carbono supercrítico. **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. v. 31, p. 1-6, 2007.
- CEBALLOS, L.; MORALES, Z.; ADARVE, G.; CASTRO, J.; MARTINEZ, L.; SAMPELAYO, M. Composition of goat and cow milk produced under similar condition and analyzed by identical methodology. **Journal Food Composition Analysis**, v.22, p.322-329, 2009.
- CIRON, C. I. E.; GEE, V. L.; KELLY, A. L.; AUTY, M. A.E. Effect of microfluidization of heat-treated milk on rheology and sensory properties of reduced fat yoghurt. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1470-1476, 2011.
- CORREIA, R. T. P.; CRUZ, V. M. F. Leite de cabra e derivados [s.l.]: ACOSC – Associação dos Criadores de Ovinos e Caprinos do Sertão do Cabugi, 2006. **Bulletin da ACOSC**.
- COSTA, R.G.; QUEIROGA, R. C. R. E.; PEREIRA, R. A. G. Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.307-321(suplemento especial), 2009.
- DAVIS, L. M. G.; MARTÍNEZ, I.; WALTER, J.; HUTKINS, R. A dose dependent impact of prebiotic galactooligosaccharides on the intestinal microbiota of healthy adults. **International Journal of Food Microbiology**, v.144, p.285–292, 2010.
- EGITO, A. S.; BENEVIDES, S. D.;LAGUNA, L. E.; SANTOS, K. O. Processamento de Ricota a partir do Soro de Queijos de Cabra. Sobral: Embrapa Caprinos, 2007. **Comunicado Técnico, 82**.
- EISSA, E. A.; BABIKER, E. E.; YAGOUB, A. E. A. Physicochemical, microbiological and sensory properties of Sudanese yoghurt (zabadi) made from goat's milk. **Animal Production Science**, v. 51, p. 53-59, 2011.

ERTEKIN, B.; GUZEL-SEYDIM, Z.B. Effect of fat replacers on kefir quality. **Journal of the Science Food and Agriculture**, Essex, v. 90, n. 4, p. 543-548, 2010.

FAO. Food and Agricultural Organization. **Faostat**. Disponível em: <[http://www.fao.org/waicent/portal/statistics\\_en.asp](http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp)> Acesso em 14 Nov. 2013.

FAO/WHO. **Probiotics in food:** health ... Probiotics in Food. Rome: FAO; World Health Organization, 2006. 56 p. (FAO. Food and Nutrition Paper, 85). Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512e/a0512e00.pdf>> Acesso em 15 Abr. 2013.

FIB - Revista Food Ingredients Brasil. **Bebidas lácteas são consumidas por quase metade dos brasileiros**. Editora Márcia Fani, Barueri-SP, n.16, 2011. Disponível em <<http://www.revista-fi.com/materias/162.pdf>> Acessado em 13 dez. 2013.

FORTES, R. C. Alimentos prebióticos: efeitos bifidogênicos dos frutooligossacarídeos e da inulina no organismo humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Farmácia**, São Paulo, v. 2, n. 9, p. 16-23, 2006.

GAUCHE, C.; TOMAZI, T.; BARRETO, P. L. M.; OGLIARI, P. J.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. **LWT - Food and Science Technology**, v. 42, p. 239-243, 2009.

GIBSON, G. R., McCARTNEY, A. L., RASTALL, R. A. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 93, p. 31S-40S, 2005.

GIBSON, G. R.; PROBERT, H. M.; VAN LOO, J. A. E.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research**, v. 17, p. 257-9, 2004.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. *Bidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, p. 139-157, 1999.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, London, v.360, p.512-518, 2003.

GUEIMONDE, M.; DELGADO, S.; MAYO, B.; RUAS-MADIEDO, P.; MARGOLLES, A.; DE LOS REYES- GAVILIN, C.G., Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. **Food Research International**, v. 37, p. 839-850, 2004.

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

HAFER, A.; KRÄMER, S.; DUNCKER, S.; KRÜGER, M.; MANNS, M. P.; BISCHOFF, S. C. Effect of oral lactulose on clinical and immunohistochemical parameters in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. **BioMed Central Gastroenterology**, London, v. 7, n. 36, p. 1-11, 2007.

HARAGUCHI, F.K.; ABREU, W.C. de; DE PAULA, H. Proteínas do soro de leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações ao esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

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

KAILASAPATHY, K.; RYBKA, S. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. their therapeutic potential and survival in yogurt. **The Australian Journal of Dairy Technology**. v. 52, p. 28-35, 1997.

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

KRISTO, E., BILIADERISB, C.G., TZANETAKIS, N. Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 83. p. 437–446. 2003.

KUNZ, C.; RUDLOFF, S.; BAIER, W.; KLEIN, N.; STROBEL, S. Oligosaccharides in human milk: Structural, functional and metabolic aspects. **Annual Review in Nutrition**, v. 20, p. 699-722, 2000.

LAGUNA, L. E. O leite de cabra como alimento funcional. 2003. Disponível em: <[http://www.capritec.com.br/artigos\\_embrapa030609a.htm](http://www.capritec.com.br/artigos_embrapa030609a.htm)>. Acesso em 02 Dez. 2013.

LATTIMER, J.M.; HAUB, M.D. effects of dietary fiber and its components on metabolic health. **Nutrients**, Basel, v. 2, p. 1266-1289, 2010.

MAGALHÃES, K. T.; PEREIRA, M. A.; NICOLAU, A.; DRAGONE, G.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA J. A.; SILVA, J. B. de A.; SCHWAN, R. F. Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 8843-8850, 2010.

MAKRAS, L.; ACKER, G. V.; VUYST, L. D. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 11, p. 6531–6537, 2005.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation tecniques** (4. ed.). Boca Raton: CRC Press, 2007.

MODLER, H. W. Bifidogenic factors sources, metabolism and applications. **International Dairy Journal**, v. 4, n. 5, p. 383-407, 1994.

NAIR, K.K.; KHARB, S.; THOMPKINSON, D K. Inulin dietary fiber with functional and health attributes—a review inulin dietary fiber with functional and health attributes. **Food Reviews International**, London, v. 26, n. 2, p. 189-203, 2010.

NAVARRO-ALARCÓN, M.; CABRERA-VIQUE, C.; RUIZ-LÓPEZ, M. D.; OLALLA, M.; ARTACHO, R.; GIMÉNEZ, R.; QUINTANA, V.; BERGILLOS, T. Levels of Se, Zn, Mg

and Ca in commercial goat and cow milk fermented products: Relationship with their chemical composition and probiotic starter culture. **Food Chemistry**, v.129, p. 1126-1131, 2011.

PANESAR, P. S.; KENNEDY, J. F.; GANDHI, D. N.; BUNKO, K. Bioutilisation of whey for lactic acid production. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1-14, 2007.

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

PAULA, J. C. J., ALMEIDA, F. A. , PINTO, M. S., RODRIGUES, T. F., SOBRAL, D., MACHADO, G. M.. Aproveitamento de soro de queijo de coalho na elaboração de bebida láctea fermentada. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 67, n. 388, p. 25-33, 2012.

PENNA, A. L. B.; OLIVEIRA, M. N.; TAMINE, A. Influence of carrageenan and total solids content on the rheological properties quality of lactic beverage made with yogurt and whey. **Journal of Texture Studies**, v. 34, n. 1, p. 95-113, 2003.

PFLANZER, S.B.; CRUZ, A.G.; HATANAKA, C.L.; MAMEDE, P.L.; CADENA, R.; FARIA, J.A.F.; SILVA, M.A.A.P. Perfil sensorial e aceitação de bebida láctea achocolatada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n. 2, p. 391-398, 2010.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS,M. C.; BAINES, S. K. Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1411–1418, 2013.

RAYNAL-LJUTOVAC, K.; LAGRIFFOUL, G.; PACCARD, P.; GUILLET, I.; CHILLIARD, Y. Composition of goat and sheep milk products: An update. **Small Ruminant Research**, v. 79, p. 57–72, 2008.

RENHE, I. R. T.; VOLP, A. C. P.; BARBOSA, K. B. F.; STRINGHETA, P. C. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Porto Alegre, v. 23, n. 2, p. 119-126, 2008.

RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v.89, p. 225–233, 2010.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics: the concept revisited. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 830S-837S, 2007.

ROSS, R. P.; DESMOND, C.; STANTON, C. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. **Journal of applied microbiology**, v.98, n.6, p.1410-1417, 2005.

SAAD, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.1, p. 1–16, 2006.

- SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v.84, p.197-215, 2000.
- SAARELA, M.; ALAKOMI, H. L.; MÄTTÖ, J.; AHONEN, A.M.; TYNKKYNNEN, S. . Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* with improved stability in fruit juice. **LWT—Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1012–1018, 2011.
- SANMARTÍN, B., DÍAZ, O, RODRÍGUEZ-TURIENZO, L., COBOS, A. Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. **Small Ruminant Research**, v. 105, p. 186-192, 2011.
- SANTOS, K. O.; EGITO, A. S.; BOMFIM, M. A. D.; BENEVIDES, S. D. **Produção de queijos probióticos para agregação de valor ao leite caprino**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2008.
- SBAF - SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTOS FUNCIONAIS. **Alimentos funcionais crescem 50%**. Disponível em: <<http://www.sbaf.org.br>>. Acesso em: 25 Abr. 2012.
- SHEEHAN, J. J.; DRAKE, M. A.; MCSWEENEY, P. L. H. Effect of partial or total substitution of bovine for caprine milk on the compositional, volatile, non-volatile and sensory characteristics of semi-hard cheeses. **International Dairy Journal**, v.19, n.9, p.498-509, 2009.
- SHOAF, K.; MULVEY, G. L.; ARMSTRONG, G. D.; HUTKINS, R. W. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells. **Infection and Immunity**, Washington, v. 74, n. 12, p. 6920–6928, 2006.
- SILANIKOVE, N.; LEITNER, G.; MERIN, U.; PROSSER, C. G. Recent advances in exploiting goat's milk: quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, p.110-124, 2010.
- SILVA, E. M. N.; SOUZA, B. B.; SILVA, G. A.; AZEVEDO, S. S.; GOMES, T. L. S. Caracterização dos Sistemas Produtivos de leite de cabra nos Cariris Paraibano. **Revista Caatinga**, v. 26, n. 1, p. 63-71, 2013.
- TERATENAVAT, R.; HOOKER, N. Consumer Valuations and preference heterogeneity for a Novel Functional Food. **Journal of Food Science**. v. 71, n. 7, 2006.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.589-595, 2006.
- VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics: from Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714-728, 2008.
- VINDEROLA, C. G.; REINHEIMER, J. A. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. **International Dairy Journal**, v.9, p.497-505, 1999.

WANG, Y. Prebiotics: present and future in food Science and technology. **Food Research International**, v. 42, p. 8–12, 2009.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão estão apresentados sob a forma de um artigo científico, intitulado *Effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage*, que foi elaborado e submetido conforme as normas do periódico *LWT - Food and Science Technology* (ISSN: 0023-6438), cujo fator de impacto é 2,546.

**Effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage**

E.O. Silveira<sup>a</sup>, J.H. Lopes Neto<sup>b</sup>, L.A. Silva<sup>a</sup>, A.E.S. Raposo<sup>b</sup>, M. Magnani<sup>c</sup>, H. R. Cardarelli<sup>b,\*</sup>.

<sup>a</sup>Postgraduate Program in Food Science and Technology, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

<sup>b</sup>Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

<sup>c</sup>Laboratory of Food Biochemistry, Department of Food Engineering, Center of Technology, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil.

\* Corresponding author: Department of Food Technology, Center of Technology and Regional Development, Federal University of Paraíba, Avenida dos Escoteiros, s/n, Mangabeira VII, Distrito de Mangabeira, João Pessoa, Paraíba, 58055-000, Brazil

Tel: +55 83 32167947, E-mail: [hrcarda@gmail.com](mailto:hrcarda@gmail.com)

## ABSTRACT

This study aimed to produce chocolate goat dairy beverages with the probiotic *Bifidobacterium lactis* and evaluate the effects of goat cheese whey and prebiotics (inulin and oligofructose) on the physicochemical parameters and sensory features of the beverages. All formulations ( $n = 7$ ) had decreased pH and concomitant increase in the acidity during refrigerated storage. Beverages made with the lowest amounts of whey (F1 and F3) had greater decrease in pH from 14 days of storage. The apparent viscosity increased up to 21 days for all formulations, and up to 28 days for F4 (6 g 100 g<sup>-1</sup> prebiotics and 45 mL 100 mL<sup>-1</sup> whey). *B. lactis* showed counts between 6 and 8 log CFU mL<sup>-1</sup>. F4 presented the highest average in sensory attributes flavor and aroma. Apparently, larger amounts of prebiotics and whey in the beverage enhance the flavor perception, which may be a consequence of the intensification of cocoa flavor and / or lower acidity perception. Thus, the amounts of whey and fructans turn F4 the formulation that best represents the desirability profile chosen for the probiotic

chocolate goat dairy beverage with probiotic viability above  $7 \log \text{CFU mL}^{-1}$  and improved viscosity and sensory features.

**Keywords:** *Bifidobacterium lactis*, prebiotics, goat cheese whey, goat milk.

## 1. Introduction

The consumption of foods that promote wellness, health, and reduced risk of diseases such as probiotics and prebiotics has grown worldwide. During the past decade, more than 500 new products were introduced to the market (Ashraf & Shah, 2011). Among probiotic microorganisms, bifidobacteria have been used mainly in dairy bovine products, especially in fermented milks, yogurts and dairy beverages (Castro et al., 2013; Ranadheera, Evans, Adams, & Baines, 2013a). Bifidobacteria have low viability in pH below 4.0 (Saarela et al. 2011) and their multiplication can also be affected by oxygen and hydrogen peroxide (Roy, 2005). Therefore, a strategy to promote high viability of these bacteria in the product is the use of a separately fermented inoculum containing high number of viable cells before incorporation to milk formulations (Kailasapathy & Rybka, 1997).

Dairy products can help in the survival of bifidobacteria to gastric juice due to its buffering effect. Studies involving *Bifidobacterium lactis* species reported excellent maintenance of viability in fermented milk until the time of consumption (Ross, Desmond, & Stanton, 2005; Gueimonde et al., 2004). The maintenance of *B. lactis* viability in dairy products may be improved by the addition of prebiotic ingredients such as inulin and oligosaccharides, which have bifidogenic properties and do not interfere with the flavor of the final product (Roberfroid, 2007).

Dairy beverages formulated with cheese whey have gained prominence in the global dairy market, as they are produced using simple technologies and are widely accepted by consumers of different age groups (Krešić, Herceg, Lelas, & Jambrak, 2010). These products have interesting nutritional value due to their protein content and are an important alternative for the reuse of whey generated during cheese production, which is a strong source of pollution for the environment when improperly disposed (Sanmartín, Díaz, Rodríguez-Turienzo, & Cobos, 2011; Hernández-Ledesma, Ramos, & Gomez-Ruiz, 2011).

Dairy products made with goat milk are consumed worldwide and are associated with increased goat milk production and demand in numerous countries recently

(Queiroga et al., 2013). Formulations of mixed goat and cow milk beverage have been studied (Gomes et al, 2013), however, there is a lack of information regarding dairy beverage formulations with only goat milk, particularly when formulated with probiotics and prebiotics. In addition, most of the studies about dairy beverages reported formulations with fruits or fruits jam and there are no reports of goat dairy beverage with chocolate.

Therefore, the aim of this study was to produce chocolate goat dairy beverages with the probiotic *B.lactis* and evaluate the effects of goat cheese whey and prebiotics (inulin and oligofructose) on the physicochemical parameters and sensory features of the beverages.

## **2. Materials and Methods**

### *2.1. Materials*

Dairy beverage formulations were prepared using the following ingredients: *B. lactis* culture (BLC 1, Sacco Brazil, São Paulo, Brazil); Synergy1® prebiotic (mixture of inulin and oligofructose) (Beneo - Orafti, Oreye, Belgium); pasteurized goat cheese whey obtained from the production of rennet-type cheese (Laboratory of Research and Development of Dairy Products, Center for Humanities, Social and Agrarian Sciences - Federal University of Paraíba, Bananeiras, Brazil); UHT goat milk (Caprilat, Paraná, Brazil); sucrose (União, São Paulo, Brazil); powdered chocolate (50 % cocoa) (Nestlé, São Paulo, Brazil) and xanthan, sodium carboxymethyl cellulose and carrageenan gums (Genkorlac CM 130) (São Paulo, Brazil). The composition of milk and whey used in formulations is shown in Table 1.

### *2.2. Experimental design and statistical analysis*

Seven formulations were prepared according to the central composite design to obtain a model that represents the behavior of independent variables goat cheese whey (X1) and Synergy1® prebiotic (oligofructose and inulin) (X2) added at different proportions in the formulations (Table 2). Formulations were randomly prepared. The analysis of residues, determination coefficient (adjusted R<sup>2</sup>) and the lack of fit were used to verify the model adequacy. The regression coefficients of the Scheffé canonical polynomial equation of the adjusted model were used to evaluate the effects on the dependent variables (*B. lactis* viability, apparent viscosity, pH and total solids). After

model adjustment, the results expressed as means  $\pm$  standard deviation were submitted to analysis of variance (ANOVA) and Tukey test with  $P < 0.05$ . For the sensory analysis data, the results were expressed as median [25 % quartile - 75% quartile] and comparison of medians by the Mann-Whitney U test with  $P < 0.05$ . All analyses were performed using Statistica 7.0 software (Statsoft Inc., USA).

### *2.3. Production of the dairy beverages*

The production of the dairy beverages consisted initially of homogenization and pasteurization ( $65^{\circ}\text{C}$  30 min $^{-1}$ ) of sucrose ( $70 \text{ g L}^{-1}$ ), powdered chocolate ( $28 \text{ g L}^{-1}$ ), gums ( $2 \text{ g L}^{-1}$ ) and goat milk. Pasteurized goat cheese whey and / or prebiotic were added and homogenized according to each formulation (Table 2). In the last step, the inoculum ( $10^{11} \text{ CFU mL}^{-1}$ , 20 mL L $^{-1}$ ) prepared from 1 g of culture in 100 mL UHT goat milk and incubated at  $35^{\circ}\text{C}$  for 12 h was added to the beverage that was stored in plastic bottles (150 mL) at  $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  for 28 days. The same goat milk and goat cheese whey batches were used.

### *2.4. Physicochemical analysis of dairy beverages*

Physicochemical analyses were determined on the first day of storage according to AOAC methods (2005): fat (2000.18), protein (939.02), lactose (923.09), total solids (990.19), ash (930.30), titratable acidity (g of lactic acid 100 g $^{-1}$ ) (920 124). Physicochemical analyses of pH, titratable acidity, total solids, apparent viscosity and syneresis were performed after 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage.

The apparent viscosity was measured using a Brookfield type viscosimeter (FUNGILAB, Italy) at  $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and rotation speed of 60 rpm. The results are given in millipascal seconds (mPa s). Syneresis was analyzed by centrifugation (Gauche et al. 2009).

### *2.5. Microbiological analysis of dairy beverages*

Microbiological analysis followed the methodology recommended by the American Public Health Association (APHA, 2001), as follows: determination of the most probable number (MPN) of total coliforms ( $\text{MPN mL}^{-1}$ ) and of thermotolerant coliforms ( $\text{MPN mL}^{-1}$ ); enumeration of molds and yeasts ( $\text{CFU mL}^{-1}$ ); enumeration of *Staphylococcus aureus* ( $\text{CFU mL}^{-1}$ ); detection of *Salmonella* spp, the later two only

carried out after 7 days of refrigerated storage to ensure sanitary quality of the product, while the others after 1, 7, 14, 21 and 28 days of storage.

### *2.6. Viability of *B. lactis**

The viability of *B. lactis* on dairy beverages was determined after 1, 7, 14, 21 and 28 days. The samples were submitted to serial decimal dilutions in peptone water ( $1\text{ g L}^{-1}$ ) and pour-plated in deMan-Rogosa-Sharpe agar (MRS Agar Himedia, India) added of sodium propionate ( $3\text{ g L}^{-1}$ ), lithium chloride ( $2\text{ g L}^{-1}$ ) and L-cysteine hydrochloride ( $0.5\text{ g L}^{-1}$ ) followed by anaerobic incubation (Anaerobac Probac, São Paulo, Brazil) at  $37^\circ\text{C}$  for 72 hours (Vinderola & Reinheimer, 1999). Results were expressed as logarithm of colony forming units per mL of product ( $\log \text{CFU mL}^{-1}$ ).

### *2.7. Sensory evaluation*

The sensory evaluation of the this study was approved by the Ethics Research Committee of the Health Sciences Center of the Federal University of Paraíba, Paraíba State, Brazil (CAAE: 17196513.3.0000.5188; Protocol No: 440.040/2013), recognized by Ethics Research National Commission (CONEP).

Acceptability tests were conducted with 50 untrained panelists (consumers) and 50 mL coded samples were randomly presented in individual booths, served in plastic cups, accompanied by a sensory evaluation form (Meilgaard et al. 2007). The tests were performed after 14 days of storage, and each panelist tested a maximum of two samples of different formulations in a monadic order. The samples were assessed for flavor, color, aroma and texture, using a nine-point hedonic scale (9 = liked extremely, 5 = neither liked nor disliked; 1 = disliked extremely).

## **3. Results and discussion**

### *3.1. Microbiological analysis and physicochemical composition of dairy beverages*

Microbiological analyses revealed that all goat dairy beverage formulations were in accordance with Instruction 16/2005 of the Brazilian Legislation (Brazil, 2005) during the storage period (28 days). The counts of total and thermotolerant coliforms were lower than  $3.0\text{ mL MPN}^{-1}$  and the counts of molds and yeasts ware lower than  $10\text{ CFU mL}^{-1}$ . The counts of *S. aureus* were lower than  $10^2\text{ CFU mL}^{-1}$  and *Salmonella* spp was not detected.

The highest levels of lipids, proteins and ash were observed in formulations with the lowest amounts of whey (F1 and F3) (Table 3), similarly to the reported by Gerhardt et al. (2013) for bovine and mixed bovine and caprine dairy beverages formulated with different amounts of ricotta whey.

The addition of Synergy1® (F3 to F7 formulations) increased the total solids content of dairy beverages (Table 3). The lactose content varied among formulations, being higher in those with the highest proportion of goat milk (F1 and F3) ( $P < 0.05$ ) (Table 3). Gomes et al. (2013) reported similar lactose values ( $5.03 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ ) for dairy goat milk beverages in their study.

The pH and titratable acidity values of dairy beverages also differed ( $P < 0.05$ ) among formulations (Table 3), which could be related to the proportion of milk and whey used, the activity of the initial inoculum, the storage time and the interaction of other ingredients present in the formulations (Thamer & Penna, 2006). Whereas the addition of *B. lactis* inoculum to the formulations requires adaptation of microorganisms to the new medium, acidity and pH may have been influenced by the metabolism of ingredients available for this adaptation.

### *3.2. Physicochemical analysis during refrigerated storage*

All formulations had a pH decrease ( $P < 0.05$ ) throughout refrigerated storage (Table 4). Beverages formulated with the lowest amounts of whey (F1 and F3) had greater pH decrease from 14 days of storage ( $P < 0.05$ ). In contrast, the acidity values increased ( $P < 0.05$ ) in all formulations from 14 days of refrigerated storage, except for F2, which only showed increase of this parameter at 21 days. Although it was reported that during the storage period there is stabilization of pH and acidity in dairy beverages (Gomes et al. 2013; Wang, Bao, Hendricks, & Guo, 2012), this was not observed in the present study. However, it is known that the acidification of fermented milk products may evolve during refrigerated storage, becoming less pronounced due to the effect of the low temperatures used in storage (Rojas-Castro, Villalobos, & Castro, 2007). In this study, increased acidity in the formulations can be the result of post-acidification due to the continued fermentation by *B. lactis* during storage, which is also reported for yogurt produced in co-culture with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Rojas-Castro, Villalobos, & Castro, 2007).

F3 and F4 formulations (containing  $6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  Synergy1®) presented total solids content significantly higher during the 28 days of storage and did not differ from each

other ( $P < 0.05$ ), while F1 and F2 (without added Synergy1<sup>®</sup>) showed lower values. Differences in the total solids content among formulations can affect viscosity and syneresis, since the higher the total solids content, the lower the intensity of attractive forces between casein micelles, increasing water retention (Vargas et al. 2008).

No syneresis occurred during the 28 days of storage, showing a positive effect of the mixture of gums used. It is known that anionic hydrocolloids (xanthan gum, guar gum, pectin and carrageenan) interact with positive charges on the surface of casein micelles in fermented milks, reinforcing the network formed, consequently reducing syneresis (Everett & McLeod , 2005). Furthermore, the addition of whey and Synergy1<sup>®</sup> (inulin and oligofructose) did not affect syneresis in the dairy beverages of the present study, although increased syneresis has already been reported in fermented dairy beverages added of cheese whey and oligofructose (Castro et al. , 2009).

The apparent viscosity increased up to 21 days in all formulations, with a decline between 21 and 28 days, except for F4 ( $P < 0.05$ ) (Table 4). This increase may be related to the solidification of the gel structure and eventual thixotropy in the product (Gomes et al., 2013; Wang, Bao, Hendricks, & Guo, 2012). Moreover, the combination of whey and prebiotic has probably influenced the maintenance of the formulation viscosity, since F4 had the highest amounts of these ingredients and knowing that inulin shows good stability during storage of acid products such as yoghurt and dairy beverages, like the product developed in this study, and thus been capable of interacting with water to form microcrystals and making the mixture more soft and creamy (Pimentel, Garcia, & Prudencio, 2012).

### 3.3. Viability of *B. lactis*

There was a reduction in the viability of *B. lactis* after one day of storage in all formulations (standardized addition of 9 log CFU mL<sup>-1</sup>); however, F1 presented higher population of *B. lactis* than the other formulations ( $P < 0.05$ ) (Table 5). This behavior was possibly the result of F1 composition, which, among the formulations studied, was the closest to the composition of nutrients used to obtain the inoculum.

A significant increase ( $P < 0.05$ ) in the viability of *B. lactis* up to 14 and 21 days for formulations F1 to F3, and F4 to F7, respectively, was observed, remaining between 6 and 8 log CFU mL<sup>-1</sup> throughout the storage period (Table 5). This result should be highlighted because it meets what is recommended as minimum daily intake of viable

cells of a probiotic per portion of the product ready for consumption (Brazil, 2008), foregrounding the functional potential of the formulated dairy beverages.

Ranadheera, Evans, Adams, and Baines (2013b) reported an increase in the viability of *B. lactis* in probiotic chocolate goat ice cream similar to that reported in this study, while other authors have found stability in the viability of *B. lactis* added to dairy products during storage (Cardarelli, Buriti, Castro, & Saad, 2008; Raeisi et al. 2013 and Casarotti, Monteiro, Moretti, & Penna, 2014). The goat milk composition includes minerals such as calcium, zinc and magnesium, which are important components of enzyme complexes involved in lactose fermentation, besides high protein content, favoring the multiplication of bifidobacteria (Slačanac et al. 2010) (Table 1).

### *3.4. Sensory evaluation of dairy beverages*

Formulation F4 (whey and prebiotic at maximum concentrations) (Table 2) had the highest median in attributes flavor (6 [4,7]) and aroma (7 [6,8]), differing significantly from other formulations in relation to aroma ( $P < 0.05$ ). In a previous study, Montanuci, Garcia, and Prudencio (2010) reported that the addition of inulin did not affect the intensity of sensory attributes of kefir-type fermented dairy beverages; however, it contributed to the acceptance of the product. Thus, it can be suggested that the combination of prebiotic with cheese whey was positive for attributes flavor and aroma of dairy beverages of the present study.

The medians of attribute flavor ranged from 4 [3, 6] to 6 [4, 7], with F2 having the smallest median, which differed ( $P < 0.05$ ) from formulations F3 (6 [4, 6]), F4 (6 [4, 7]) and F6 (5 [3, 7]). Apparently, a larger amount of prebiotic in the beverage improves the perception of flavor, which may be a consequence of the enhanced cocoa flavor and / or lower acidity perception. Regarding aroma, medians ranged from 5 [4, 7] and 5 [5, 7] - F1 and F3, respectively, to 7 [6, 8] - F4. Formulations F2, F5 - F7 had median 6 [5, 7] and only F4 differed ( $P < 0.05$ ) from the other formulations, which leads to suggest that the increase in whey content improves the flavor perception in the dairy beverage.

The appearance attribute presented medians ranging from 6 [5, 7] - F2 – to 7 [6, 8] - formulations F3, F4, F5 - F7, and formulation F1 presented the highest median 7 [7, 8], differing ( $P < 0.05$ ) from formulations F2, F4 and F5. Formulation F2 showed the lowest value for this attribute, differing from formulations F1, F3, F6 and F7 ( $P < 0.05$ ).

The texture attribute varied from median 6 [6, 7] - F2 to 7 [6, 8] – formulations F1, F3, F5 - F7, with difference ( $P < 0.05$ ) between formulations F1 and F2 and

formulations F3 and F7. Formulation F4 showed median 7 [6,7]; however, as the minimum score was 6, it is considered that all formulations were approved by panelists regarding texture and that differences in the total solids or prebiotic contents among formulations did not affect the sensory evaluation of texture. Supposedly, the values obtained for texture are directly related to the apparent viscosity at the day of sensory analysis (Table 4), since the formulation with the lowest apparent viscosity value at 14 days (F2) showed the lowest median for attribute texture.

### 3.5. Desirability profile

The linear model and the Scheffé equations of the adjusted model were adopted to obtain dairy beverage formulations that would best fulfill the desired results for selected responses (pH, total solids, viability of *B. lactis* and apparent viscosity) at 14 days of storage. The effect of goat whey ( $X_1$ ) and prebiotic ( $X_2$ ), as well as the interaction of ingredients ( $X_{12}$ ) used in formulations were determined according to the Equations 1 to 4.

$$\text{pH} = 5.698 + 0.446X_1 + 0.059X_2 - 0.059X_{12} \text{ (Eq. 1)}$$

$$\text{Total solids} = 19.908 + 1.973X_2 \text{ (Eq. 2)}$$

$$\text{Viability of } B. \text{ lactis} = 7.759 - 0.151X_1 - 0.053X_2 - 0.021X_{12} \text{ (Eq. 3)}$$

$$\text{Apparent viscosity} = 162.395 + 15.783X_1 + 8.967X_2 + 1.45X_{12} \text{ (Eq. 4)}$$

In these equations, the value and the sign (+ or -) of linear coefficients obtained for each response show that both factors contributed to increase pH and apparent viscosity (positive  $\beta_1$  and  $\beta_2$ ) and decrease the viability of *B. lactis* (negative  $\beta_1$  and  $\beta_2$ ), while only the prebiotic contributed to increase the total solids content (positive  $\beta_2$ ). The low values of coefficients for the viability of the probiotic signify that there was little influence of independent variables on this response. The effect of the interaction of whey with the prebiotic ingredient ( $\beta_{12}$ ) demonstrates that these factors together contributed to decrease the pH and the viability of *B. lactis* and to increase the apparent viscosity. No significant interaction ( $\beta_{12}$ ) regarding the total solids content was observed.

The maximum overall desirability obtained was 80 % (Figure 1). This result indicates that the optimal area statistically obtained and viewed by the darker area of the response surface corresponded to the addition of 30 to 45 mL 100 mL<sup>-1</sup> whey and 4 to

6 g 100 mL<sup>-1</sup> prebiotic to the dairy beverage. These ranges include formulation F4 (45mL - 100ml<sup>-1</sup> whey and 6 g 100 mL<sup>-1</sup> Synergy1®), which obtained the highest scores on sensory attributes flavor and aroma and, therefore, would be the most suitable formulation according to the conditions studied, considering minimum daily intake of 100 mL of the dairy beverage.

In conclusion, the results suggest that goat cheese whey and the combination of inulin with oligofructose may be used as functional ingredients in the formulation of probiotic chocolate goat dairy beverage maintaining enough probiotic viability and improving its viscosity and sensory features.

### Acknowledgments

The authors are grateful to the companies Sacco Brasil, Beneo – Orafti and Genkor Ingredients for donation of ingredients and also the Dairy Products Development and Research Laboratory of UFPB for supplying goat milk whey. E.O. Oliveira and L.A. Silva acknowledge the fellowships from Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

### References

- AOAC. (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Gaithersburg, MD: AOAC Intl.
- APHA. (2001). American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington. Chapter 7.
- Ashraf, R., & Shah, N. P. (2011). Selective and differential enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium spp.* in yoghurt—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 149, 194–208.
- Brasil, Ministério da Agricultura e da Agropecuária e Abastecimento. (2005). Instrução Normativa nº. 16 de 23 de agosto de 2005. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea*. In: Diário Oficial da União. Brasília, DF. 23 ago. Seção 1.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2008). Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. *Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e, ou, de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos*. Atualizado em Jul 2008. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm)>.

Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT - Food and Science Technology*, 41, 1037-1046.

Casarotti, S. N., Monteiro, D. A., Moretti, M. M. S., & Penna, A. L. B. (2014). Influence of the combination of probiotic cultures during fermentation and storage of fermented milk. *Food Research International*, 59, 67–75.

Castro, W. F., Cruz, A.G.; Bisinotto,M. S., Guerreiro, L.M. R., Faria, J. A. F., & Bolini, H. M. A. (2013). Development of probiotic dairy beverages: Rheological properties and application of mathematical models in sensory evaluation. *Journal of Dairy Science*, 96(1), 16–25.

Castro, F. P. de, Cunha, T. M., Ogliari, P. J., Teófilo, R. F., Ferreira, M. M. C., & Prudêncio, E. S. (2009). Influence of different content of cheese whey and oligofructose on the properties of fermented lactic beverages: Study using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 42 (5) , 993–997.

Everett, D.W. & Mcleod, R. E. (2005). Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 15, 1175-1183.

Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P. L. M., Ogliari, P. J., & Bordignon-Luiz, M .T. (2009). Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *LWT - Food and Science Technology*, 42, 239-243.

- Gerhardt, A., Monteiro, B. W., Gennari, A., Lehn, D. N., & Souza, C. F. V. (2013). Características físico-químicas e sensoriais de bebidas lácteas fermentadas utilizando soro de ricota e colágeno hidrolisado. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 68 (390), 41-50.
- Gomes, J. J. L., Duarte, A. M., Batista, A. S. M., Figueiredo, R. M. F., Sousa, E. P., Souza, E. L., & Queiroga, R. C. R. E. (2013). Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. *LWT - Food and Science Technology*, 54, 18-24.
- Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., & de los Reyes-Gavilán, C. G. (2004). Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Research International*, 37, 839-850.
- Grünert, K. G. (2003). Purchase and consumption: The interdisciplinary nature of analysing food choice. *Food Quality and Preference*, 14 (1), 39–40.
- Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., & Gomez-Ruiz, J. A. (2011). Bioactive components of ovine and caprine cheese whey. *Small Ruminant Research*, 101, 196-204.
- Kailasapathy, K. & Rybka, S. L. (1997). *Acidophilus* and *Bifidobacterium spp.*: their therapeutic potential and survival in yogurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 52, 28-35.
- Krešić, G., Herceg, Z., Lelas, V., & Jambrak, A. R. (2010). Consumers' behaviour and motives for selection of dairy beverages in Kvarner region: A pilot study. *Mljarstvo* 60 (1), 50–58.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (2007). *Sensory evaluation techniques* (4. ed.). Boca Raton: CRC Press.

Montanuci, F. D., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2010). Sensory characterization and acceptance of sweetened full fat and low fat Kefir with inulin. *Brazilian Journal of Food Technology*, 8, 79-90.

Pimentel, T., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2012). Effect of long-chain inulin on the texture profile and survival of Lactobacillus paracasei ssp. paracasei in set yoghurts during refrigerated storage. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (1), 104-110.

Queiroga, R. C. R. E., Santos, B. M., Gomes, A. M. P., Monteiro, M. J., Teixeira, S. M., Souza, E. L. de., Pereira, C. J. D., & Pintado, M. M. E. (2013). Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. *LWT - Food Science and Technology*, 50, 538-544.

Raeisi, S. N., Ouoba, L. I. I., Farahmand, N., Sutherland, J., & Ghoddusi, H. B. (2013). Variation, viability and validity of bifidobacteria in fermented milk products. *Food Control*, 34, 691-697.

Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. (2013a). Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135(3), 1411–1418.

Ranadheera, C. S., Evans, C.A., Adams, M.C., & Baines, S.K. (2013b). Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research*, 112, 174– 180.

Roberfroid, M. B. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *Journal of Nutrition*, 137, 830S-837S.

Rojas-Castro, W., Villalobos, A. C., & Castro, M. L. P. (2007). Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. *Agronomía Mesoamericana*, 18 (2), 221-237.

Ross, R. P., Desmond, C., & Stanton, C. (2005). Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of applied microbiology*, 98 (6), 1410-1417.

Roy, D. (2005). Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products. *Le Lait*, 85(1–2), 39–56.

Saarela, M., Alakomi, H. L., Mättö, J., Ahonen, A.M. & Tynkkynen, S. (2011). Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* with improved stability in fruit juice. *LWT—Food Science and Technology*, 44(4), 1012–1018.

Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., & Cobos, A. (2011). Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Research*, 105, 186-192.

Slačanac, V., Božanić, R., Hardi, J., Szabó, J. R., Lučan, M., & Krstanovič, V. (2010). Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *International Journal of Dairy Technology* . 63 (2), 171-189.

Thamer, K. G., & Penna, A. L. B. (2006). Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26 (3), 589-595.

Vargas, M., Chafer, M., Albors, A., Chiralt, A., & Gonzalez-Martinez, C. (2008). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 18, 1146-1152.

Vinderola, C. G., & Reinheimer, J. A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9, 497-505.

Wang, W., Bao, Y., Hendricks, G. M., & Guo, M. (2012). Consistency, microstructure and probiotic survivability of goats' milk yoghurt using polymerized whey protein as a co-thickening agent. *International Dairy Journal*, 24, 113-119.

**Table 1** - Physicochemical parameters of goat milk and goat cheese whey employed for the production of the chocolate goat dairy beverages (mean  $\pm$  standard deviation).

<b>Physical-chemical parameters</b>	<b>Goat Milk</b>	<b>Goat cheese whey</b>
pH	6.78 $\pm$ 0.01	6.23 $\pm$ 0.05
Titratable acidity (g lactic acid 100g <sup>-1</sup> )	0.16 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.01
Lactose (g 100g <sup>-1</sup> )	4.35 $\pm$ 0.03	5.04 $\pm$ 0.07
Protein (g 100g <sup>-1</sup> )	3.38 $\pm$ 0.04	0.85 $\pm$ 0.02
Fat (g 100g <sup>-1</sup> )	3.36 $\pm$ 0.05	0.60 $\pm$ 0.01
Ash (g 100g <sup>-1</sup> )	0.80 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.01
Non fat solids (g 100g <sup>-1</sup> )	8.11 $\pm$ 0.02	6.21 $\pm$ 0.01
Total solids (g 100g <sup>-1</sup> )	11.47 $\pm$ 0.03	6.81 $\pm$ 0.02

**Table 2** – Central composite design for independent variables goat cheese whey (X1) and prebiotic (Synergy 1<sup>®</sup>) (X2) of the chocolate goat dairy beverages.

Formulation	Coded variables		Uncoded variables	
	whey (X1)	Prebiotic (X2)	whey (g 100g <sup>-1</sup> )	Prebiotic (g 100g <sup>-1</sup> )
F1	-1	-1	15	0
F2	1	-1	45	0
F3	-1	1	15	6
F4	1	1	45	6
F5	0	0	30	3
F6	0	0	30	3
F7	0	0	30	3

**Table 3.** Physicochemical composition of the chocolate goat dairy beverages (mean  $\pm$  standard deviation).

	<b>pH</b>	<b>Acidity*</b>	<b>Total solids**</b>	<b>Lactose**</b>	<b>Fat**</b>	<b>Protein**</b>	<b>Ash**</b>
<b>F1</b>	6.56 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	17.43 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	5.55 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	3.38 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	2.74 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>	0.77 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
<b>F2</b>	6.40 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	17.42 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	4.85 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	3.22 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	2.07 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.68 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
<b>F3</b>	6.52 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	21.72 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	5.71 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	3.27 $\pm$ 0.02 <sup>d</sup>	2.69 $\pm$ 0.03 <sup>d</sup>	0.77 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
<b>F4</b>	6.35 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	21.77 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	4.91 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	3.00 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.16 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.69 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
<b>F5</b>	6.44 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	20.13 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	5.05 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	3.16 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	2.37 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.65 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
<b>F6</b>	6.44 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	19.97 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	5.05 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	3.16 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	2.38 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.64 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
<b>F7</b>	6.45 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	19.89 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	5.05 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	3.17 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	2.39 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	0.65 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>

\* g of lactic acid 100 g<sup>-1</sup>. \*\* g 100g<sup>-1</sup>

**F1** (15% whey); **F2** (45% whey); **F3** (15% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F4** (45% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F5, F6 e F7** (30% whey and 3% Synergy1<sup>®</sup>).

Different superscript letters in the same column indicate significant differences between formulations ( $P < 0.05$ ).

**Table 4.** Physicochemical analysis of pH, titratable acidity, total solids and apparent viscosity of the chocolate goat dairy beverages during refrigerated storage (mean  $\pm$  standard deviation).

	<b>Formulation</b>	<b>1 day</b>	<b>7 days</b>	<b>14 days</b>	<b>21 days</b>	<b>28 days</b>
<b>pH</b>	<b>F1</b>	6.56 $\pm$ 0.01 <sup>eE</sup>	6.37 $\pm$ 0.01 <sup>cD</sup>	4.90 $\pm$ 0.01 <sup>aC</sup>	4.60 $\pm$ 0.01 <sup>aB</sup>	4.48 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>
	<b>F2</b>	6.40 $\pm$ 0.01 <sup>bE</sup>	6.28 $\pm$ 0.01 <sup>aD</sup>	5.98 $\pm$ 0.01 <sup>eC</sup>	5.15 $\pm$ 0.01 <sup>cB</sup>	4.77 $\pm$ 0.01 <sup>cA</sup>
	<b>F3</b>	6.52 $\pm$ 0.01 <sup>dE</sup>	6.36 $\pm$ 0.01 <sup>cD</sup>	5.21 $\pm$ 0.01 <sup>bC</sup>	4.82 $\pm$ 0.01 <sup>bB</sup>	4.76 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>
	<b>F4</b>	6.35 $\pm$ 0.01 <sup>aE</sup>	6.26 $\pm$ 0.01 <sup>aD</sup>	5.91 $\pm$ 0.01 <sup>cC</sup>	5.52 $\pm$ 0.01 <sup>eB</sup>	5.03 $\pm$ 0.02 <sup>dA</sup>
	<b>F5</b>	6.44 $\pm$ 0.01 <sup>cE</sup>	6.33 $\pm$ 0.01 <sup>bD</sup>	5.96 $\pm$ 0.01 <sup>dC</sup>	5.42 $\pm$ 0.01 <sup>dB</sup>	5.05 $\pm$ 0.01 <sup>eA</sup>
	<b>F6</b>	6.44 $\pm$ 0.02 <sup>cE</sup>	6.34 $\pm$ 0.01 <sup>bD</sup>	5.95 $\pm$ 0.01 <sup>dC</sup>	5.43 $\pm$ 0.01 <sup>dB</sup>	5.06 $\pm$ 0.01 <sup>eA</sup>
	<b>F7</b>	6.45 $\pm$ 0.01 <sup>cE</sup>	6.34 $\pm$ 0.01 <sup>bD</sup>	5.94 $\pm$ 0.01 <sup>dC</sup>	5.41 $\pm$ 0.01 <sup>dB</sup>	5.06 $\pm$ 0.01 <sup>eA</sup>
<b>Titratable acidity (g lactic acid 100 g<sup>-1</sup>)</b>	<b>F1</b>	0.29 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>	0.34 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>	0.64 $\pm$ 0.03 <sup>bB</sup>	1.09 $\pm$ 0.04 <sup>cC</sup>	1.29 $\pm$ 0.01 <sup>cD</sup>
	<b>F2</b>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	0.34 $\pm$ 0.04 <sup>aA</sup>	0.37 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>	0.81 $\pm$ 0.02 <sup>bB</sup>	1.22 $\pm$ 0.01 <sup>bC</sup>
	<b>F3</b>	0.30 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>	0.61 $\pm$ 0.02 <sup>bB</sup>	1.01 $\pm$ 0.03 <sup>cC</sup>	1.30 $\pm$ 0.05 <sup>cD</sup>
	<b>F4</b>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>	0.43 $\pm$ 0.04 <sup>aB</sup>	0.57 $\pm$ 0.04 <sup>aC</sup>	0.80 $\pm$ 0.04 <sup>aD</sup>
	<b>F5</b>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	0.37 $\pm$ 0.02 <sup>aAB</sup>	0.41 $\pm$ 0.02 <sup>aB</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>aC</sup>	0.76 $\pm$ 0.01 <sup>aD</sup>
	<b>F6</b>	0.33 $\pm$ 0.01 <sup>bA</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>aAB</sup>	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>aB</sup>	0.59 $\pm$ 0.01 <sup>aC</sup>	0.78 $\pm$ 0.02 <sup>aD</sup>
	<b>F7</b>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>	0.37 $\pm$ 0.02 <sup>aAB</sup>	0.40 $\pm$ 0.02 <sup>aB</sup>	0.61 $\pm$ 0.04 <sup>aC</sup>	0.80 $\pm$ 0.02 <sup>aD</sup>
<b>Total solids (g 100 g<sup>-1</sup>)</b>	<b>F1</b>	17.43 $\pm$ 0.01 <sup>aA</sup>	17.45 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	17.50 $\pm$ 0.07 <sup>aA</sup>	17.41 $\pm$ 0.04 <sup>aA</sup>	17.29 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>
	<b>F2</b>	17.42 $\pm$ 0.03 <sup>aA</sup>	17.22 $\pm$ 0.04 <sup>aA</sup>	17.45 $\pm$ 0.05 <sup>aA</sup>	17.42 $\pm$ 0.05 <sup>aA</sup>	17.36 $\pm$ 0.02 <sup>aA</sup>
	<b>F3</b>	21.72 $\pm$ 0.03 <sup>cA</sup>	21.65 $\pm$ 0.05 <sup>cA</sup>	21.81 $\pm$ 0.01 <sup>cA</sup>	21.72 $\pm$ 0.02 <sup>cA</sup>	21.08 $\pm$ 0.03 <sup>cA</sup>
	<b>F4</b>	21.77 $\pm$ 0.02 <sup>cA</sup>	21.16 $\pm$ 0.04 <sup>cA</sup>	21.54 $\pm$ 0.02 <sup>cA</sup>	22.02 $\pm$ 0.03 <sup>cA</sup>	21.09 $\pm$ 0.06 <sup>cA</sup>
	<b>F5</b>	20.13 $\pm$ 0.05 <sup>bA</sup>	20.15 $\pm$ 0.04 <sup>bA</sup>	20.02 $\pm$ 0.04 <sup>bA</sup>	19.68 $\pm$ 0.05 <sup>bA</sup>	19.79 $\pm$ 0.05 <sup>bA</sup>
	<b>F6</b>	19.97 $\pm$ 0.08 <sup>bA</sup>	20.01 $\pm$ 0.04 <sup>bA</sup>	20.11 $\pm$ 0.02 <sup>bA</sup>	19.74 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>	19.54 $\pm$ 0.03 <sup>bA</sup>
	<b>F7</b>	19.89 $\pm$ 0.03 <sup>bA</sup>	20.04 $\pm$ 0.09 <sup>bA</sup>	20.03 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>	19.90 $\pm$ 0.05 <sup>bA</sup>	19.43 $\pm$ 0.06 <sup>bA</sup>
<b>Apparent viscosity (mPa s)</b>	<b>F1</b>	125.77 $\pm$ 0.47 <sup>cA</sup>	135.70 $\pm$ 0.65 <sup>cB</sup>	166.80 $\pm$ 0.82 <sup>dC</sup>	188.03 $\pm$ 0.75 <sup>cD</sup>	126.77 $\pm$ 0.55 <sup>bA</sup>
	<b>F2</b>	118.57 $\pm$ 0.55 <sup>aA</sup>	126.23 $\pm$ 0.68 <sup>aB</sup>	138.13 $\pm$ 0.67 <sup>aC</sup>	166.20 $\pm$ 0.70 <sup>aD</sup>	116.20 $\pm$ 0.50 <sup>aA</sup>
	<b>F3</b>	129.63 $\pm$ 0.49 <sup>cA</sup>	139.97 $\pm$ 0.25 <sup>dB</sup>	187.63 $\pm$ 0.49 <sup>eD</sup>	198.30 $\pm$ 0.79 <sup>cE</sup>	176.37 $\pm$ 0.55 <sup>dC</sup>
	<b>F4</b>	137.50 $\pm$ 0.89 <sup>dA</sup>	140.80 $\pm$ 0.53 <sup>dB</sup>	153.17 $\pm$ 0.60 <sup>bC</sup>	170.23 $\pm$ 0.97 <sup>bD</sup>	176.03 $\pm$ 0.51 <sup>dE</sup>
	<b>F5</b>	123.67 $\pm$ 0.31 <sup>bA</sup>	130.30 $\pm$ 0.56 <sup>bB</sup>	163.97 $\pm$ 0.80 <sup>cD</sup>	168.60 $\pm$ 0.66 <sup>bE</sup>	150.83 $\pm$ 0.70 <sup>cC</sup>
	<b>F6</b>	123.41 $\pm$ 0.46 <sup>bA</sup>	129.43 $\pm$ 0.50 <sup>bB</sup>	163.20 $\pm$ 0.96 <sup>cD</sup>	169.60 $\pm$ 0.85 <sup>bE</sup>	150.40 $\pm$ 0.75 <sup>cC</sup>
	<b>F7</b>	123.13 $\pm$ 0.75 <sup>bA</sup>	130.27 $\pm$ 0.32 <sup>bB</sup>	163.87 $\pm$ 0.90 <sup>cD</sup>	168.43 $\pm$ 0.81 <sup>bE</sup>	149.47 $\pm$ 0.59 <sup>cC</sup>

**F1** (15% whey); **F2** (45% whey); **F3** (15% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F4** (45% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F5**, **F6** e **F7** (30% whey and 3% Synergy1<sup>®</sup>).

Different superscript lower-case letters in the same column indicate significant differences between formulations ( $P < 0.05$ ). Different superscript capital letters in the same line indicate significant differences between different days of storage ( $P < 0.05$ ).

**Table 5.** *B. lactis* viability (log CFU mL<sup>-1</sup>) of the chocolate goat dairy beverages during refrigerated storage (mean ± standard deviation).

<b>Formulation</b>	<b>1 day</b>	<b>7 days</b>	<b>14 days</b>	<b>21 days</b>	<b>28 days</b>
<b>F1</b>	6.95±0.30 <sup>bA</sup>	7.27±0.11 <sup>abA</sup>	8.13±0.03 <sup>dC</sup>	8.00±0.01 <sup>abBC</sup>	7.52±0.09 <sup>abAB</sup>
<b>F2</b>	6.46±0.28 <sup>abA</sup>	7.45±0.08 <sup>bbB</sup>	7.86±0.03 <sup>cC</sup>	7.82±0.02 <sup>aC</sup>	7.90±0.09 <sup>bcC</sup>
<b>F3</b>	6.42±0.31 <sup>abA</sup>	7.37±0.20 <sup>abB</sup>	8.06±0.02 <sup>dD</sup>	7.99±0.01 <sup>abCD</sup>	7.71±0.10 <sup>bcC</sup>
<b>F4</b>	6.10±0.12 <sup>aA</sup>	7.35±0.10 <sup>abB</sup>	7.72±0.01 <sup>bC</sup>	8.05±0.06 <sup>bD</sup>	7.23±0.11 <sup>aB</sup>
<b>F5</b>	6.12±0.10 <sup>aA</sup>	7.04±0.14 <sup>aB</sup>	7.54±0.01 <sup>aC</sup>	7.85±0.05 <sup>abCD</sup>	7.95±0.05 <sup>bcD</sup>
<b>F6</b>	6.05±0.23 <sup>aA</sup>	7.02±0.07 <sup>aB</sup>	7.53±0.01 <sup>aC</sup>	7.95±0.05 <sup>abD</sup>	7.99±0.07 <sup>bD</sup>
<b>F7</b>	6.13±0.31 <sup>aA</sup>	7.04±0.14 <sup>aB</sup>	7.49±0.01 <sup>aC</sup>	7.89±0.04 <sup>abCD</sup>	7.94±0.08 <sup>bcD</sup>

**F1** (15% whey); **F2** (45% whey); **F3** (15% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F4** (45% whey and 6% Synergy1<sup>®</sup>); **F5**, **F6 e F7** (30% whey and 3% Synergy1<sup>®</sup>).

Different superscript lower-case letters in the same column indicate significant differences between formulations ( $P < 0.05$ ). Different superscript capital letters in the same line indicate significant differences between different days of storage ( $P < 0.05$ ).

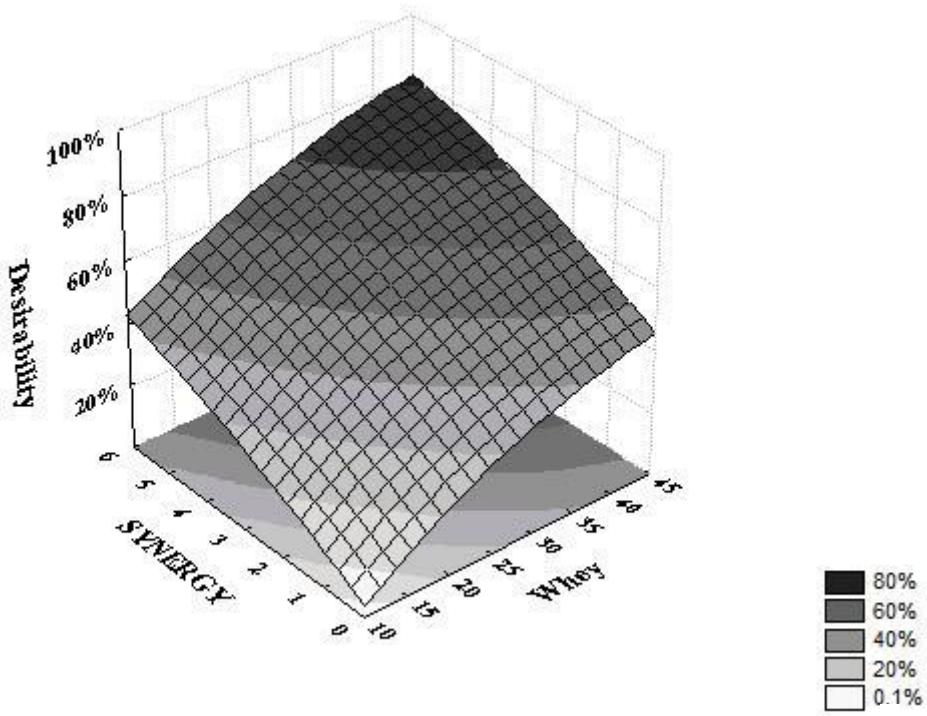


Figure 1 - Contour plot for multi-response desirability (scale 0 to 100%) of the chocolate goat dairy beverages as function of goat cheese whey ( $\text{mL } 100 \text{ mL}^{-1}$ ) and prebiotic Synergy<sup>1</sup>® [inulin + oligofructose ( $\text{g } 100 \text{ mL}^{-1}$ )].

**ANEXOS**

**ANEXO A - Certidão do comitê de ética**

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**C E R T I D Ã O**

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou por unanimidade na 10<sup>a</sup> Reunião realizada no dia 22/10/2013, o Projeto de pesquisa intitulado: **“DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES DE BEBIDA LÁCTEA COM LEITE DE CABRA E INGREDIENTES PROBIÓTICO E PREBIÓTICO”** da pesquisadora Ericka Oliveira da Silveira. Prot. N° 0281/13. CAAE: 17196513.3.0000.5188.

Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à apresentação do resumo do estudo proposto à apreciação do Comitê.

*Teresa Cristina Cunha*  
Teresa Cristina Cunha  
Mat. SIAPE 0331417  
CEP-CCS-UFPB

## **ANEXO B - Modelo da Ficha de aceitação**



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE TECNOLOGIA  
PPG EM CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
LABORATÓRIO DE ANÁLISE SENSORIAL

Nome: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_

Você está recebendo uma amostra de bebida láctea sabor chocolate. Por favor, **anote o número da amostra, prove e avalie** utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto: **marque a nota para cada um dos respectivos atributos** de acordo com a posição que melhor reflita seu julgamento.

Atributo	Código da amostra	
Aparência		
Aroma		
Textura		
Sabor		

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

Comentários:

---



---

Obrigada!

**ANEXO C – Modelo do termo de consentimento livre e esclarecido utilizado para recrutamento dos participantes da avaliação sensorial**

As pesquisas envolvendo seres humanos são norteadas pela Resolução do CONEP nº 466/12.

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa trata da avaliação sensorial de bebida láctea com leite de cabra e ingredientes probiótico (lactobacilo vivo) e prebiótico (carboidrato) desenvolvida por Ericka Oliveira da Silveira, aluna do Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, sob a orientação da professora Dra. Haíssa Roberta Cardarelli.

Solicito a sua colaboração no consumo de 10 mL da bebida láctea, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

Informo que os produtos apresentados passaram por testes microbiológicos, sendo os mesmos aprovados para o consumo e não acarretando risco ao consumidor.

Esclareço que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pela pesquisadora caso decida não participar do estudo, ou resolva a qualquer momento desistir do mesmo, o que não acarretará qualquer consequência ou dano.

A pesquisadora estará à sua disposição para quaisquer esclarecimentos que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, o (a) voluntário (a) declara que foi devidamente esclarecido (a) e dá o seu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Está ciente que receberá uma cópia desse documento.

---

Assinatura do Participante da Pesquisa

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Ericka Oliveira da Silveira.

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal da Paraíba- Campus I, Castelo Branco, João Pessoa- PB, Brasil - CEP: 58051-900 (praça do centro de tecnologia, 1º andar – sala de estudos dos alunos do PPGCTA – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Telefone: (83) 8887-5815

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do CCS/UFPB – Cidade Universitária / Campus I  
Bloco Arnaldo Tavares, sala 812 – Fone: (83) 3216-7791

Atenciosamente,

---

Assinatura do Pesquisador Responsável