



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL - PPGBA

HAYANNA ADLLEY SANTOS DE ARRUDA

**COALHADA COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE
CAPRINO E POLPA DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*): AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE E BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS PEPTÍDICOS**

**Recife - PE
2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL - PPGBA

HAYANNA ADLLEY SANTOS DE ARRUDA

**COALHADA COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE
CAPRINO E POLPA DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*): AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE E BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS PEPTÍDICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito necessário para a obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal. **ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: BIOTECNOLOGIA – LINHA DE PESQUISA: PRODUTOS BIOATIVOS**
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Lúcia Figueiredo Porto

**Recife - PE
2020**

HAYANNA ADLLEY SANTOS DE ARRUDA

**COALHADA COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE
CAPRINO E POLPA DE MARACUJÁ (*Passiflora edulis*): AVALIAÇÃO DA
ESTABILIDADE E BIOATIVIDADE DOS EXTRATOS PEPTÍDICOS**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: BIOTECNOLOGIA
TESE DE DOUTORADO APROVADA EM 21 DE FEVEREIRO DE 2020, PARA
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTORA NA UFRPE.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^ª. Dr. Ana Lúcia Figueiredo Porto (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof^ª. Dr^ª. Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof. Dr^ª Celiane Gomes Maia da Silva
Departamento de Economia Doméstica
UFRPE

Prof. Dr^ª. Meire dos Santos Falcão de Lima
Departamento de saúde
Centro Universitário Maurício de Nassau
UNINASSAU

Prof^ª Dr^ª Silvana Magalhães Salgado
Departamento de Nutrição
UFPE

Prof^ª. Dr^ª. Raquel Pedrosa Bezerra (Suplente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal - DMFA
UFRPE

Prof^ª. Dr^ª. Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa (Suplente)
UPE

AGRADECIMENTOS

A Deus, Senhor e Salvador da minha vida. A Ele toda honra e toda Glória. Se cheguei até aqui, foi por sua vontade e misericórdia. Diante de todas as dificuldades, me fez forte. Seu amparo nunca cessou. Muito obrigada!

À Maurílio e Sônia Arruda, meus pais. Não há no dicionário palavra que eu possa utilizar para agradecer, na intensidade necessária, o que vocês fizeram e fazem por mim. Obrigada por cada palavra motivadora, por tantas vezes acreditarem mais em mim do que eu mesma! Meus incentivadores, meus conselheiros e meus amados: muito obrigada!

A Davison Arruda, meu esposo, amigo e companheiro. Seu apoio, seu amor e seu cuidado foram essenciais nesta caminhada. Você fez e faz parte de tudo isso. Aquele que escutou minhas dificuldades, que ouviu minhas lamentações, que enxugou minhas lágrimas cada vez que pensei em desistir, que me ajudou a pensar melhor frente às diversas situações, que torce sempre por mim. Muito obrigada!

A minha querida irmã Hanna Arruda, que mesmo distante, esteve na torcida em todos os momentos!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, seus professores, colaboradores e funcionários. Pelo apoio e ensinamento nas mais diversas situações.

A minha querida orientadora, Prof^a Dr^a Ana Porto, por me receber de braços abertos, sem nunca ter me visto anteriormente. Acreditar que eu conseguiria mesmo com as minhas inúmeras atribuições diárias. Obrigada por estar sempre pronta a me atender, pelos conselhos valiosos, com sua elegância e educação sem igual. Mesmo sendo a pessoa mais “chique” desta universidade, está sempre com o seu coração aberto para receber cada aluno com suas dúvidas e medos. A senhora foi essencial para que esse trabalho acontecesse. Meu Muito obrigada!

A banca de qualificação e defesa, Prof^a Dr^a M^a Taciana Soares, Prof^a Dr^a Silvana Salgado, Prof^a Dr^a Celiane Gomes, Prof^a Dr^a Meire Falcão, Prof^a Dr^a Raquel Pedrosa e Prof^o Dr^o Romero Costa, obrigada pela disponibilidade em plena sexta-feira de carnaval!

Ao Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), que permitiu a realização das análises no espectrômetro de massas. Todos os técnicos e estagiários envolvidos.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), na pessoa da Prof^a Dr^a Viviane Lansky, profissional sem igual e uma amiga querida, que me proporcionou a realização de vários experimentos iniciais que não seriam possíveis de realização sem seu auxílio. Obrigada pelas palavras de incentivo, por compartilhar as minhas dores e medos e sempre acreditar que esse sonho seria possível. Minha gratidão eterna!

A Meire e Karol, amigas que surgiram como anjos enviados por Deus na minha vida, quando pensei em desistir, vocês foram respostas de Deus as minhas orações. Obrigada pelo apoio sem igual, por me acompanharem em cada análise, sem medir esforços, mesmo em feriados e dias santos, elas estavam lá. Meu muito obrigada pela doação sem nem me conhecer direito. Quero leva-las para sempre em minha vida!

As amigas Laise Souza e Dani Dutra, que foram as principais motivadoras da inscrição para a seleção do doutorado em um momento em que estava subrecarregada de trabalho, elas me mostraram todo o caminho e acreditaram que esse sonho seria possível. Obrigada por cada palavra de motivação, sem vocês não chegaria até aqui!

A todos os amigos e familiares que estavam sempre na torcida e aguentando meus estresses diários e minhas ausências, vocês são especiais na minha vida!

A todos os colegas de trabalho e minha liderança da UNINASSAU, por compreenderem as minhas ausências e confiarem no meu trabalho como docente!

Agradeço a CAPES pela concessão da bolsa e a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em especial ao Labtecbio por todo apoio na execução desse projeto.

TODA A MINHA GRATIDÃO NESTE MOMENTO!

RESUMO

Dentre os produtos alimentícios, o leite e seus derivados lácteos são os que apresentam maior crescimento. O consumidor brasileiro está trazendo cada vez mais para seu hábito diário de consumo, iogurtes, leites fermentados e queijos. Um dos tipos de leites fermentados é a coalhada, produto cuja fermentação é realizada por cultivos individuais ou mistos de bactérias mesofílicas produtoras de ácido láctico. É um produto ideal para o equilíbrio e balanceamento da microbiota intestinal, colaborando para melhor absorção do cálcio e das proteínas do leite, inibindo a ação de bactérias patogênicas e auxiliando na regulação intestinal. Este trabalho tem como objetivo produzir uma coalhada com potencial simbiótico formulada com leite caprino e polpa de maracujá (*Passiflora edulis*) e avaliar a estabilidade e bioatividade de seus extratos peptídicos. Para elaboração das coalhadas foi avaliado os atributos sensoriais aroma, cor, textura, sabor e avaliação global. Antes da realização das análises sensoriais, as coalhadas foram submetidas a análises microbiológicas (contagem de *coliformes termotolerantes* a 45°C, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bolores e leveduras*) e físico-químicas (pH, acidez total titulável, proteínas, lipídeos, umidade e minerais). Após a obtenção das formulações, os extratos de peptídeos solúveis em água foram preparados a partir de amostras de coalhadas simbióticas produzidas com leite caprino e em seguida analisados quanto ao perfil peptídico usando técnica de espectrometria de massas do tipo Maldi ToF. E a partir destes foram analisadas as atividades antimicrobianas e antioxidantes. Durante a avaliação das formulações houve estabilidade dos parâmetros analisados, ao longo do armazenamento de 28 dias, ocorrendo pequenas variações nos teores de umidade, cinzas, acidez, pH, e açúcares totais. Considerando o padrão para coliformes a 30°C e 45°C e bolores e leveduras, durante o período de armazenamento, não se verificou contaminação para estes grupos, em todas as amostras analisadas e nos tempos avaliados. Foram detectados fragmentos peptídicos (550 - 4027 Da) e identificadas as capacidades antioxidante e antimicrobiana, atribuindo ao produto propriedades bioativas. A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que as coalhadas se mantiveram estáveis ao longo dos 28 dias de estocagem, exibindo também uma qualidade microbiológica, as contagens de bactérias com potencial probiótico apresentaram valores superiores ao mínimo preconizado pela legislação vigente, 10^8 - 10^{13} . Apresentaram aceitação sensorial em relação a todos os atributos analisados e capacidade antioxidante e antimicrobiana. Tornando as coalhadas, produtos com potencial de mercado e agentes promotores de benefícios para a saúde de seus consumidores.

Palavras- chave: fermentação, produtos lácteos, peptídeos bioativos.

ABSTRACT

Among food products, milk and its dairy products are those that show the greatest growth. The Brazilian consumer is increasingly bringing to his daily consumption habit, yoghurts, fermented milks and cheeses. One of the types of fermented milk is the curd, a product whose fermentation is carried out by individual or mixed cultures of mesophilic bacteria that produce lactic acid. It is an ideal product for the balance and balancing of the intestinal microbiota, contributing to better absorption of calcium and milk proteins, inhibiting the action of pathogenic bacteria and aiding in intestinal regulation. This work aims to produce a curd with symbiotic potential formulated with goat milk and passion fruit pulp (*Passiflora edulis*) and to evaluate the stability and bioactivity of its peptide extracts. To prepare the curds, the sensory attributes of aroma, color, texture, flavor and overall evaluation were evaluated. Before sensory analysis was carried out, the curds were subjected to microbiological analysis (counting of thermotolerant coliforms at 45 ° C, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Molds and yeasts) and physicochemical (pH, total titratable acidity, proteins, lipids, moisture and minerals). After obtaining the formulations, the extracts of water-soluble peptides were prepared from samples of symbiotic curds produced with goat milk and then analyzed for the peptide profile using the Maldi ToF mass spectrometry technique. And from these, antimicrobial and antioxidant activities were analyzed. During the evaluation of the formulations there was stability of the analyzed parameters, over the storage of 28 days, with small variations in the contents of moisture, ash, acidity, pH, and total sugars. Considering the standard for coliforms at 30 ° C and 45 ° C and molds and yeasts, during the storage period, there was no contamination for these groups, in all samples analyzed and at the evaluated times. Peptide fragments (550 - 4027 Da) were detected and antioxidant and antimicrobial capabilities were identified, attributing bioactive properties to the product. From the results obtained in this study, it can be concluded that the curds remained stable throughout the 28 days of storage, also showing a microbiological quality, the counts of bacteria with probiotic potential showed values higher than the minimum recommended by the current legislation, 10^8 - 10^{13} . They presented sensory acceptance in relation to all the analyzed attributes and antioxidant and antimicrobial capacity. Making curds, products with market potential and agents that promote health benefits for their consumers.

Keywords: fermentation, dairy products, bioactive peptides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 LEITE CAPRINO	16
2.2 FERMENTADOS LÁCTEOS.....	19
2.3 PEPTÍDEOS BIOATIVOS EM DERIVADOS LÁCTEOS CAPRINOS ...	26
3. REFERÊNCIAS	33
4. OBJETIVOS	44

Capítulo I	46
-------------------------	-----------

ESTABILIDADE COMERCIAL E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE COALHADA COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE CAPRINO SABOR MARACUJÁ (*Passiflora edulis*)

RESUMO.....	47
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS.....	62

Capítulo II.....	67
-------------------------	-----------

PERFIL DE PEPTÍDEOS EXTRAÍDOS DE COALHADAS SIMBIÓTICAS FORMULADAS COM LEITE CAPRINO: ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE.

RESUMO.....	68
INTRODUÇÃO.....	68
MATERIAL E MÉTODOS.....	70
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS.....	78
CONSIDERAÇÕES FINAIS	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- 4-HCCA (ácido alfa-ciano 4-hidroxicinâmico)
- ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists)
- BAL (bactérias ácido lácticas)
- BHI (Brain Heart Infusion Broth)
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento)
- DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazil)
- ECA (Enzima Conversora de Angiotensina)
- EPS (Extrato bruto de peptídeos solúveis em água)
- ERN (espécies reativas de nitrogênio)
- ERO (espécies reativas de oxigênio)
- FAO/STAT (Food and Agriculture Organization das Nações Unidas)
- FOS (frutooligossacarídeo)
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística)
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento)
- MM (Massas Moleculares)
- PAMs (peptídeos antimicrobianos)
- pH (Potencial Hidrogeniônico)
- PIQ (Padrões de Identidade e Qualidade)
- RDC (Resolução da Diretoria Colegiada)
- TFA (ácido trifluoroacético)
- UFC (Unidade Formadoras de Colônia)
- UHT (Ultra Alta Temperatura)

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 01 – Rebanhos de Caprinos no Brasil, censo 2017 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)	17
Figura 02 – Rebanhos de Caprinos em Pernambuco, censo 2017 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).....	18
Figura 03 - Componentes bioativos do leite de cabra	19
Figura 04 – Coalhada simbiótica formulada com leite Caprino saborizadas com maracujá.	21
Figura 5 – Representação simplificada do sistema proteolítico de bactérias ácido - lácticas.....	22
Figura 06 – Funcionalidade fisiológica dos peptídeos bioativos.....	27
Figura 07 – Estruturas de peptídeos antimicrobianos	29
Figura 08 - Bases moleculares da seletividade dos PAMs.	29
Figura 09 – Representação dos modelos propostos para os mecanismos de ação dos peptídeos antimicrobianos sobre membranas biológicas. 1 – Modelo do barril; 2 – Modelo do agregado micelar; 3 – Modelo do poro toroidal e 4 – Modelo do tapete	30

CAPÍTULO I

Figura 01 - Fluxograma de elaboração para Coalhadas simbióticas sabor maracujá.	50
--	----

Figura 02 – Análise sensorial de coalhadas caprinas simbióticas sabor maracujá.....52

Figura 03 - Gráfico das Alterações de pH e acidez das coalhadas caprinas simbióticas durante o 1º, 7º, 14º, 21º e 28º dia de armazenamento a temperatura de 4 ° C. 46

Figura 04 - Percentual das notas obtidas na intenção de compra, na análise sensorial de coalhadas caprinas sabor maracujá. F1- Coalhada simbiótica com 8g de FOS/1000 ml de leite; F2- Coalhada simbiótica com 16g de FOS/1000 ml de leite 60

Figura 05 - Índice de Aceitabilidade de formulações de Coalhadas caprinas simbióticas sabor maracujá submetidas à análise sensorial, F1- Coalhada simbiótica com 8g de FOS/1000 ml de leite; F2- Coalhada simbiótica com 16g de FOS/1000 ml de leite.61

CAPÍTULO II

Figura 01 - Fluxograma de elaboração para Coalhadas Caprinas simbióticas sabor maracujá 70

Figura 02 - Perfil MALDI-TOF-MS do extrato peptídico de colhadas caprinas simbióticas no tempo 01 dia (A), 14 dias (B) e 28 dias (C) de vida de prateleira 74

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 01 – Principais modos de obtenção de produtos lácteos probióticos.....	24
---	----

CAPÍTULO I

Tabela 01 - Análises físico-químicas de coalhadas Caprinas sabor maracujá durante 1º ao 28º dias de estocagem refrigerada.	53
---	----

Tabela 02 – Contagem de Células viáveis de <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> e <i>Bifidobacterium Bifidum</i> (\log_{10} UFC g ⁻¹) em coalhada refrigerada sabor maracujá durante o período de estocagem.	56
--	----

Tabela 03 - Análise sensorial para Coalhadas caprinas sabor maracujá.	59
--	----

CAPÍTULO II

Tabela 01 - Peptídeos identificados nos extratos solúveis em água de coalhadas caprinas simbióticas de acordo com a espectrometria de massa dados comparados com a literatura.	75
---	----

Tabela 02 – Percentual de Atividade antimicrobiana de coalhadas formulados com leite caprino durante a vida de prateleira.	75
---	----

Tabela 03 - Percentual de atividade antioxidante de coalhadas formulados com leite caprino durante a vida de prateleira.	77
---	----

1. INTRODUÇÃO

A criação de caprinos vem sendo considerada importante fonte de obtenção de carne, leite e derivados para população de áreas rurais de baixa renda. Existe grande procura do leite e derivados nos países desenvolvidos com alto padrão de qualidade (produtos *gourmets*), tais como os queijos finos elaborados com leite de cabra; além de ser classificado como uma importante fonte nutricional é também considerado um produto medicinal para aqueles que sofrem de alergia ao leite de vaca e/ou outras patologias gastrointestinais (RIBEIRO, RIBEIRO 2017; SLAČANAC et al., 2010).

O leite caprino apresenta propriedades já conhecidas em relação ao leite de vaca, como melhor digestibilidade, devido a seus glóbulos de gordura menores, menor alergenicidade, além de altos teores de micronutrientes (cálcio, fósforo, potássio, magnésio, dentre outros), e destaque para seus constituintes bioativos como os peptídeos e oligossacarídeos (HERNÁNDEZ-LEDESMA; RAMOS; GÓMEZ-RUIZ, 2011; ALBENZIO et al., 2012; GARCÍA et al., 2014).

Os produtos lácteos derivados do leite caprino podem conter peptídeos bioativos, originados pelas bactérias ácido-lácteas durante o processamento, promovendo enriquecimento do produto (SMACCHI; GOBBETTI, 2016) .

Grande parte das pesquisas tem sido focada na geração de peptídeos bioativos a partir da hidrólise enzimática de proteínas encontradas comumente em fontes de alimentos (CARRASCO-CASTILLA et al., 2012; CHANG et al., 2013), sobretudo, a proteína láctea é estudada, pois apresenta as mais diversas atividades biológicas podendo mitigar inúmeras doenças crônicas (STROOBANTS et al., 2014).

Essas características conferidas a esses produtos lácteos oferecem ao consumidor mais do que ingredientes convencionais (POSECION et al., 2005), são considerados agentes transportadores de bactérias viáveis com efeitos de promoção da saúde (MORELLI, 2014), sendo conhecido por suas propriedades terapêutica, nutricional e sensorial (GONZALEZ; ADHIKARI; SANCHO-MADRIZ, 2011). Além disso, constitui-se de uma matriz adequada para inclusão de diversos ingredientes, como frutas, mel e geleias, que são bem aceitos pelos consumidores (GARCÍA et al., 2014).

Pensando no consumidor, o interesse na produção comercial de peptídeos bioativos vem aumentando devido aos efeitos benéficos que eles podem trazer ao

organismo. Dentre os quais destacam-se os efeitos sobre o sistema imunológico, sistema digestório, cardiovascular por meio da atividade antimicrobiana, da capacidade de ligação com minerais da atividade antioxidante, anti-hipertensiva, além das atividades anticancerígenas, opióides, antiobesidade entre outras (SINGH et al., 2014).

Dentre os compostos biológicos, enquadram-se alguns peptídeos bioativos, que exercem às atividades regulatórias no organismo animal. Esses peptídeos encontram-se inativos dentro da proteína original devendo, portanto, ser liberados para que possam vir a exercer uma modulação nas funções fisiológicas, seja por meio da interação com receptores específicos, ou na indução de respostas fisiológicas (RYAN et al., 2011; RAIKOS; DASSIOS, 2013).

A produção de produtos lácteos caprinos já é uma realidade no mercado, no entanto a necessidade de pesquisas em relação a suas atividades biológicas, para uma melhor conscientização de seus benefícios à saúde e maior utilização pelos seus potenciais consumidores. Por estes motivos este estudo tem como objetivo produzir uma coalhada simbiótica formulada com leite caprino e polpa de maracujá (*Passiflora edulis*) e avaliar a bioatividade de seus extratos peptídicos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEITE CAPRINO

O leite é um alimento que tem como objetivo primário a proteção imunológica e nutrição de neonatos, auxiliando no desenvolvimento adequado. Isto se dá pelo fato da composição centesimal e das propriedades benéficas a saúde. Também bastante utilizado como um importante ingrediente para produção industrial (RANDHEERA et al., 2016).

De acordo com a Instrução Normativa n. 62 de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o leite é definido como: O produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de que proceda (BRASIL, 2011).

Os produtos com leite de vaca são largamente consumidos, no entanto existe uma elevada demanda por alternativas para este tipo de leite, devido a problemas associados com alergenicidade, desordens gastrointestinais e desejos por novos produtos lácteos (RANADHEERA et al., 2012).

Pela Instrução Normativa de nº 37/2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, define-se como leite caprino o produto originado de ordenha higiênica, completa e ininterrupta de cabras saudáveis, bem alimentadas e em descanso. As características sensoriais do leite de cabra são: cor branca, sabor e odor especiais, mas não desagradáveis (BRASIL, 2000). A norma determina teores mínimos de proteína (2,8%), lactose (4,3%) e cinzas (0,7%) e acidez podendo variar entre 0,13 a 0,18%.

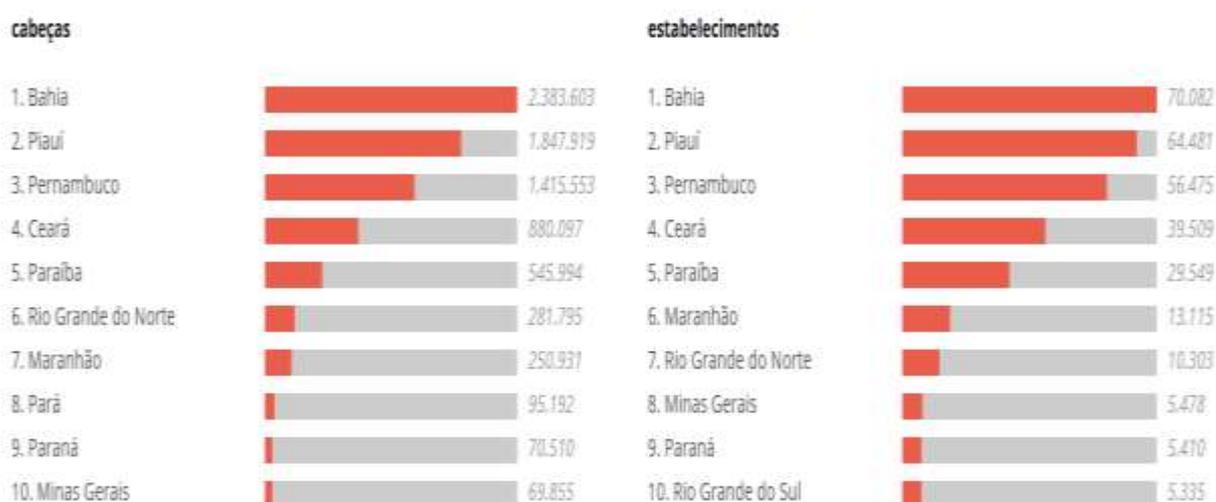
De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento, em um levantamento realizado pela Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura em 2014, o rebanho mundial de caprinos era de aproximadamente um bilhão de cabeças (CONAB, 2016). Dentre os maiores produtores estão a China com 19,00% do rebanho mundial, Índia com 13,00%, Nigéria com 7,00%, Paquistão com 6,60% e Bangladesh (5,60%) (CONAB, 2016). No ranking mundial, o Brasil ocupa a 22º colocação.

Segundo o relatório da Food and Agriculture Organization das Nações Unidas (FAOSTAT) em 2016 , a produção de leite caprino representava 2,3%, percentual

crescente nos últimos anos. O Brasil, de acordo com o censo realizado em 2017 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), tem um efetivo nacional de caprinos de 8,3 milhões de cabeças e 326.166 estabelecimentos produtores, com um aumento de 8,6% em relação a 2014.

No levantamento por região, 92,7% deste efetivo está na Região Nordeste, onde houve um aumento de 9,9% do rebanho em relação a 2014. Como pode ser observado na Figura 1, os estados da Bahia, Piauí e Pernambuco detêm mais de 50% do efetivo nacional, seguidos por Ceará (12,8%) e Paraíba (11,6%), representando 83,3% do efetivo nacional da espécie (IBGE, 2017).

Figura 01 – Rebanhos de Caprinos no Brasil, censo 2017 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)

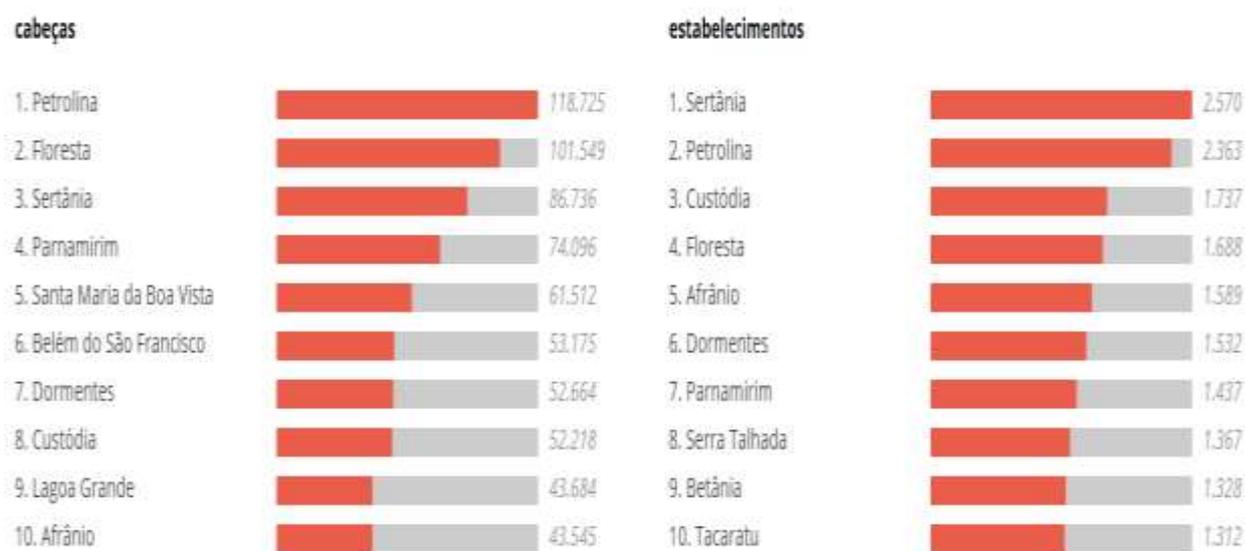


Fonte: IBGE, 2017.

Em Pernambuco, no ano de 2017, como descrito na Figura 2, tem como a maior produtora a cidade de Petrolina com 118.725 cabeças, seguida por Floresta (101.549) e Sertânia (86.736).

As proteínas do leite de cabra possuem melhor digestibilidade do que as do leite bovino, sendo a classificação geral dessas proteínas semelhante à do leite de vaca, no entanto, diferem em polimorfismos, que são responsáveis pelas propriedades de fabricação e dos sabores lácteos caprinos (RUSS et al., 2010).

Figura 02 – Rebanhos de Caprinos em Pernambuco, censo 2017 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)

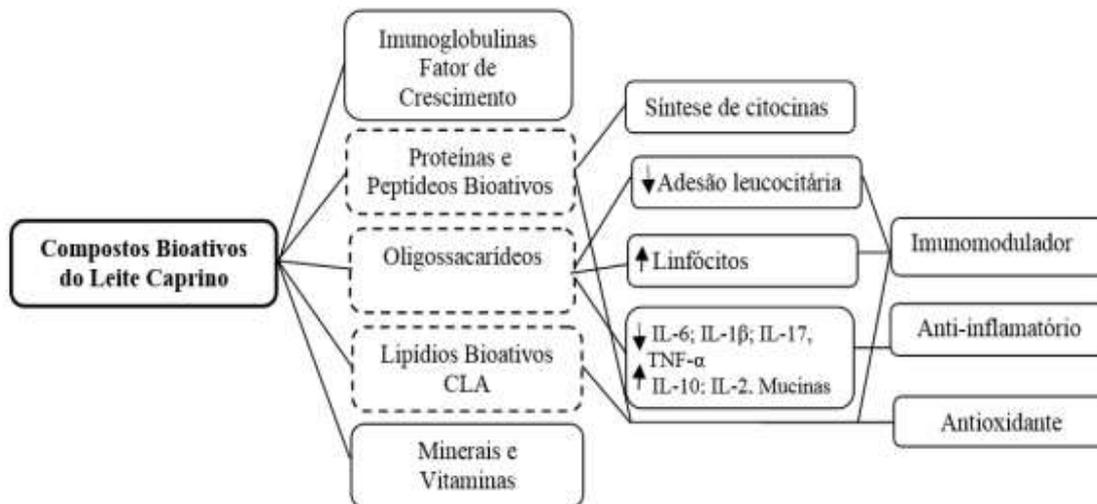


Fonte: IBGE, 2017.

O leite caprino quando comparado com o leite bovino, apresenta na sua composição o predomínio de β -caseína e maiores teores de K-caseína e α S1-7 caseína; ainda, em relação à composição, o lactosoro caprino possui uma menor quantidade de albumina sérica e lactoalbumina; estes teores são uma vantagem para pessoas que sofrem com processos alérgicos ao leite de vaca. Estas características físico-químicas tornam o leite caprino e seus derivados, produtos de elevada digestibilidade (BUENO, 2005), sendo considerados hipoalergênicos (ELAGAMY, 2007). Considerado uma fonte natural de compostos bioativos, temática que vem tendo avanço nas últimas décadas, em relação à ciência e tecnologia e as aplicações comerciais desses compostos. (KORHONEN, 2009a).

Araújo et al. (2019) apresentam diversos compostos presentes no leite de cabra que auxiliam na saúde do consumidor. Estes componentes bioativos podem ser observados na Figura 03.

Figura 03 - Componentes bioativos do leite de cabra



Fonte: ARAÚJO et. al., 2019.

Além dos benefícios nutricionais agregados também exercem grande importância econômica (ANDRADE et al., 2012). Apesar de sua relevância, existem alguns entraves neste segmento, muitas vezes é desenvolvido de forma rudimentar e vinculado à produção familiar, baixa tecnificação, pouca eficiência dos sistemas de produção praticados, bem como, da inexistência de tecnologias de processamento e elaboração dos produtos derivados (QUEIROGA et al., 2013).

A regulamentação de padrões de qualidade de leite de cabra é de extrema importância, pois a partir do leite caprino obtido pela ordenha, é possível beneficiá-lo e obter diversos derivados como iogurtes, bebidas lácteas, sobremesas e queijo, por meio de técnicas de elaboração simples e acessíveis aos produtores de leite caprino, uma alternativa para o aumento do consumo de produtos e agregação de valor como estímulo à produção (SANTOS et al., 2011).

2.2 FERMENTADOS LÁCTEOS

Uma das propriedades do leite é permitir sua própria conservação, através de seus cultivos lácteos que convertem seus açúcares em ácidos, permitindo maior tempo de preservação, pois a redução de pH torna o meio desfavorável a multiplicação de bactérias patogênicas. Este processo faz com que as características do leite mudem, dando lugar a uma nova gama de produtos lácteos (LEPORANTA, 2015).

Entre os produtos alimentícios, o leite e seus derivados são os que apresentam maior crescimento. O consumidor brasileiro está reaprendendo a comer, e trazendo para seu hábito diário de consumo, iogurtes, leites, queijo tipo “petit suisse”, queijos, e outros (ODILON, 2011).

Os produtos lácteos fermentados se caracterizam pela ação de microrganismos no leite e conseqüente transformação de seus elementos (DOBBS; BELL, 2010). As principais funções das culturas lácticas na fabricação de leites fermentados são: produção de ácido láctico a partir da lactose do leite e a produção de compostos aromáticos como, diacetil, acetaldeído, acetona e etanol (PRATA; PRATA, 2012).

A fermentação láctica promove incremento de 50% nos teores de vitamina B6 e B12, aumento de vitamina C, ácido fólico e de colina em relação a outras vitaminas as mudanças são mais amenas. O aumento da digestibilidade das proteínas e gorduras e a melhor utilização de alguns cátions no metabolismo humano são algumas das explicações do grande valor dos alimentos lácticos fermentados na nutrição humana (PRATA; PRATA, 2012).

Um dos tipos de leites fermentados é a coalhada, como pode ser observada na Figura 04, produto cuja fermentação é realizada por cultivos individuais ou mistos de bactérias mesofílicas produtoras de ácido láctico (BRASIL, 2007). É um produto ideal para o equilíbrio e balanceamento da microbiota intestinal, colaborando para melhor absorção do cálcio e das proteínas do leite, inibindo a ação de bactérias patogênicas e auxiliando na regulação intestinal.

Figura 04 – Coalhada simbiótica formulada com leite Caprino saborizadas com maracujá.



Fonte: Autora, 2020.

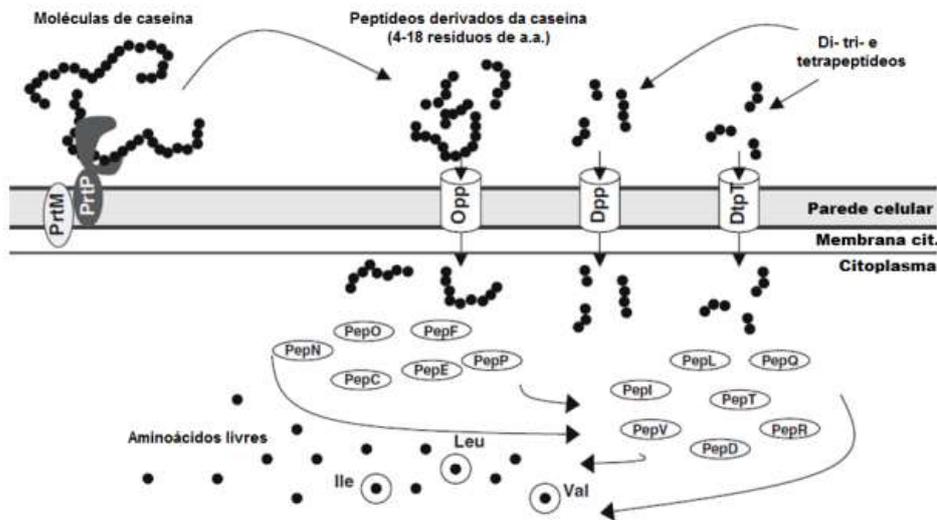
Na Instrução Normativa 46 que diz respeito sobre o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados (BRASIL, 2007), entende-se por coalhada o produto oriundo da fermentação do leite, por bactérias específicas, mesófilas, produtoras de ácido láctico. A coalhada é, portanto um leite fermentado, que fundamentalmente difere do iogurte pela composição, possui crescimento ótimo na faixa de temperatura de 18 a 35°C, composta normalmente por *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis*, algumas vezes combinadas com *Lactobacillus acidophilus*.

O leite caprino vem sendo utilizado como matéria-prima para a formulação de diversos produtos lácteos fermentados, os quais necessitam da adição de bactérias ácido lácticas para sua coagulação. Essas bactérias possuem propriedades probióticas e ainda podem produzir metabólitos secundários associados à promoção da saúde (MILLS et al., 2011).

As bactérias ácido lácticas apresentam a característica de produzir ácido láctico a partir de hexoses. Elas estão divididas em dois grupos, com base nos produtos finais do metabolismo da glicose. Aquelas que produzem ácido láctico como único ou principal produto da fermentação da glicose são denominadas homofermentativas. As bactérias que produzem a mesma quantidade molar de ácido láctico, dióxido de carbono e etanol a partir de hexoses são chamadas heterofermentativas. Estas são mais importantes do que as homoláticas na produção de componentes de aroma e sabor, tais como acetaldeído e o diacetil (LEPORANTA, 2015).

As bactérias ácido lácticas (BAL), possuem um sistema proteolítico como descrito na Figura 5, constituem um grupo heterogêneo de microrganismos que possuem capacidade de fermentar açúcares primários em ácido láctico através da via metabólica homofermentativa ou heterofermentativa (MILLS et al., 2011), devido a estas propriedades metabólicas, são geralmente empregadas em alimentos fermentados, devido sua significativa contribuição na formulação de aroma, sabor, textura, valor nutricional e segurança microbiológica (SETTANNI et al., 2013), tais como vinhos, produção de embutidos fermentados, queijos, iogurtes, entre outros alimentos (GONZÁLEZ et al., 2010).

Figura 05 – Representação simplificada do sistema proteolítico de bactérias ácido - lácticas.



Fonte: SAVIJOKI et al., 2006.

As BAL são relevantes para a indústria de alimentos, pois são capazes de produzir ácidos orgânicos, substâncias antimicrobianas e outros metabólitos a partir de açúcares que provocam diminuição do pH do leite, produzindo condições adversas a proliferação de microrganismos patogênicos, e assim promove melhoria nos produtos comerciais (CIZEIKIENE et al, 2013; SERTTANNI et al, 2013, MAGGI et al; 2013).

Os leites fermentados probióticos são alimentos funcionais, de acordo com Lima et al. (2009), alimentos funcionais são aqueles capazes de garantir efeitos nutricionais adequados e que podem proporcionar benefícios adicionais em uma ou mais funções do organismo. Eles são bastante apreciados, por contribuírem com a nutrição básica, e ainda beneficiar a saúde, devido à presença de microrganismos probióticos e de metabólitos produzidos por eles durante a fermentação (ANTUNES et al., 2007; MOTARJENI et al., 2014).

A possibilidade de se desenvolver uma tecnologia que envolva a adição de culturas probióticas para a obtenção de um produto alimentício funcional com textura apropriada e boas perspectivas de aceitação pelos consumidores é bastante promissora (FARIA; BENFDET; GUERROUE, 2006; MARUYAMA et al., 2006). O modo de obtenção de alguns produtos lácteos probióticos estão apresentados na Tabela 01.

Tabela 01 – Condições do processamento tecnológico para obtenção de derivados lácteos.

Microrganismos	Condições de Processo	Tipo de Reator	Produto	Fonte
<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> , <i>Bifidobacterium e Lactobacillus acidophyllus</i>	Fermentação a T= 42°C até atingir o pH 4,7 – 4,8, com adição de leite em pó, soro de leite em pó, açúcar e frutoligossacarídeos	Bioreator em batelada	Bebida láctea Probiótica	THAMER e PENNA (2015)
<i>Lac. De kbruekii spp bulgaricus</i> , <i>Streptococcus salivarius spp. thermophilus</i> , <i>Lac. Lactis spp. lactis</i> , <i>Lac. Lactis spp. cremoris</i>	Fermentação a T=32°C por 90 minutos em seguida fabricação padrão de queijo branco	Bioreator em batelada	Queijo	GONCU e ALPKENT (2015)
<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lac. Acidophilus</i> , <i>Lac. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Fermentação a T=42°C até o pH atingir a 4,7-4,8.	Bioreator em batelada	Bebida láctea probiótica	GARCIA et al. (2014)
<i>Bifidobacterium animalis subsp. Lactis</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. Cremoris</i> , <i>L. lactis subsp. Lactis</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar. Diacetylactis e Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris</i>	Fermentação a T= 21°C por 15 a 20 horas, com adição de sacarose e sucralose.	Bioreator em batelada	Buttermilk probiótico	ANTUNES et al. (2016)
<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lac. acidophilus</i>	Fermentação a T=45°C até o pH atingir 4,7.	Bioreator em batelada	logurte probiótico	ZACARCHENCO e MASSAGUER - ROIG (2016)

Fonte: Autora, 2020.

Para promover benefícios à saúde do consumidor, esses microrganismos devem permanecer viáveis, ativos e abundantes no produto final, durante o prazo de validade estipulado (RITTER, 2007). Esses probióticos podem contribuir para a saúde do consumidor, atuando na melhora da digestão da lactose (MEDEIROS et al., 2008; PARK e OH, 2010), no controle da microbiota intestinal, diminuição da população de patógenos pela produção de ácido acético e láctico, bacteriocinas e demais compostos antimicrobianos (DE VUYST e LEROY, 2007).

Afim de garantir um efeito contínuo, os probióticos devem ser ingeridos diariamente. Para serem de importância fisiológica ao consumidor, os probióticos necessitam alcançar populações acima de 10^6 a 10^7 ufc/g ou mL de bioproduto. Até o momento não há concordância entre os pesquisadores em relação à concentração mínima de probióticos para alcançar benefícios terapêuticos, pois enquanto alguns sugerem níveis acima de 10^6 ufc/g ou mL como níveis satisfatórios outros estipulam concentrações de 10^7 a 10^8 ufc/g ou mL de bioproduto em toda sua vida útil (WEINBRECK; BODNAR; MARCO; 2010).

Os probióticos mais utilizados envolvem os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, entretanto leveduras, como *Saccharomyces boulardii*, também tem sido utilizadas com potencial probiótico (WEINBRECK, BODNAR, MARCO, 2010). Em produtos lácteos lactobacilos liberam aminoácidos e peptídeos da proteína do leite que estimulam o crescimento do gênero *Streptococcus*. O desenvolvimento do gênero *Lactobacillus* é estimulado pelo ácido fórmico e láctico liberados durante o crescimento do gênero *Streptococcus*, que reduz o pH do meio para um nível ótimo de crescimento do gênero *Lactobacillus* (OLIVEIRA, DAMIN, 2003).

As espécies pertencentes ao gênero *Lactobacillus*, crescem em temperaturas que variam de 2 a 53°C, com valores ótimos em torno de 30 a 40° C, pH de 5,5 a 6,2, podendo ocorrer crescimento em pH menor que 5,0. *Bifidobacterium* tem sua temperatura ótima em torno de 37 a 41°C e pH ótimo entre 6,0 a 7,0 (MACEDO et al., 2008).

Além da inserção de probióticos, também é muito comum a adição de prebiótico, estes são compostos não digeríveis, que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando a proliferação de bactérias desejáveis no cólon como, por exemplo, bactérias ácido lácticas (BAL) e probióticas (SAAD, 2006).

Os prebióticos são fibras alimentares, que não são passíveis de hidrólise pelas enzimas do intestino humano, e classificam-se como solúveis e insolúveis, sendo que esta última permanece intacta por todo o trato gastrointestinal, favorecendo o incremento do bolo fecal e a motilidade intestinal, auxiliando no funcionamento do intestino (FERREIRA; CABRAL; NARDELLI, 2009).

Dentre as fibras alimentares disponíveis no mercado, a inulina e o frutooligossacarídeo (FOS) são exemplos de oligossacarídeos que têm tido aceitação crescente, uma vez que não é digerido nem absorvido no intestino delgado, e conseqüentemente chega ao cólon como uma molécula intacta, agindo

como substrato fermentável para bifidobactérias e lactobacilos. Por funcionar como um prebiótico, o FOS está associado às melhorias nos sistemas gastrointestinal e imunológico (OHR, 2002).

As Fibras inulina e FOS são reconhecidas pelos efeitos funcionais na diminuição dos riscos para algumas patologias (infecção intestinal, constipação, obesidade, câncer de cólon, entre outras). Para garantir o estímulo da multiplicação de bifidobactérias no cólon, doses diárias de 4 a 5 g de oligofrutose no produto com potencial prebiótico devem estar presentes durante todo seu prazo de validade (ROBERFROID, 2017).

O hábito de consumir alimentos que contenham concentrações significantes de fitoquímicos e fibra alimentar é correlacionado com benefícios à saúde (FARRAR et al., 2008). São vários os benefícios associados às fibras solúveis, como o retardo do alimento na passagem intestinal, esvaziamento gástrico e absorção diminuída da glicose, redução do colesterol na corrente sanguínea, maior sensação de saciedade, além de contribuir para a redução do risco de algumas doenças crônicas não transmissíveis, incluindo câncer e diabetes (GALISTEO; DUARTE; ZARZUELO, 2008).

2.3 PEPTÍDEOS BIOATIVOS EM DERIVADOS LÁCTEOS

Na composição do leite pode ser encontradas várias proteínas, com caráter antimicrobiano, estas são essenciais para os seres vivos, protegendo-os contra infecções (LÖNNERDAL, 2010). O Leite e seus derivados provenientes de processos de fermentação e transformação, são muito consumidos durante a vida dos seres humanos, da infância até a idade adulta (RONCADA et al., 2012).

De acordo com Freitas et al. (2013) tem-se aumentado o interesse industrial e acadêmico na investigação de componentes derivados de alimentos que possam trazer benefícios a saúde, dentre os quais destaca-se os derivados da proteína do leite (SHAZLY et al., 2017); e que conseqüentemente podem prevenir ou mitigar a ocorrência e prevalência de doenças, dentre esses componentes destacam-se os peptídeos bioativos (TOLDRÁ et al., 2017).

Inúmeras pesquisas são realizadas em busca de compostos bioativos, substâncias que fazem parte da constituição dos alimentos e que quando ingeridos participam de atividades regulatórias no organismo. A busca por novas fontes de

alimentos ou componentes com propriedades funcionais baseia-se no interesse dos consumidores por alimentos saudáveis e pelo interesse da indústria farmacêutica e/ou alimentícia de obter e caracterizá-los (GIL-CHÁVEZ et al., 2013).

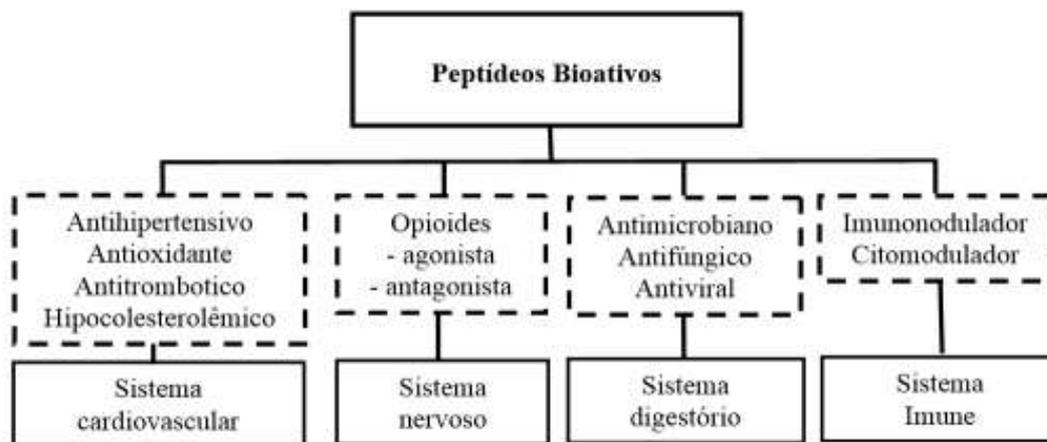
As proteínas lácteas são extraordinárias fontes de sequência de peptídeos com potencial para as diversas atividades biológicas (PARK et al. 2009). Já são comercializados produtos contendo sequências peptídicas que atuam como anticancerígeno, anti-hipertensivos, que agem na ligação mineral, no aumento da saciedade e no alívio de sintomas do estresse (KORHONEN, 2009). Agyei et al. (2016) recomendam que peptídeos de origem alimentar sejam redirecionados para empregar como produtos comestíveis, na composição de bebidas lácteas ou suco de frutas.

A utilização de peptídeos bioativos em alimentos funcionais e bebidas, tanto para a suplementação proteica, quanto para a utilização clínica, tem aumentado significativamente. Em decorrência dos benefícios específicos de peptídeos associados à saúde, a produção global de hidrolisados de proteína pelas indústrias vem aumentando consideravelmente (RAO et al., 2012).

Os peptídeos bioativos são sequências de aminoácidos que se encontram inativas e após o processo de hidrólise, ficam ativas e se tornam capazes de alterar as respostas fisiológicas no organismo. A composição e a sequência do aminoácido interferem na funcionalidade do peptídeo. O tamanho pode variar de 2 a 20 resíduos de aminoácidos, muitos possuem propriedades multifuncionais. Podem-se relacionar algumas funções para estes peptídeos, como atividade, anti-hipertensiva, imunomoduladora, antimicrobiana e antioxidante (PARK, 2010; PIHLANTO; VIRTANEN; KORHONEN, 2010; MARTÍNEZ-MARQUEDA et al., 2013).

Os peptídeos apresentam funções bioativas, como pode ser observado na Figura 06, associados a atividades antiviral, antibacteriana, antifúngica, antioxidantes, antitrombóticas e opióide, além de favorecer a absorção de outros nutrientes como vitaminas e minerais (MILLS et al., 2011).

Figura 06 – Funcionalidade fisiológica dos peptídeos bioativos.



Fonte: Korhonen e Pihlanto (2007).

Esses peptídeos representam moléculas de grande interesse industrial, uma vez que, desempenham diversas funções fisiológicas dentro do organismo. Neste sentido, a caseína, apresenta-se como uma importante fonte de fornecimento destes peptídeos, os quais podem ser liberados através do processo de digestão gastrointestinal, durante o processamento de alimentos, ou através da via proteolítica de enzimas exógenas provenientes de microrganismos ou fontes vegetais (BAMDAD et al., 2011).

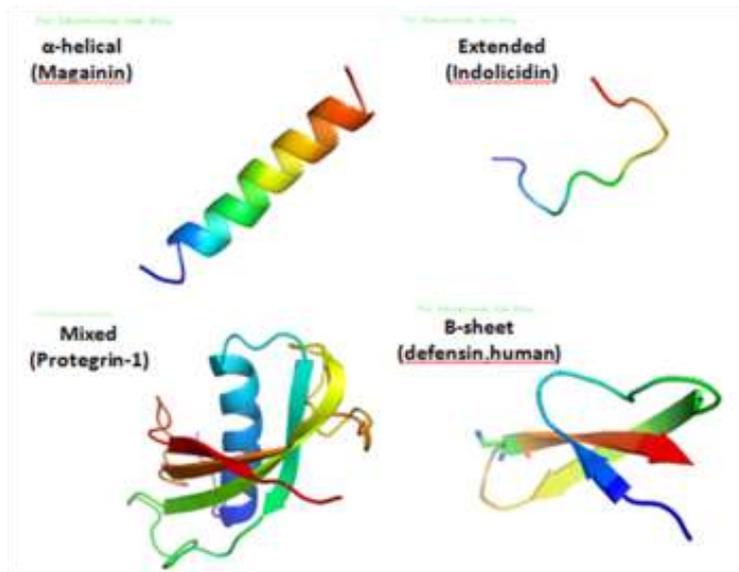
A Figura 05 apresenta o sistema proteolítico de BAL nas caseínas. Estas proteínas são responsáveis por cerca de 80% do total de proteínas presentes no leite, além de significarem de 3 à 3,5% do peso seco em comparação a todos os constituintes deste alimento. Representando uma proteína de alta qualidade nutricional, a caseína também corresponde a uma fonte rica de peptídeos com atividades biológicas, desempenhando funções importantes no sistema nervoso, cardiovascular, gastrointestinal e imune (AO; LI, 2013).

Os peptídeos hidrolisados da caseína, com atividades biológicas, apresentam principalmente ação inibitória contra a enzima conversora de angiotensina, atividade antimicrobiana e antioxidante (BRUNO et al., 2010; WU et al., 2013).

Os peptídeos antimicrobianos (PAMs) são geralmente moléculas catiônicas que interagem com os fosfolipídios aniônicos da membrana microbiana, conferindo seletividade aos mesmos. Podem atuar também com a capacidade de sinergia com antibióticos convencionais, sendo eficientes, como agentes antimicrobianos (PALUMBO et al., 2010).

Os catiões contém de 12 a 50 resíduos de aminoácidos. Estas moléculas podem retardar o crescimento de bactérias e possuem um papel importante no sistema de defesa de muitas espécies animais (WU et al., 2013). São classificados de acordo com seu desdobramento estrutural como α -hélice, folha- β , estendido e alça; e caracterizados de acordo com suas propriedades físico-químicas como carga, hidrofobicidade, sequência e anfipaticidade (PETERS et al., 2010). Algumas dessas estruturas podem ser observadas na Figura 07.

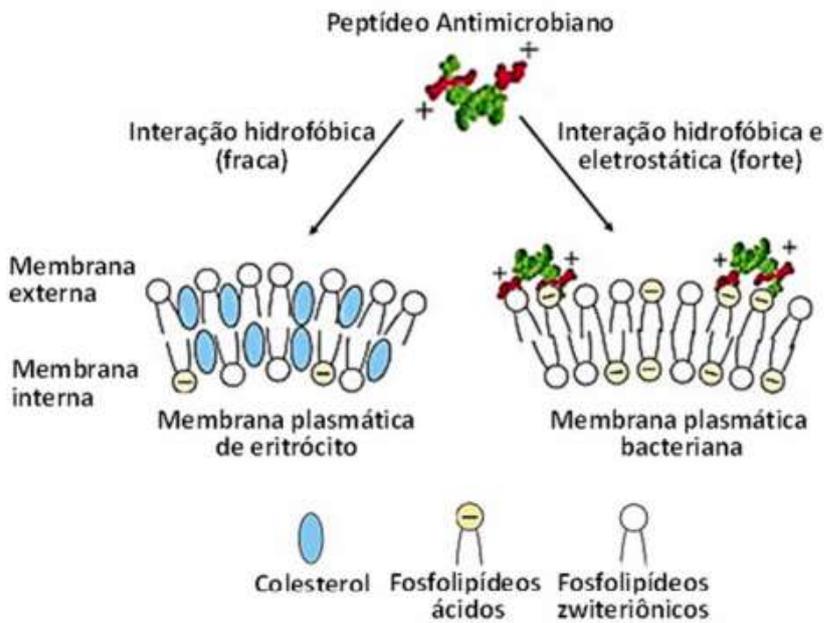
Figura 07 – Estruturas de peptídeos antimicrobianos



Fonte: ARAÚJO et. al., 2019.

Os PAMs adotam com frequência estruturas anfipáticas, com suas subunidades hidrofóbicas lado a lado, as quais correspondem a mais de 50% de seus aminoácidos constitutivos. Dessa forma, quando catiônicos e hidrofóbicos, tendem a ter maior facilidade em interagir e se inserir em paredes celulares aniônicas ou em membranas fosfolipídicas dos microrganismos (BROWN; HANCOCK, 2006), como pode ser observadas na Figura 08.

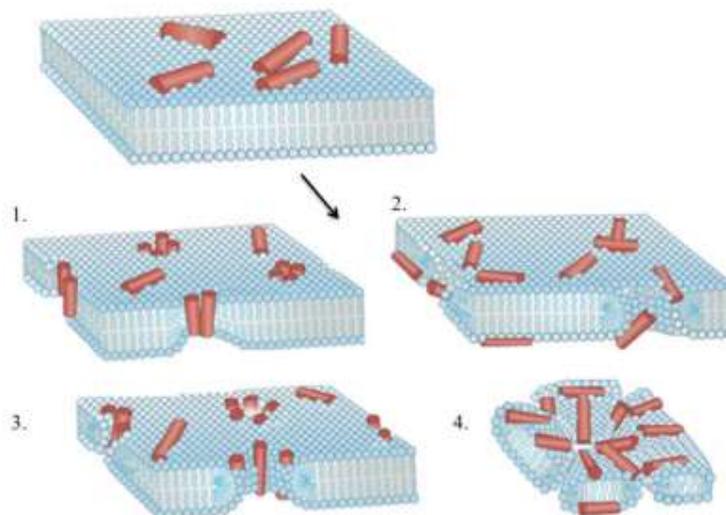
Figura 08 - Bases moleculares da seletividade dos PAMs.



Fonte: CARVALHO, MACHINI, 2013.

Esses peptídeos possuem sua atividade anti-microbiana relacionada com alteração na integridade da membrana celular através de interações eletrostáticas e hidrofóbicas, formando poros na membrana (HUANG; HUANG; CHEN, 2010). Este mecanismo pode ser observado na Figura 09.

Figura 09 – Representação dos modelos propostos para os mecanismos de ação dos peptídeos antimicrobianos sobre membranas biológicas. 1 – Modelo do barril; 2 – Modelo do agregado micelar; 3 – Modelo do poro toroidal e 4 – Modelo do tapete.



Fonte: MELO et al., 2009.

A capacidade de diminuição ou inibição do crescimento microbiano se deve a variação composicional de aminoácidos, as características estruturais e físico-químicas dos peptídeos, o que torna os mecanismos de ação difíceis de serem previstos e neutralizados pela defesa microbiana o que facilita a atuação dos PAMs sobre os diversos gêneros bacterianos (AKALIN, 2014).

Peptídeos antibacterianos derivados de caseína de diversas espécies já foram criptografados na proteína original, estes peptídeos provavelmente são derivados da fração α_1 e κ - caseína, que apresentam atividade antimicrobiana contra diversos generos bacterianos (BENKERROUM, 2010).

Os antioxidantes são substâncias capazes de inibir ou retardar a oxidação, atuando sob espécies reativas, impedindo sua ação (CORRÊA, 2013). A constante busca por antioxidantes naturais tem se estendido além das fontes tradicionais e vários estudos tem mostrados que peptídeos e hidrolisados de proteínas do leite podem possuir atividade antioxidante significativa (XUE et al., 2009).

O estudo de antioxidantes vem crescendo, principalmente dos relacionados aos alimentos, são relacionados a proteção do corpo humano contra radicais livres e retardar a evolução de doenças crônicas. Nos alimentos atuam reduzindo a oxidação lipídica (KADRI et al., 2011).

Peptídeos com atividade antioxidante são capazes de inativar espécies reativas de oxigênio, eliminar os radicais livres, quelar metais, reduzir hidroperóxidos e eliminar oxidantes específicos dos alimentos. Sendo utilizados como antioxidantes potencialmente multifuncionais, conferindo um aumento do valor nutricional das dietas. Fatores como, a fonte de proteína, tipo de enzima proteolítica e do processamento da hidrólise, são determinantes na composição de aminoácidos, sequência aminoacídica e conseqüentemente potencial de atividade antioxidante (BAMDAD et al., 2011).

Os peptídeos antioxidantes têm como mecanismo de ação a doação de um elétron de hidrogênio para inativação ou eliminação dos processos oxidativos e formação dos radicais livres evitando a ocorrência de fisiopatologias associadas ao estresse oxidativo ou elevando o tempo de vida útil em prateleira. Há diversos antioxidantes no mercado, sendo que, os sintéticos apresentam a desvantagem, que estão sob legislação específica o que restringe seu uso. Em virtude disso, os peptídeos alimentícios com capacidade antioxidantes têm merecido destaque, uma

vez que, apresentam alta capacidade antioxidante, disponibilidade e segurança (GU et al., 2015; LIU et al., 2015; MARQUES et al., 2015).

Os processos metabólicos do organismo sintetizam diversos radicais livres e algumas espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), o que ocasiona uma sobrecarga no sistema de defesa à oxidação enzimática ou não enzimática, implicando na ocorrência ou iniciação de diversas patologias crônicas associadas, doenças cardiovasculares, neoplasias, diabetes mellitus, doenças oculares e distúrbios neurodegenerativos, ou na progressão das mesmas (KETNAWA et al., 2016; HARNEDY; O'KEEFFE; FITZGERALD, 2017).

Esse estresse oxidativo decorrente das ERO e ERN advém tanto do ambiente endógeno quanto do exógeno, podendo atuar em macromoléculas importantes, como o DNA, o RNA e outras moléculas como as proteínas e os lipídeos (oxidação lipídica em alimentos). Todavia, os impactos nos ácidos nucleicos apresentam maior importância biológica, uma vez que podem gerar desordem nas bases nitrogenadas e consequente mutação gênica (BARREIROS; DAVID, 2006; ZHANG et al., 2010; ZHUANG et al., 2013; KETNAWA et al., 2016).

Os peptídeos bioativos antioxidantes atuam na inibição das reações oxidativas levando a proteção da célula contra a ação destrutiva dos radicais livres (ERO e ERN), bem como no aumento da vida de prateleira de produtos alimentícios devido a inibição da peroxidação lipídica e de algumas reações que levam a deterioração de alimentos (SHANMUGAM et al., 2015; ZAMBROWICZ et al., 2015) , o que gera grande impacto econômico (BARREIROS et al., 2006; LOBO et al., 2010).

O potencial antioxidante pode ser avaliado em laboratório considerando a eliminação de radicais como por exemplo o radical hidroxila (ZHU et al., 2006), superóxido (BAMBAD et al., 2017), superóxido por eliminação do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (DUAN et al., 2016) e ABTS (2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (HERNANDEZ-LEDESMA et al., 2005), bem como a quelação de íons metálicos como cobre, zinco ferro e cálcio (SAIGA et al., 2005; SÁNCHEZ-VIOQUE et al., 2012).

O desenvolvimento de novos produtos com propriedades bioativas é relevante, tendo em vista, o conhecimento sobre os peptídeos bioativos e as características nutricionais do leite caprino.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, **Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional ou de Saúde**, Resolução RDC nº 2, 7 de janeiro de 2002.

AGYEI, D., E M. K. DANQUAH, Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides. **Biotechnol. Adv.** V.29, p.272–277, 2011.

AKALIN, A. S. Dairy-derived antimicrobial peptides: Action mechanisms, pharmaceutical uses and production proposals. **Trends in Food Science & Technology**, v. 36, n. 2, p. 79-95, 2014.

ALBENZIO, M. et al. Differences in protein fraction from goat and cow milk and their role on cytokine production in children with cow's milk protein allergy. **Small Ruminant Research**, v. 105, n.1-3, p.202-205, 2012.

ANDRADE, N. P. C.; PEIXOTO, R. M.; NOGUEIRA, D. M.; KREWER, C. C.; COSTA, M. M. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* spp. coagulase negativa de um rebanho leiteiro caprino em Santa Maria da Boa Vista – PE. **Medicina Veterinária**. v.6, p.1-6, 2012.

ANTUNES, A. E. C.; CAZETTO, T. F.; CARDELLO, H. M. A. B. Iogurtes desnatados probióticos adicionados de concentrado protéico do soro de leite: perfil de textura, sinerese e análise sensorial. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 2, p. 105-114, 2007.

AO, J., & LI, B. Stability and antioxidative activities of casein peptide fractions during simulated gastrointestinal digestion in vitro: Charge properties of peptides affect digestive stability. **Food Research International**, 52, 334–341, 2013.

ARAÚJO, D.F.S., ASSIS, P.O.A. RODRIGUES, R.A.V., GUERRA, G.C.B., QUEIROGA, R.C.R.E., Produtos lácteos caprinos: constituintes e funcionalidade **Braz. J. Hea. Rev.**, Curitiba, v. 2, n. 1, p. 536-556, jan./feb. 2019.

AROURI, A.; DATHE, M. BLUME, A. Peptide induced demixing in PG/PE lipid mixtures: A mechanism for the specificity of antimicrobial peptides towards bacterial membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, 2009.

BAMDAD, F. et al. Anti-Inflammatory and antioxidant properties of casein hydrolysate produced using high hydrostatic pressure combined with proteolytic enzymes. **Molecules**, v. 22, n. 4, p. 609, 2017.

BENKERROUM, N. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: a survey and prospects for application in the food industry. A review. **Int J Dairy Technol.** V.63, p.320-338, 2010.

BIELECKA, M.; BIEDRZYCKA, E.; MAJKOWSKA, A.; JUSKIEWICZ, J.; WRÓBLEWSKA, M. Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosytem in rats. **Food Reserch International**, v. 35, p. 139-144, 2002

BRASIL, 2011 Instrução Normativa n. 62 de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

BRASIL. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de leites Fer. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 de novembro de 2000.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisLegislacaoFederal>>. Acesso em: 10 de outubro de 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.37 de 31 de outubro de 2000**. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 8 de novembro de 2000.

BROGDEN, K. A. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, p. 238-250, 2005.

BRUNO, M. A., C. M. LAZZA, M. E. ERRASTI, L. M. I. LÓPEZ, N. O. CAFFINI, E M. F. PARDO, Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits. **Food Sci. Technol.**, v. 43, p.695-701, 2010.

BROWN, K. L.; HANCOCK, R. E. Cationic host defense (antimicrobial) peptides. **Current Opinion in Immunology**, v. 18, p. 24-36, 2006.

BUENO, M.C. Leite de cabra: excelente alimento funcional. **Revista Leite e Derivados**. n.83, p.52, 2005.

CARRASCO-CASTILLA, J. et al. Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1789–1795, 2012.

CHANG, O. K. et al. S. Casein hydrolysis by *Bifidobacterium longum* KACC91563 and antioxidant activities of peptides derived therefrom. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 5544-5555, 2013.

CORRÊA, A. P. F. Obtenção de peptídeos bioativos a partir da hidrólise enzimática de caseinato ovino e soro de queijo ovino. Tese de Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2013, p. 20.

CONNOLLY, A.; PIGGOTT, C. O.; FITZGERALD, R. J. In vitro α -glucosidase, angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase-IV inhibitory properties of brewers' spent grain protein hydrolysates. **Food Research International**, v. 56, p. 100-107, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Conjuntura Trimestral Caprino-Ovinocultura Pernambuco, 2016. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_07_29_16_55_32_caprino_vinocultura_-_jun_2016_-sureg_pe.pdf> . Acesso em: 18/07/2018.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, St-Hyacinthe, v. 45, n. 1, p. 61-84, 2005.

CIZEIKIENE, D. et al. antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. **Food Control**, v. 31, n. 2, p. 539-545, 2013.

DE VUYST e LEROY, Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. **J Mol Microbiol Biotechnol**; v.13, p.194-9, 2007.

DE DEA LINDNER, J.; CANCHAYA, C.; ZHANG, Z.; NEVIANI, E.; FITZGERALD, G. F.; SINDEREN, D. V.; VENTURA, M. Exploiting bifidobacterium genomes: the molecular basis of stress response. **International Journal of Food Microbiology**, v. 120, n. 1/2, p. 13-24, 2007.

DOBBS, C. M.; BELL, L. N. Storage stability of lactose in buffer solutions of various compositions. **Food Research International**, v. 43, p. 382-386, 2010.

EL-AGAMY, E. The challenge of cow milk protein allergy. **Small Ruminant Research**. v.68, p.64-72, 2007.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Summary of Food and Agriculture Statistics 2013. Disponível em : <<http://www.fao.org>> acessado em 15 de Outubro de 2017.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Summary of Food and Agriculture Statistics 2016. Disponível em : <<http://www.fao.org>> acessado em 12 de Março de 2019.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO statistical database. 2012. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 13 de julho de 2017.

FARIA, C. P.; BENEDET, H. D.; LE GUERROUE, J. L. Parâmetros de produção de leite de búfala fermentado por *Lactobacillus casei*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.3, p.511-516, 2006.

FARRAR, J. L.; HARTLE, D. K.; HARGROVE, J. L.; GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans: inhibition of protein glycation. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 8, p. 1052-1056, 2008.

FERREIRA, E. H. R.; CABRAL, J. R. A.; NARDELLI, P. M. Alimentos funcionais: mercado, regulamentação e benefícios à saúde. **Leites e Derivado**, n. 113, ano 18, jul. 2009.

FREITAS, A. C. et al. Antioxidative peptides: Trends and perspectives for future research. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 36, p. 4575-4594, 2013.

GALISTEO, M.; DUARTE, J.; ZARZUELO, A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. **Journal Nutricion Biochemycal**, v. 19, n. 2, p. 71-84, 2008.

GARCÍA, V. et al. Improvemets in goat milk quality: A review. **Small Ruminat Research**, v.1, n.1, p. 51–57, 2014.

GIL-CHÁVEZ, G. et al. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5-23, 2013.

GONZALÉZ, L. et al. Enzymatic activity of lactic acid bacteria (with antimicrobial properties) isolated from a traditional Spanish cheese. **Food Microbiology**, v. 27, p. 592-597, 2010.

GONZALEZ, N.J.; ADHIKARI, K.; SANCHO-MADRIZ, M. F. Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and synbiotics. **LWT- Food Science and Technology**, v. 44, p. 158-163, 2011.

GU, M. et al. Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 213 -220, 2015.

GUEIMONDE, M. SALMINEN, S. New methods for selecting and evaluating probiotics. **Digestive and Liver disease**, v.38, suppl.2, p. 242-247, 2006.

HAMILTON-MILLER, J. M. T. Probiotics and prebiotics in the elderly. *Postgrad. Medicine Journal*, v.80, p.447-451, 2004.

HARNEDY, PÁDRAIGÍN A.; O'KEEFFE, Martina B.; FITZGERALD, Richard J. Fractionation and identification of antioxidant peptides from an enzymatically hydrolysed *Palmaria palmata* protein isolate. **Food Research International**, v. 100, p. 416-422, 2017.

HARTMANN, R.; MEISEL, H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 18, p. 163-169, 2007.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B.; RAMOS, M.; GÓMEZ-RUIZ, J. A. Bioactive components of ovine and caprinecheese whey. **Small Ruminat Research**, v.101, p.196-204, 2011.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, BLANCA; DEL MAR CONTRERAS, MARÍA; RECIO, Isidra. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 165, n. 1, p. 23-35, 2011.

HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Revision Introduction**, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção da Pecuária Municipal. v.43, p.23, 2017. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em 05/05/18.

JABBARI, S.; HASANI, R.; KAFILZADEH, F.; JANFESHAN, S. Antimicrobial Peptides from Milk Proteins: **A Prospectus. Scholars Research Library**, v. 3, n.11, p. 5313 -5318. 2012.

KADRI, A.; CHOBBA, I. B.; ZARAI, Z.; BÉKIR, A.; GHARSALLAH, N.; DAMAK, M.; GDOURA, R. Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 2923–2929, 2011.

KAMYSZ, W.; TURECKA, K. Antimicrobial preservative effectiveness of natural peptide antibiotics. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 62, p. 341-344, 2005.

KETNAWA, S. et al. Gelatin hydrolysates from farmed Giant catfish skin using alkaline proteases and its antioxidative function of simulated gastro-intestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 192, p. 34-42, 2016.

KORHONEN, H. J. Bioactive Components in Bovine Milk. In: Park, Y. W. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. **Iowa: Wiley-Blackwell**, p. 15-42, 2009a.

KORHONEN, H. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. **Journal of Functional Foods**, p. 177-187, 2009b.

KORHONEN, H.; PIHLANTO, A. Bioactive peptides from food proteins . In: **Handbook of Food Products Manufacturing**. HUI, Y.H. eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ . pp. 5–37, 2007.

LEPORANTA, K. Developing fermented milks into functional foods. *Innov.* **Food Technology**, v.10, p. 46–47, 2015.

LIMA, C.D.L.C. et al. Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.1, 2009.

LIU, J. et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from egg white protein and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 175, p. 258-266, 2015.

LOBO, V. et al. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118, 2010.

LÖNNERDAL, B. Bioactive proteins in human milk: mechanisms of action. **Journal of Pediatrics**, v. 156, p. 26–30, 2010.

MACEDO, L. N.; LUCHESE, R. H.; GUERRA, A. F.; BARBOSA, C.G. Efeito prebiótico do mel sobre o crescimento e viabilidade de *Bifidobacterium* spp. E *Lactobacillus* spp. em leite. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n.4, p. 935-942, 2008.

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

MAGGI, M. et al. Effects of the organic acids produced by a lactic acid bacterium in *Apis mellifera* colony development, *Nosema ceranae* control and fumagillin efficiency. **Veterinary Microbiology**, v. 167, n. 3-4, p. 474-483, 2013.

MARTÍNEZ-MARQUEDA, D.; MIRALLES, B.; CRUZ-HUERTA, E.; RECIO, I. Casein hydrolysate and derived peptides stimulate mucin secretion and gene expression in human intestinal cells. **International Journal Dairy**, v. 32, p. 13-19, 2013.

MARQUES, R.M. et al. Peptides from cowpea present antioxidant activity, inhibit cholesterol synthesis and its solubilisation into micelles. **Food Chemistry**, v.168, p.288-293, 2015.

MEDEIROS, F. O. et al. Ondas ultrassônicas de vidro: um novo método de extração de beta-galactosidase para uso em laboratório. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 336-339, 2008.

MORELLI, L. Yogurt, living cultures, and gut health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, p. 1248S-1450S, 2014.

MILLS, S. et al. Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. **International Dairy Journal**, v. 21, p.377- 401, 2011.

NIELSEN, D.S. et al. *Lactobacillus ghanensis* sp. nov., a motile lactic acid bacterium isolated from Ghanaian cocoa fermentations. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 57, 1468-1472, 2007.

ODILON, L.L. Com crescente aumento do consumo, setor de embalagens lácteas se torna promissor. **Revista Leite e Derivados**, ano XI, nº 61, novembro/dezembro 2011.

OHR, L M. Improving the gut feeling. **Food Technology**, v. 56, n. 10, p. 67-70, 2002.

OLIVEIRA, M. N.; DAMIN, M. R. Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, firmeza e viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 23, p. 172-176, 2003.

PARK, A. R.; OH, D. K. Galacto-oligosaccharide production using microbial beta-galactosidase: current stage and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 85, n. 5, p. 1279-1286, 2010.

PALUMBO, D.; IANNACCONE, M.; PORTA, A.; CAPPARELLI, R. Experimental antibacterial therapy with puriindolines, lactoferrin and lysozyme in *Listeria monocytogenes*-infected mice. **Microbes and Infection**, v. 12, p. 538-545, 2010.

PELLEGRINI, A. Antimicrobial peptides from food proteins. Current **Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 1225 – 1238, 2003.

PICARD, C.; FIORAMONTI, J.; FRANCOIS, A.; ROBINSON, T.; NEANT, F.; MATUCHANSKY, C. Bifidobacteria as a probiotic agents – physiological effects and clinical benefits. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 22, n. 6, p. 495-512, 2005.

PIHLANTO, A.; VIRTANEN, T.; KORHONEN, H. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 3–10, 2010.

PRATA L.F.; PRATA C.B., Determinação de gmp e cmp* no leite por métodos espectrofotométrico (ansm) e cromatográfico (hplc) – parâmetros metodológicos (*glicomacropéptido e caseinomacropéptido), **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.2, p.29-39, 2012.

POSECION, N. C. et al. The development of a goat's milk yogurt. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p.1909-1913, 2005.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A.; OKSMAN-CALDENTY, K.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 1, p. 3-11, 2002.

QUEIROGA, R. C. R. E.; SANTOS, B. M.; GOMES, A. M. P.; MONTEIRO, M. J.; TEIXEIRA, S. M.; SOUZA, E. L.; PEREIRA, C. J. D.; PINTADO, M. M. E. Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. **Food Science and Technology**. v.50, p.538-544, 2013.

RANADHEERA, C. S., EVANS, C. A., ADAMS, M., & BAINES, S. K. Co-culturing of probiotics influences the microbial and physico-chemical properties but not sensory quality of fermented dairy drink made from goats' milk. **Small Ruminant Research**, v.136, p. 104–108, 2016.

RAIKOS, V.; DASSIOS, T. Health-promoting properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review. **Dairy Science & Technology**, v. 94, n. 2, p. 91-101, 2014.

RYAN, J. T. et al. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. **Nutrients**, v. 3, n. 9, p. 765-791, 2011.

RONCADA, P.; PIRAS, C.; SOGGIU, A.; TURK, R.; URBANI, A.; BONIZZIC, L. Farm animal milk proteomics. **Journal of Proteomics**, v. 75, p. 4259-4274, 2012.

RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO, S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**. v89, p.225-233, 2017.

RINCON-DELGADILLO, M. I. et al. Diacetyl levels and volatile profiles of commercial starter distillates and selected dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 3,p. 1128-1139, 2012.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**, v. 27, p.1-11, 2010.

ROBERFROID, M. B. Introducing inulin-type fructans. **Journal Nutricion**, v.93, suppl.1, p.S13-S25, 2005.

ROBERFROID, M. B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 137, n. 11, p. 2493S-2502S, 2007.

ROBERFROID, M.B. Global view on functional foods: Eoruepan perspectives. **Critish Journal of Nutrition**, v. 88: p133-p138. 2002.

RUSS, A. et al. Post-weaning effects of milk and milk components on the intestinal mucosa in inflammation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 690, p. 64-70, 2010.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 1., p.1-16, 2016.

SANTOS, B. M.; OLIVEIRA, M. E. G.; SOUSA, Y. R. F.; MADUREIRA, A. R. M. F. M.; PINTADO, M. M. E.; GOMES, A. M. P.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v.70, n.3, p.302-310, 2011.

SARMADI, B. H.; ISMAIL, A. Antioxidative peptides from food proteins: a review. **Peptides**, v. 31, n. 10, p. 1949-1956, 2010.

SETTANNI, L. et al. Selected lactc acid bacteria as a hurdle to the microbial soilage of cheese: Application on a traditional raw ewes' milk cheese. **International Dairy Journal**, v. 32, n. 2, p. 126-132, 2013.

SHANMUGAM, V. P. et al. Antioxidative peptide derived from enzymatic digestion of buffalo casein. **International Dairy Journal**, v. 42, p. 1-5, 2015.

SINGH, B.P.; VIJ, S.; HATI, S.. Funtional significance of bioactive peptides derived from soybean. **Peptides**, v. 54, p. 171- 179, 2014.

SMACCHI, E. ; GOBBETTI, M. Bioactive peptides in dairy products: Synthesis and interaction proteolytic enzymes, **Food Microbiology** v.17, n.2, p.129-141, 2016.

STANTON, C.; ROSS, R.P.; FITZGERALD, G.F.; VAN SINDEREN, D. Fermented functional foods base don probiotics and their biogenic metabolites. **Curret Opinion in Biotechnology**, v.16, p. 189-203, 2005.

STROOBANTS, K.; HO, P. H.; MOELANTS, E.; PROOST, P.; PARAC-VOGT, T. N. Selective hydrolysis of hen egg white lysozyme at Asp-X peptide bonds promoted by oxomolybdate. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 136, p. 73-80, 2014.

SLAČANAC, V.; BOŽANIĆ, R.; HARDI, J.; SZABÓ, J. R.; LUČAN, M.; KRSTANOVIĆ, V. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. **International Journal of Dairy Technolog**. v.63, n.2, p.171-189, 2010.

STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Challenges facing development of probiotic-containing functional foods. In: FARNWORTH, E.R., ed. **Handbook of fermented functional foods**. Boca Raton: CRC Press, p. 27-58, 2003.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, p. 1262-1277, 2007.

SOCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. D. S.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGISHI, C. T.; DE DEA LINDNER, J.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCOL, V. The potential of the probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413, 2010.

TOLDRÁ, Fidel et al. Generation of bioactive peptides during food processing. **Food Chemistry**, 2017.

VAN DENDER, A. G. F.; BOSI, M. G.; CONRADO, P. B. Fibra alimentar e a sua utilização na fabricação de produtos lácteos funcionais. **Leite e Derivados**, v. 14, n. 82, p. 107-115, 2005.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v.18, p. 714– 728, 2008

XIE, N.; WANG, C.; AO, J.; LI, B. Non-gastrointestinal-hydrolysis enhances bioavailability and antioxidant efficacy of casein as compared with its in vitro gastrointestinal digest. **Food Research International**, v. 51, p. 114-122, 2013.

XUE, Z.; YU, W.; LIU, Z.; WU, M.; KOU, X.; WANG, J. Preparation and antioxidative properties of a rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate and three peptide fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 5287–5293, 2009.

ZHU, K.X.; ZHOU, H.M.; QIAN, H.F. Antioxidant and free radical-scavenging activities of wheat germ protein hydrolysates (WGPH) prepared with alcalase. **Process Biochemistry**. v.41, p.1296–1302, 2006

ZHUANG, H., N. TANGA, E Y. YUAN. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. **J Funct Foods**. V.5, p.1810-1821, 2013

WU, S.; QI, W.; LI, T.; LU, D.; SU, R.; HE, Z. Simultaneous production of multi-functional peptides by pancreatic hydrolysis of bovine casein in an enzymatic membrane reactor via combinational chromatography. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2944-2951, 2013.

WEINBRECK, F.; BODNAR, I.; MARCO, M.L. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products? **International journal of food microbiology**, v. 136, p. 368-367, 2010.

Objetivos

4 – OBJETIVOS

4.1 Geral

Desenvolver uma coalhada com potencial simbiótico formulada com leite caprino e polpa de maracujá (*Passiflora edulis*) e avaliar a bioatividade de seus extratos peptídicos.

4.2. Objetivos específicos

- Desenvolver coalhadas a base de leite de cabra fermentadas por probióticos e com adição de frutooligossacarídeos;
- Caracterizar por análises físico-químicas as coalhadas formuladas;
- Analisar o padrão microbiológico e sensorial das coalhadas formuladas;
- Identificar o perfil de peptídeos solúveis das coalhadas formuladas;
- Avaliar a capacidade antioxidante e antimicrobiana dos peptídeos solúveis extraídos;

CAPÍTULO I

**ESTABILIDADE COMERCIAL E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE COALHADA
COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE CAPRINO SABOR
MARACUJÁ (*Passiflora Edulis*)**

A SER SUBMETIDO A

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN 0102-0935



QUALIS:A2

FATOR DE IMPACTO: 0.1009

ESTABILIDADE COMERCIAL E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE COALHADA COM POTENCIAL SIMBIÓTICO FORMULADA COM LEITE CAPRINO SABOR MARACUJÁ (*Passiflora Edulis*)

ARRUDA, H.A.S.¹, XAVIER, V.L.²; LIMA, M.S.F.¹; SOUZA, K.M.S.¹; PORTO, A.L.F.³

¹ Discente do Programa de Pós Graduação em Biociência Animal – UFRPE

² Docente do Curso de Nutrição - UFPE

³ Docente do Programa de Pós Graduação em Biociência Animal – UFRPE

RESUMO

O consumo elevado de produtos lácteos é benéfico para a manutenção da saúde. Esse efeito é atribuído, em parte, às bactérias ácido-lácticas, que são capazes de transformar o leite em alimento funcional. O presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade comercial e aceitabilidade sensorial de coalhada com potencial simbiótico formulada com leite caprino sabor maracujá (*Passiflora Edulis*). Para elaboração das coalhadas foi avaliada a influência da quantidade de frutooligossacarídeo sobre os atributos sensoriais aroma, cor, textura, sabor e avaliação global na elaboração de coalhada simbiótica sabor maracujá. Antes da realização das análises sensoriais, as coalhadas foram submetidas a análises microbiológicas para atestar a qualidade higiênica sanitária, assim como foram realizadas análises físico-químicas: pH, acidez total titulável, proteínas, lipídeos, açúcares, umidade e minerais. Para as formulações avaliadas houve estabilidade desses parâmetros analisados, ao longo do armazenamento, ocorrendo pequenas variações nos teores de umidade, cinzas, acidez, pH, e açúcares totais. Considerando o padrão para coliformes a 30°C e 45°C e bolores e leveduras, durante o período de armazenamento de 28 dias, não se verificou contaminação para estes grupos, em todas as amostras analisadas e nos tempos avaliados. Exibindo também uma avaliação microbiológica de qualidade, as contagens de bactérias com potencial probiótico apresentaram valores de 10^8 – 10^{13} . Apresentaram boa aceitação sensorial em relação a todos os atributos analisados. A partir dos resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que as coalhadas se mantiveram estáveis ao longo dos 28 dias de estocagem Tornando as coalhadas produtos com potencial de mercado e agentes promotores de benefícios para a saúde de seus consumidores.

Palavra-chave: Fermentação, análise sensorial, produtos lácteos

1 - INTRODUÇÃO

A produção de leite e derivados no Brasil é considerada uma atividade importante na geração de renda, tributos e empregos, além do suprimento de alimentos. A criação de cabras leiteiras vem crescendo, pela geração de diferentes alimentos e renda para os pequenos produtores. Este tipo de leite em comparação

com o de vaca possui menores micelas de caseína e glóbulos de gordura, maior quantidade de vitaminas A e B, e maior proporção de ácidos graxos de cadeia curta e média, o que o torna matéria prima interessante para produção de derivados lácteos (CATUNDA et al., 2016).

Os produtos lácteos bastante utilizados pela população brasileira, em 2016 tiveram uma produção total de 485.000 toneladas, em especial os queijos e coalhadas, apresentaram um total de 2.553 toneladas exportadas e 27.460 importadas (FAO, 2016).

Derivados lácteos, especialmente leites fermentados, obtiveram grande aumento de produção e comercialização em todo mundo, devido a maior aceitação pelo consumidor. Fato este confirmado por Alvim et al. (2016) ao verificar a importância relativa do produto lácteo no contexto do agronegócio nacional que observou o aumento de produção desses produtos de 248% contra 78% de todos os outros segmentos.

O consumo elevado de produtos lácteos é benéfico para a manutenção da saúde. Esse efeito é atribuído, em parte, às bactérias ácido-láticas, estas são dotadas de propriedades benéficas (ALVES et al., 2009), como também as probióticas, tais como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, têm sido incorporadas à leites fermentados a fim de atribuir a esses produtos qualidades de alimento funcional (SAAD, 2016).

Esses produtos que são classificados como alimentos funcionais representam grande área de estudo em todo o mundo e um mercado promissor. O volume de vendas global de alimentos funcionais foi de 90 bilhões de dólares em 2013 e 120 bilhões em 2016 (SAAD, 2016). De acordo com estimativas, o mercado brasileiro de produtos funcionais cresce cerca de 20% ao ano (GALLINA, 2017).

Dentre os diversos alimentos funcionais encontrados no mercado, há um importante leite fermentado consumido no Brasil que é a coalhada, oriunda da fermentação do leite, por bactérias específicas, individuais ou mistas, mesófilas, produtoras de ácido láctico (BRASIL, 2007). No passado quase que totalmente fabricada artesanalmente, vem ganhando espaço na indústria e no paladar dos consumidores (LINDNER; PANDEY; THOMAZ-SOCCOL, 2010).

A coalhada é, um leite fermentado, que fundamentalmente difere do iogurte pela microbiota que a compõe, possuindo crescimento ótimo na faixa de temperatura de 18 a 35°C, composta normalmente por *Lactococcus lactis subsp. cremoris*,

Lactococcus lactis subsp. *lactis*, *Lactococcus diacetylactis*, algumas vezes combinadas com *Lactobacillus acidophilus* (BRASIL, 2007).

A savorização desses produtos com frutas é bastante utilizada no Brasil, e como o maracujá (*Passiflora edulis*) é um dos frutos mais consumidos, destacando esse país como principal produtor do fruto, com cerca de 90% da produção mundial, podendo ser consumido *in natura* ou industrializado e tem excelente aceitação entre os consumidores (IBGE, 2011).

Diante do exposto a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a estabilidade comercial e aceitabilidade sensorial de coalhada com potencial simbiótico formulada com leite caprino sabor maracujá (*Passiflora Edulis*).

2 - MATERIAL E MÉTODOS

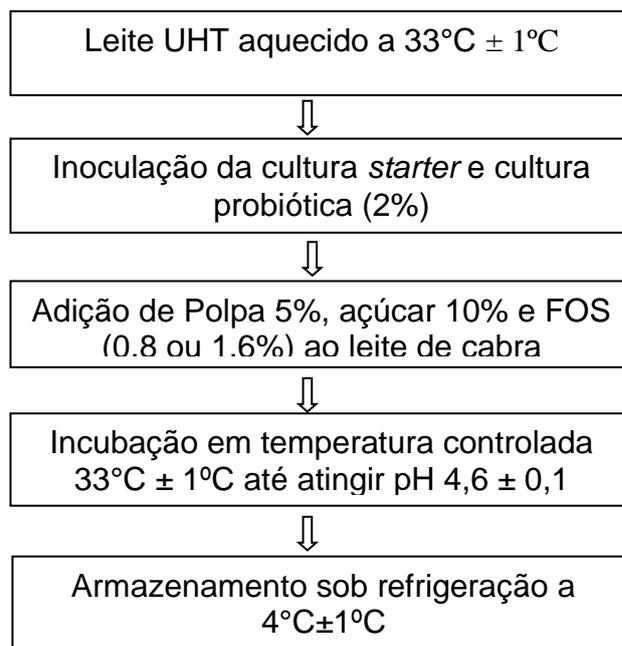
2.1 Obtenção e preparo do material

Foram utilizados frutos de maracujá (*Passiflora edulis*); açúcar cristal refinado (União); leite caprino UHT (Caprilat); provenientes do comércio local na cidade do Recife-PE; cultura probiótica (Docina®) com cepas probióticas de *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus diacetylactis* na proporção de 1:1, cultura *starter* (Bio-Rich®) com cepas de *Bifidobacterium Bb 12*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus* e frutoligosacarídeo (FOS) (Invictus Pharma®). Para obtenção da polpa de maracujá, foram seguidas as etapas: seleção, lavagem com água corrente, sanitização com solução de água clorada a 20ppm, despulpamento, e pesagem.

2.2 Elaboração das coalhadas sabor maracujá

As formulações foram desenvolvidas no laboratório de tecnologia de bioativos (LABTECBIO) de acordo com as etapas descritas na Figura 1.

Figura 01: Fluxograma de elaboração para Coalhadas simbióticas sabor maracujá.



As culturas microbianas foram preparadas a partir de bactérias liofilizadas. Duas culturas concentradas para inoculação direta foram utilizadas: uma cultura *starter* contendo *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis* (Docina®) e outra contendo os microrganismos probióticos *Bifidobacterium Bb 12*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus acidophilus LA-5* (Bio-Rich®).

Para preparo da cultura *starter*, um grama de cada cultura (contendo $1,0 \times 10^6$ UFC g⁻¹ de cada um dos quatro microrganismos) foi inoculado em 1000 ml de leite de cabra UHT desnatado.

Foram desenvolvidas duas formulações, Formulação 1 (F1) com 8g de frutooligossacarídeo – FOS/ 1000 ml de leite caprino e a formulação 2 (F2) com 16g de frutooligossacarídeo - FOS/ 1000 ml caprino, após a fermentação, estas foram mantidas em refrigeração a 4°C, para posteriormente serem submetidas à análises microbiológicas, avaliação sensorial, determinação do pH e acidez.

2.3 – Análises microbiológicas

Antes da realização das análises sensoriais e físico-químicas, as coalhadas foram submetidas a análises microbiológicas para atestar a qualidade higiênica sanitária. Para determinação de *Coliformes totais*, *Escherichia coli*, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, foi realizado o método rápido com a utilização de placas Petrifilm com meios de cultura seletivos (AOAC, 2003).

Para enumeração de *Lactobacillus sp.*(*Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus* e *Lactobacillus acidophilus LA-5*), *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* e *Bifidobacterium Bb 12* foi utilizado o meio de cultura formulado Agar HHD (homofermentative heterofermentative diferencial médium) por plaqueamento em superfície, com incubação em estufa com temperatura controlada de 37°C ± 1°C por 72hs ± 2hs em anaerobiose (AOAC, 1995). Neste meio as colônias eram identificadas por diferenças na morfologia e coloração das colônias, onde as colônias de *Lactobacillus sp.* apresentavam-se grandes com centro azul e circunferência branca, as de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* apresentavam-se como colônias azuis e as de *Bifidobacterium Bb 12* apresentavam-se como colônias brancas.

Essas análises foram realizadas, em triplicata, com quatro repetições, de acordo com metodologia descrita por MAPA (BRASIL, 2003; BRASIL, 2005, AOAC, 2002).

2.4 - Análises físico-químicas

Nas coalhadas, foram realizadas análises físico-químicas: pH, acidez total titulável, proteínas (método de Kjeldahl), lipídeos (método de Gerber), açúcares, umidade (método termogravimétrico em estufa a 105°C) e cinzas (método termogravimétrico em mufla a 550°C) (AOAC 2002).

2.5 - Vida de prateleira da coalhada

Para avaliar a vida de prateleira da coalhada, no período de 28 dias a 4°C, foram analisados a acidez titulável (g / L) e o pH de todas as amostras. O pH foi medido usando um analisador de pH (Hanna Instruments Inc., modelo HI 2210, Woonsocket, RI, EUA). A acidez foi determinada e expressa em gramas de ácido láctico por litro de produto.

2.6 - Avaliação sensorial das formulações

Para realização da análise sensorial o projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade de Pernambuco (UPE), nº do CAAE: 01091618.2.0000.5207 e nº do parecer: 3.277.246 (Anexo 1).

As formulações de coalhadas foram avaliadas no laboratório de análise sensorial de alimentos no Centro Universitário Maurício de Nassau (UNINASSAU),

por 78 provadores, não treinados, de ambos os sexos, maiores de 18 anos e que apreciavam coalhada. Quanto aos provadores (n = 78; 46 mulheres – 59%, 32 homens – 41%), com idade variando de 18 a 43 anos.

Foi utilizado teste de aceitação com escala hedônica estruturada de 9 pontos, onde 9 representa “gostei muitíssimo” e 1 “desgostei muitíssimo” (Minim, 2006). Os atributos avaliados foram aroma, cor, textura, sabor e avaliação global.

Os provadores receberam aproximadamente 40 mL de cada amostra com temperatura entre 4 - 8°C em potes de polietileno com capacidade para 50 mL, codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhadas de água e bolacha para limpeza do palato, a avaliação sensorial foi realizada em cabines individuais com luz branca artificial, como pode ser observado na figura 02.

Figura 02 – Análise sensorial de coalhadas caprinas simbióticas sabor maracujá.



A análise sobre intenção de compra foi realizada utilizando a escala de 5 pontos (1 - jamais compraria a 5 - compraria).

Calculou-se o índice de aceitabilidade (IA) para cada um dos atributos avaliados de acordo com Teixeira; Meinert; Barbeta (1987).

(Equação 1): $IA (\%) = Y \times 100/Z$

Onde: Y = nota média obtida para o produto; Z= Nota máxima obtida

2.7 - Métodos estatísticos

Os dados foram avaliados pela ANOVA, utilizando-se teste de Duncan para comparação de médias a 5% de significância. Resultados das análises sensoriais e físico químicas foram realizadas de acordo com programa computacional Statistica for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004), adotando-se nível de significância de 5% de probabilidade.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas estão apresentados na Tabela 01.

Tabela 1. Análises físico-químicas de coalhadas Caprinas sabor maracujá durante 1º ao 28º dias de estocagem refrigerada.

Análises físico-químicas	1º Dia		7º Dia		14º Dia		21º Dia		28ºDia	
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 1	Ensaio 2
Umidade (%)	13,40±0,03Ab	12,41±0,25Bc	13,46±0,01Ab	13,17±0,01Bb	13,67±0,17Ab	13,33±0,02Ab	14,23±0,16Aa	14,00±0,00Aa	14,38±0,09Aa	14,02±0,01Ba
Cinzas (g/100g)	0,75±0,03Aa	0,71±0,01Ac	0,76±0,01Aa	0,750±0,01Ab	0,77±0,01Aa	0,785±0,01Aa	0,740±0,01Aa	0,780±0,00Aa	0,765±0,02Aa	0,78±0,014Aa
Proteínas (g/100g)	3,10±0,14Aa	3,10±0,14Aa	3,22±0,08Aa	3,17±0,05Aa	3,06±0,08Aa	3,23±0,04Aa	3,10±0,141Aa	3,10±0,144Aa	3,23±0,01Aa	3,10±0,144Aa
Lípidios (g/100g)	2,25±0,07Aa	2,70±0,14Aa	2,35±0,07Aa	2,55±0,07Aa	2,40±0,14Aa	2,35±0,07Ab	2,30±0,0Ba	2,55±0,07Aa	2,25±0,07Aa	2,55±0,07Aa
pH	4,75±0,014Aa	4,76±0,01Aa	4,67±0,01Ab	4,56±0,02Bb	4,62±0,02Acb	4,43±0,04Bc	4,58±0,02Aadc	4,54±0,01Ab	4,55±0,03Ad	4,39±0,06Ac
Acidez Titulável (g de ácido láctico/100g)	0,73±0,02Ac	0,69±0,00Ac	0,71±0,01Bc	0,79±0,02Ab	0,82±0,01Ab	0,87±0,01Aa	0,84±0,01Aaab	0,87±0,01Aa	0,86±0,01Aa	0,90±0,02Aa
Açúcares Totais (g/100g)	11,23±0,18Ac	10,10±0,14Bd	11,01±0,07Ac	10,96±0,13Ac	12,15±0,07Ab	11,25±0,35Abc	12,70±0,14Aa	11,75±0,21Bab	12,70±0,00Aa	11,85±0,07Ba

Com 8g de FOS/1000 ml de leite integral (Ensaio 1) e 16g de FOS/1000 ml de leite integral (Ensaio 2) Medias seguidas de letras iguais maiúsculas na horizontal, no mesmo dia, não diferem significativamente ($p \geq 0,05$) pelo teste “t” de student. Medias seguidas de letras minúsculas iguais, na horizontal, no mesmo ensaio, não diferem significativamente ($p \geq 0,05$), pelo teste de Duncan.

Para as formulações avaliadas houve estabilidade dos parâmetros analisados, ao longo do armazenamento, ocorrendo variações nos teores de umidade, cinzas, acidez, pH, e açúcares totais (Tabela 1), cujos valores estão compatíveis com os estabelecidos pela legislação brasileira vigente (BRASIL, 2007).

Em relação ao percentual de umidade (Tabela 1), a formulação 1 não apresentou diferença estatística até o 14º dia, apresentando pequeno aumento a partir do 21º ao 28º dia. A formulação 2 apresentou diferença estatística, com aumento do teor de umidade, a partir do 7º dia de estocagem até o 28º dia. Ocorreu diferença estatística entre os ensaios analisados apenas no primeiro dia de armazenamento.

Os valores de umidade encontram-se próximos aos encontrados na literatura, sendo que Souza et al. (2011) em estudo do rendimento de coalhadas em diferentes tempos de processamento, encontrou um teor de umidade de 24,84%. Conforme o regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos, Portaria nº 146 de 07/03/97 (BRASIL, 1997), os produtos lácteos de baixa umidade, devem apresentar teor de até 35,9%, neste trabalho os valores de umidade variaram de 13,4 a 14,38% para o ensaio 1 e de 12,4% a 14% para o ensaio 2, valores estes adequados com os preconizados pela legislação.

Com relação às cinzas, na formulação 1 não houve diferença estatística em todo o período de estocagem. Na formulação 2 apresentou um aumento significativo entre o 1º e o 14º dia (0,71 e 0,78), porém no 14º ao 28º (0,78 ao longo dos dias) não ocorreu diferença significativa.

Não houve variação dos teores de cinzas entre as formulações nos dias avaliados (Tabela 1). Thamer; Penna (2016) verificaram em bebidas lácteas funcionais simbióticas valores para cinzas de 0,53 a 0,61%, entre as amostras analisadas, não obtendo variação ao longo do período de estocagem de 21 dias.

Valores semelhantes a este trabalho foram encontrados por Marinho *et al* 2012 ao avaliar o teor de cinzas em amostras de iogurtes formulados com leite caprino saborizados com umbu, verificou-se que o maior teor de cinzas foi dos iogurtes com 15% de polpa, com o valor de 0,64%, durante o período de estocagem de 28 dias.

Durante 28 dias de estocagem, os lipídios variaram de 2,25 a 2,40g/100g para o ensaio 1 e 2,35 a 2,70g/100g para a formulação 2 (Tabela 1), valores estes adequados ao estabelecido pela resolução nº5 de 13 de novembro de 2000

(BRASIL, 2000). Esses valores foram inferiores aos relatados por Pereira *et al.* (2019) na caracterização de iogurte de leite de cabra acrescido com polpa de uva, cujo valor encontrado foi de 3,9%.

Provavelmente pelo processo de fermentação da coalhada, que como verificado com outros tipos de leite, reduz o teor de gordura (Souza, et.al. 2011).

Houve diferença estatística entre as formulações para o teor de lipídeos analisados no 21º dia. De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, os leites fermentados são classificados em: com creme, integral, semidesnatado e desnatado, onde os teores de gordura deverão ser de no mínimo 6%, entre 5,9 e 3,0%, entre 2,9 e 0,6% e no máximo 0,5%, respectivamente. Em relação ao teor de lipídios as coalhadas podem ser classificadas como semi-desnatadas segundo a legislação vigente (BRASIL, 2007).

Para os leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados, estes podem apresentar conteúdo de proteínas inferiores a 2,9% (Brasil, 2000), os valores médios encontrados são considerados satisfatórios para o produto, todos acima de 3%. Não ocorreram diferenças significativas para essa análise, tanto durante o período de estocagem em ambas formulações, como também entre as formulações analisadas no mesmo dia de armazenamento (Tabela 1).

A formulação 2 apresentou um aumento de açúcares totais a partir do 7º dia ao longo do armazenamento, enquanto para a formulação 1 este aumento foi observado a partir do 14º dia. Rodas *et al.* (2011) em estudo de caracterização de iogurte com frutas, obtiveram valores médios entre as diferentes marcas de 13% para açúcares totais. Segundo a legislação vigente (Brasil, 2007) os valores de açúcares totais devem estar em torno de 10 a 14%, valores semelhantes aos encontrados neste trabalho.

3.2 Avaliação microbiológica

Considerando o padrão para coliformes a 30°C e 45°C e bolores e leveduras, durante o período de armazenamento, não se verificou contaminação para estes grupos, em todas as amostras analisadas e nos tempos avaliados. Quanto às análises de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, também não foi detectada presença destes microrganismos durante o período de estocagem. A presença de microrganismos indicadores de qualidade superior aos limites estabelecidos na legislação fornece informações sobre condições higiênico-sanitárias deficientes,

multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria prima com contaminação excessiva (TEBALDI *et al.*, 2007).

Desta forma, pode-se evidenciar boas práticas de fabricação, qualidade da matéria-prima utilizada e condições adequadas de armazenamento para as coalhadas elaboradas estando de acordo com os padrões da legislação em vigor (BRASIL, 2000).

Neste estudo, a contagem de microrganismos para as duas formulações avaliadas apresentaram resultado elevados para produtos funcionais. De acordo com a determinação de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium Bifidum* e *streptococcus thermophilus* as formulações demonstraram crescimento a partir do 1º dia de estocagem com aumento no crescimento a partir do 7º dia com posterior manutenção das células viáveis no 21º e 28º dias de armazenamento (Tabela 2).

Tabela 2 – Contagem de Células viáveis de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* e *Bifidobacterium bifidum* (UFC/ml) em coalhada refrigerada (4°C) sabor maracujá durante o período de 28 dias de estocagem.

Período de estocagem (dias)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (UFC/mL)		<i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/mL)		<i>Bifidobacterium Bifidum</i> (UFC/mL)	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2
1	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ⁸	10 ⁹
7	10 ¹²	10 ¹³	10 ¹²	10 ¹¹	10 ⁹	10 ⁹
14	10 ¹³	10 ¹²	10 ¹²	10 ¹²	10 ⁹	10 ⁹
21	10 ¹²	10 ¹²	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ⁸	10 ⁸
28	10 ¹²	10 ¹²	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ⁸	10 ⁸

* Com 8g (F1) e 16g (F 2) de frutooligossacarídeos (FOS)

A contagem de *Lactobacillus acidophilus* e *streptococcus thermophilus* foi de 10¹²UFC/mL e 10¹¹UFC/mL, respectivamente. Para *Bifidobacterium Bifidum* a contagem foi de 10⁹UFC/mL (Tabela 2).

Durante o tempo de estocagem, como pode ser visto na Tabela 2, as contagens de *Bifidobacterium spp.* foram constantes. Possivelmente devido os produtos apresentarem substrato suficiente para a viabilidade destes

microrganismos, o que pode ser atribuído a presença de FOS às coalhadas (CAPELA; HAY; SHAH, 2016).

Souza et al (2019) relataram que a viabilidade de *Lactobacillus* sp em iogurte caprino saborizado com manga foi melhor na presença de inulina. Neste contexto, pesquisas avaliaram a viabilidade de duas espécies de Bifidobactérias (*B. longum* e *B. animalis*) adicionadas ao iogurte, com e sem FOS, durante 28 dias a 4 °C. Constatou-se que a viabilidade foi afetada pelo tipo de espécie de microrganismo e pela presença de FOS, sendo que a espécie *B. animalis* apresentou melhor estabilidade em relação a *B. longum*, e o maior número de bifidobactérias foi obtido com a adição de FOS (BUDDINGTON, et al., 2006).

Outro trabalho avaliou o efeito dos prebióticos inulina e frutooligossacarídeo sobre a viabilidade dos microrganismos probióticos em iogurte e concluiu que a adição de 1,5% desses prebióticos possibilitou melhor manutenção da viabilidade (de 10^7 a 10^8 UFC/mL) durante 4 semanas de estocagem a 4 °C (CAPELA; HAY; SHAH, 2016). Neste trabalho foi observado também o efeito bifidogênico do FOS sobre o produto, garantindo a viabilidade das bifidobactérias durante o período de estocagem.

De acordo com os resultados obtidos fica evidenciado o provável efeito prebiótico da fibra empregada (FOS), sobre a manutenção ou a viabilidade das bifidobactérias nas coalhadas durante o período de 28 dias de estocagem refrigerada. Este resultado corrobora com os dados obtidos por Souza *et al.* (2019), onde foram avaliadas as contagens de bifidobactérias em iogurtes caprinos saborizados com manga, com e sem a adição de inulina. No iogurte adicionado de inulina a contagem de bifidobactérias se manteve constante (10^8 UFC/mL) ao longo de 30 dias de estocagem refrigerada (4-6 °C), já no iogurte sem a presença de inulina houve um decréscimo de um ciclo logarítmico após 21 dias de estocagem.

As contagens observadas para os microrganismos probióticos reforçam que as formulações avaliadas são favoráveis à promoção de efeitos terapêuticos à saúde do consumidor. Além disso, as bactérias lácticas presentes no fermento utilizado contribuíram para os aspectos tecnológicos das formulações elaboradas.

3.3 - Vida de prateleira da coalhada

Os valores de pH e acidez titulável das coalhadas caprinas com potencial simbiótico durante os 28 dias de armazenamento a 4 ° C são mostrados na Tabela 01. O pH e a acidez média na coalhada foram de $4,5 \pm 0,1$ e $0,79 \pm 0,01$ g de ácido láctico/100g, respectivamente. Os resultados mostram que o pH diminuiu (4,4) e a acidez aumentou (0,86 g de ácido láctico/ 100g) como esperado, pela produção de ácido realizada por bactérias ácido-láticas durante o armazenamento por 28 dias a 4 ° C.

Para os valores de pH e acidez houve diferença significativa entre os ensaios durante os tempos avaliados, demonstrando discreto decréscimo do pH e aumento da acidez (Tabela 1).

Os produtos lácteos estão sujeitos ao decréscimo de pH e aumento da acidez durante a estocagem refrigerada, devido à persistente atividade das bactérias durante a estocagem do produto (GALINA et al. 2017). Em estudos com iogurtes desnatados com leite caprino adicionados de prebiótico também foi encontrado redução de pH e aumento de acidez nas amostras analisadas (RAMCHANDRAN; SHAH, 2010).

Segundo Silva et al. (2012), a faixa ideal de acidez para produtos lácteos fermentados deve ser entre 0,7 a 0,9%, sendo que os valores mais comuns encontram-se na faixa entre 0,7 e 1,25%. No presente trabalho os resultados das análises de acidez apresentaram-se dentro deste intervalo.

3.4 Avaliação sensorial

De acordo com a Tabela 3 observa-se que o ensaio dois, com 16g de FOS/1000 ml de leite, apresentou maior nota em todos os atributos sensoriais, variando de 6,73 – 7,44 . Souza et al. (2011), em estudo com queijo de coalho de cabra condimentado com cumaru, obtiveram valores semelhantes aos do presente estudo para o teste de aceitação (6,93 – 7,23).

Todos os atributos diferiram estatisticamente em relação às duas formulações, apenas o atributo textura não apresentou diferença estatística, o que pode ter relação com a adição de FOS, o que alteraria as características sensoriais do produto.

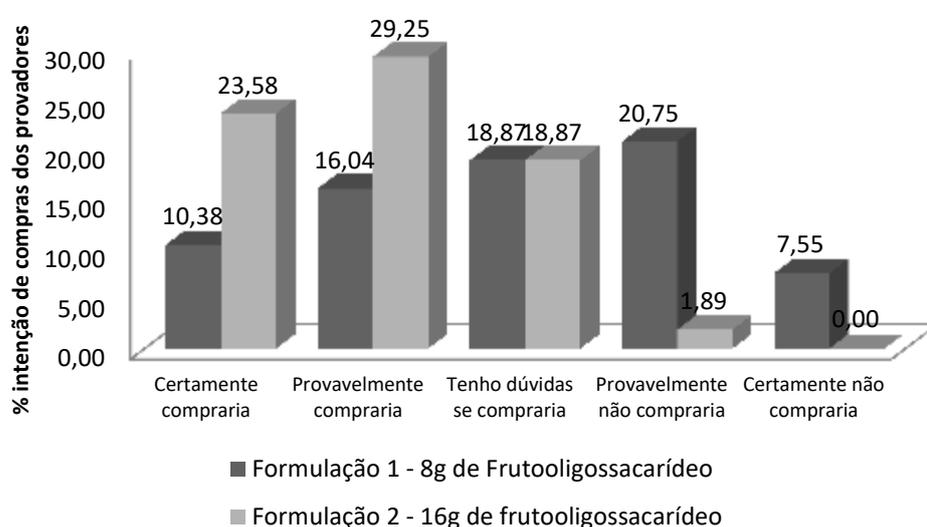
Tabela 3. Análise sensorial para coalhadas caprinas sabor maracujá.

Formulações	FOS (%)	Aparência	Aroma	Cor	Sabor	Textura	Avaliação Global
1	8	6,59±1,78 ^a	6,47±1,78 ^a	6,90±1,59 ^a	5,79±2,39 ^a	6,33±1,91 ^a	5,99±2,09 ^a
2	16	7,17±1,57 ^b	7,00±1,52 ^b	7,44±1,43 ^b	6,73±1,74 ^b	6,83±1,77 ^a	6,83±1,56 ^a

*Médias seguidas de letras iguais na vertical não diferem significativamente ao nível de 5% pelo teste de Duncan.

Na figura 3 observa-se que o ensaio dois apresentou maior percentual (23,58%) dos provadores para o critério de avaliação “certamente compraria”. Somando os critérios certamente e provavelmente compraria, as coalhadas possuem um percentual de 52,83%, ou seja, mais da metade dos provadores comprariam o produto se este fosse colocado a venda no mercado. E apenas 1,89% não compraria o produto analisado.

Figura 3. Percentual das notas obtidas na intenção de compra, na análise sensorial de coalhadas caprinas sabor maracujá. F1- Coalhada simbiótica com 8g de FOS/1000 ml de leite; F2- Coalhada simbiótica com 16g de FOS/1000 ml de leite.



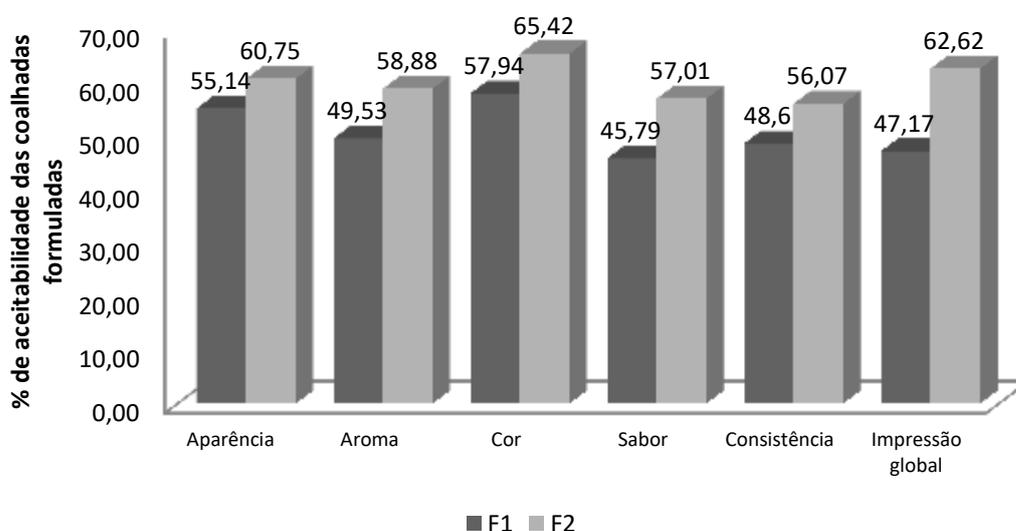
Para que um produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que obtenha um índice de aceitabilidade de no mínimo 70% (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETA, 1987). Nesta pesquisa verificou-se que as formulações ficaram próximas a aceitação (Figura 4), porém o ensaio que apresentou maior índice de aceitabilidade foi o ensaio 2, com 62,62% de impressão

global. Este resultado corrobora com o estudo de Silva et al. (2017), no qual observaram que 68% dos julgadores afirmaram que comprariam o queijo de coalho de cabra condimentado com cachaça.

Para Garcia; Travassos (2012), o leite de cabra apresenta características sensoriais peculiares, sobretudo nos atributos cor, sabor e aroma, as quais podem comprometer a aceitabilidade dos produtos. Segundo Garcia et al. (2008), esse comportamento pode ser explicado pelo fato dos julgadores estarem habituados a consumir produtos elaborados com leite de vaca.

Segundo Guiné et al. (2015), os queijos e leites fermentados obtidos a partir de leite de cabra apresentam um desenvolvimento de aromas mais intenso e mais completo, bem como uma textura mais macia, resultante da extensão da proteólise, que origina peptídeos e aminoácidos, os quais influenciam consideravelmente as características sensoriais do produto.

Figura 4: Índice de Aceitabilidade de formulações de Coalhadas caprinas simbióticas sabor maracujá submetidas à análise sensorial, F1- Coalhada simbiótica com 8g de FOS/1000 ml de leite; F2- Coalhada simbiótica com 16g de FOS/1000 ml de leite.



Dentre os atributos analisados, as notas mais baixas foram relacionadas ao atributo sabor (F1 45,79%/ F2 57,01%). Estes resultados corroboram com a literatura que evidencia que os atributos sensoriais decisivos para não comprar leite de cabra e derivados, são o aroma e o sabor (COSTA et al., 2013, COSTA et al., 2014; COSTA et al., 2015).

Segundo Garcia et al. (2008), em análise sensorial de produtos elaborados com leite caprino utilizando uma sequência de amostras e avaliadas por escala

hedônica estruturada de nove pontos, os provadores perceberam diferença no aroma e no sabor dos produtos apresentados.

4 - CONCLUSÃO

As coalhadas são consideradas semidesnatadas, os parâmetros físico-químicos e microbiológicos estão de acordo com a legislação vigente do ministério da agricultura. A contagem de bactérias périas pobióticas estão elevadas para os parâmetros de alimentos funcionais tanto para amostras com 8 e 16g de FOS. Quanto a qualidade sensorial foram considadas boas e com boa intenção de compra, principalmente a coalhada com maior teor de FOS. Desta forma as coalhadas caprinas, possuem viabilidade para comercialização, tanto do ponto de vista sensorial, quanto nutricional, sendo um produto importante para diversificação e valor nutritivo para seus consumidores.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, L. L.; RICHARDS, N. S. P. S.; BECKER, L. V.; ANDRADE, D. F.; MILANI, L. I. G.; REZER, A. P. S.; SCIPIONI, G. C. Aceitação sensorial e caracterização de *frozen yogurt* de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n.9, p. 2595-2600, 2009.

ALVIM et al. Importância Econômica. *Embrapa, gado de leite*. Disponível em: <<http://www.cnpq.embrapa.br/nova/informacoes/sistema/7/importancia.html>>. Acesso em 21 de ago. de 2018.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official Methods of Analysis**. v. 2, 17thed. Washington: AOAC. 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official Methods of Analysis**. 17thed., Gaithersburg: AOAC. 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY – AOAC. **Official Methods of Analysis**. v. 1-2, 16thed. Washington: AOAC. 1995.

BRASIL. Portaria nº 370, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites UHT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 04 setembro, 1997.

BRASIL. Resolução nº5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 27 de novembro de 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Brasília: Diário Oficial da União, jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução RDC nº 269, 22 set. 2005**, Regulamento técnico sobre ingestão diária recomendada (IDR) para proteína, vitaminas e minerais. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2005.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria no46, de 23 de novembro de 2007: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados; 2007.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisLegislacaoFederal>>. Acesso em: 20 de Julho de 2018.

BRANNON, C. A. Prebiotics as good carbs. **Today's Dietitian**. V.8, p. 12 – 21, 2006.

BRUNO, F. A.; LANKAPUTHRA, W. E. V.; SHAH, N. P. Growth, viability and activity of Bifidobacterium spp. in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, 67, p. 2740–2744, 2002.

(BUDDINGTON RK, WILLIAMS CH, CHEN, SC, WITHERLY SA. Dietary supplementation of neosugar alters the fecal flora and decreases activities of some reductive enzymes in human subjects. **Journal Clinic Nutricion**, v.63, p.709-16, 1996.

CAPELA P, HAY, T.K.C., SHAH N.P. Effect of crytoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiótico organisms in yogurt and freeze-dried yogurt. **Food Rewien**, v. 39, p.203-211, 2016.

CATUNDA NETO, O.C.; OLIVEIRA, C.A.F.; HOTTA, R.M.; SOBRAL, P.J.A. Avaliação físicoquímica e sensorial do iogurte natural produzido com leite de búfala contendo diferentes níveis de gordura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.3, p.448-453, 2016.

COSTA, M. P. et al. Leite fermentado: potencial alimento funcional. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1387-1408, 2013.

COSTA, M. P. et al. Changes in expected taste perception of probiotic and conventional yogurts made from goat milk after rapidly repeated exposure. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 5, p. 2610-2618, 2014.

COSTA, M. P. et al. Determination of biogenic amines by high-performance liquid chromatography (HPLC-DAD) in probiotic cow's and goat's fermented milks and acceptance. **Food Science & Nutrition**, v. 3, n. 3, p. 172-178, 2015.

DESAI, A. R.; POWELL, I. B.; SHAH, N. P. Survival and activity of probiotic lactobacilli in skim milk containing prebiotics. **Journal of Food Science**, 69, p. 57–60, 2004.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. On line. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> acesso em 10 de agosto de 2017.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Summary of Food and Agriculture Statistics 2016. Disponível em : <<http://www.fao.org>> acessado em 15 de Outubro de 2018.

GALLINA D. A. Leites fermentados funcionais: tendências e inovações. **Revista Ingredientes Tecnologia**; v.9, p. 26-30, 2017.

GALLINA D.A.; SILVA A. T.; ALVES A.T.; TRENTO F.K.H.S.; CARUSI J. A. Caracterização de Leites Fermentados Com e Sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Lácticas e Probióticas Durante a Vida-de-Prateleira, **Científica Ciências Biológicas e Saúde**, v.13, n.4, p. 239-44, 2011.

GARCIA, R. V. et al. Aceitabilidade e preferência sensorial do queijo de coalho de leite búfala, de leite cabra e de leite de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 63, n. 363, p. 12-16, 2008.

GARCIA, R. V.; TRAVASSOS, A. E. R. Aspectos gerais sobre o leite de cabra: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, p. 81-88, 2012.

GARDINI, F.; LANCIOTTI, E. Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* and *L. acidophilus* in fermented milks. **Introduction Dairy journal**, v.9, n.2, p. 125-134, 2006.

GUINÉ, R. et al. Avaliação comparativa de queijos portugueses de cabra e ovelha. **Millenium**, v. 49, p. 111-130, 2015.

LINDNER, M.S.S.; FIGUEIRÊDO, R.M.F.; QUEIROZ, A.J.M.; SANTIAGO, V.M.S. Avaliação físico-química e sensorial de doces cremosos produzidos com soro de leite de cabra, leite de vaca e polpa de umbu. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, n.Especial, p.397- 410, 2010.

MARINHO M. V. M. et al. Análise físico-química e sensorial de iogurte de leite de cabra com polpa de umbu, **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.14, n. Especial, p.497-510, 2012.

MARTIN, N.C. Influence of fermentation and storage conditions on the sensory properties of plain low fat stirred yogurts. **Journal Sensory Study**, v. 14, p. 139-160, 2008.

MINIM, V.P.R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, Ed. UFV. p. 225, 2006.

Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água**. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Brasília, 2003.

PEREIRA, J. M.A.T. K.; MENDONÇA, R.C.S; ASSUMPÇÃO, C. F. Desenvolvimento de formulação de iogurte de araticum e estudo da aceitação sensorial. **Alim. Nutr.**, v.19, n.3, p. 277-281, 2019.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Effect of EPS on the proteolytic and ACEinhibitory activities and textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, 92, p. 895–906, 2010.

RODAS, M. A. B.; RODRIGUES, R. M. M. S.; SAKUMA, H.; TAVARES, L. Z.; SGARBI, C. R.; LOPES, W. C. C. Caracterização físico-química, histológica e viabilidade de bactérias lácticas em iogurtes com frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 304-309, 2011.

SAAD, N., DELATTRE, C., URDACI, M., SCHMITTER, J. M., & BRESSOLIER, P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT e Food Science and Technology**, V.50, p.1-16. 2016.

SILVA L.C., MACHADO T. B.; SILVEIRA M.L.R.; ROSA C.S.; BERTAGNOLLI S.M.M. Aspectos microbiológicos, ph e acidez de iogurtes de produção caseira comparados aos industrializados da região de santa maria – RS, **Ciências da Saúde**, v. 13, n. 1, p. 111-120, 2012.

SILVA, G. J.; GONÇALVES, B. R. F.; CONCEIÇÃO, D. G.; PONTES, S. F. O.; FERRÃO, S. P. B. Perfil de ácidos graxos e frações proteicas do leite de cabra. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 6, p. 338-348, 2017.

SOUSA K.S.M. et al. Elaboração de iogurte probiótico de leite de cabra adicionado de polpa de manga, **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p. 7729, 2019.

SOCOL, C. R.; VANDENBERGHE, L. P. D. S.; MEDEIROS, A. B. P.; YAMAGISHI, C. T.; DE DEA LINDNER, J.; PANDEY, A.; THOMAZ-SOCOL, V. The potential of the probiotics: a review. **Food Technology and Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 413-434, 2010.

SOUZA, G. C.; SEOLIN, V.J.; PEREIRA S. C. M.; PIERETTI G.G.; SANTOS T. J.; SCAPIM M.R.S.; CESTARI L.A.; MADRONA G.S. Desenvolvimento de coalhada seca em diferentes tempos de processamento, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p. 75-82, 2011.

STATSOFT, In. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa, OK: Statsoft, Inc. 2003.

TEBALDI, V.M.R.; RESENDE, J.G.O.S.; RAMALHO, G.C.A.; OLIVEIRA, T.L.C.; ABREU, L.R.; PICCOLI, R.H. Avaliação microbiológicas de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do Sul de Minas Gerais. **Ciência e agrotécologia**, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, 2007.

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, 2016.

TEIXEIRA, E.; MEINERT, E.; BARBETA, P.A. **Análise sensorial dos alimentos**. UFSC. 182p. 1987.

TRENTO FKHS, MORENO I, GALLINA DA, SILVA E ALVES AT, ZACARCHENCO PB, LISERRE AM Contagem de bactérias lácticas e probióticas em diferentes formulações de leites fermentados contendo ou não probióticos, após o processamento e durante a estocagem. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 74, p.1-7, 2009.

VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D.F. *Compendium for the microbiological examination of foods*. **American Public Health Association**. 3 ed. Washington, DC., 1219p. 1992.

CAPÍTULO II

**PEPTÍDEOS EXTRAÍDOS DE COALHADAS SIMBIÓTICAS FORMULADAS COM
LEITE CAPRINO: ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**

A SER SUBMETIDO A

Ciência Rural

ISSN 0103-8478



**FATOR DE IMPACTO: 0.2130
QUALIS:B1**

PEPTÍDEOS EXTRAÍDOS DE COALHADAS SIMBIÓTICAS FORMULADAS COM LEITE CAPRINO: ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE

ARRUDA, H.A.S.¹, XAVIER, V.L.²; LIMA, M.S.F.¹; SOUZA, K.M.S.¹; PORTO, A.L.F.³

¹ Discente do Programa de Pós Graduação em Biociência Animal – UFRPE

² Docente do Curso de Nutrição - UFPE

³ Docente do Programa de Pós Graduação em Biociência Animal – UFRPE

RESUMO

Os derivados lácteos possuem importância no mercado mundial, pois o seu processo de fabricação envolve adição de bactérias ácido lácticas, que são estudadas pelas suas características probióticas e produtoras de metabólitos secundários, como os peptídeos, associadas com efeitos benéficos a saúde. Dentre os diversos produtos estudados, a extração de peptídeos bioativos e sua utilização a partir de coalhadas é fruto da proteólise do leite por meio da fermentação. Assim o objetivo desse trabalho é de identificar os peptídeos bioativos extraídos de coalhada simbiótica formulada com leite caprino e avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante. Os extratos de peptídeos solúveis em água foram preparados a partir de amostras de coalhadas simbióticas produzidas com leite caprino e em seguida analisados quanto ao perfil peptídico usando técnica de espectrometria de massas do tipo MALDI ToF. A partir destes foram analisadas as atividades antimicrobianas e antioxidantes. Na coalhada foi possível detectar peptídeos de aproximadamente (550 - 4027 Da). A partir desse EPS também foi possível detectar a capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) assim como evidenciar a taxa de atividade antioxidante (82%) proveniente desse produto. Neste trabalho foram detectados fragmentos peptídicos e identificadas as capacidades antioxidante e antimicrobiana, atribuindo ao produto propriedades bioativas que promovem benefícios a saúde de seus consumidores.

Palavras-chave: Peptídeos solúveis, Espectrometria por MALDI-ToF, atividade antimicrobiana, coalhada com leite caprino.

1 - INTRODUÇÃO

Em todo o Brasil o consumo de produtos lácteos está ligado à cultura local. A qualidade desses produtos está relacionada ao modo de produção e características do leite, fatores como raça, rebanho e alimentação (PAQUEREAU et al., 2016). No panorama mundial da produção de leite caprino, em 2011 foram produzidos 15,9 milhões de toneladas; em relação à produtividade de queijos e leites fermentados elaborados com esse tipo de leite foram produzidas aproximadamente 368,6 mil

toneladas, valores ainda muito inferiores se comparado à produção de leite de vaca (FAO, 2016).

O nutriente de maior importância para promoção do sabor e a textura de diversos tipos de lácteos são as proteínas. Os efeitos dessas proteínas sobre a saúde humana podem estar relacionados à proteína intacta, aos aminoácidos da proteína totalmente digerida e aos peptídeos da proteína parcialmente hidrolisada (HERNÁNDEZ-LEDESMA et al., 2014).

A proteólise resulta na formação de grandes moléculas (insolúveis em água) e peptídeos de tamanho intermediário (solúveis em água) que são posteriormente hidrolisados para produzir pequenos peptídeos e aminoácidos (HUMA, RAFIQ, SAMEEN, PASHA, & KHAN, 2018).

Ao mesmo tempo que a proteólise do leite acontece para o desenvolvimento do sabor e da textura do produto final, a liberação destes peptídeos e aminoácidos apresentam bioatividades benéficas (ABDELHAMID, OTTE, GOBBA, OSMAN, & HAMAD, 2017; SILVA et al., 2012).

O extrato bruto de peptídeos solúveis em água (EPS) pode agir de modo sinérgico para realizar várias funções fisiológicas, possui propriedades antimicrobianas (ARRUDA et al., 2012; SILVA et al., 2012), atua na redução do colesterol, atividades antitrombótica e antioxidante (SILVA et al., 2012; TIMÓN, PARRA, OTTE, BRONCANO, & PETRÓN, 2014), aumento da biodisponibilidade mineral, efeitos imunomoduladores (AKALIN, 2014).

A maioria dos peptídeos bioativos produzidos nos diferentes tipos de leite são derivados de α 1-caseína (HODGKINSON, WALLACE, SMOLENSKIA E PROSSER, 2019; NIELSEN, BEVERLY, QU, E DALLAS, 2017), obtidos de alimentos fermentados, como queijo e iogurtes (FARVIN, BARON, NIELSEN & JACOBSEN, 2010; SILVA et al., 2012).

Entre os diversos produtos lácteos estudados, os peptídeos extraídos de coalhadas ainda não foram bem elucidados, esse alimento é proveniente da fermentação do leite. Este lácteo tem por característica sistema proteolítico composto por proteinases e peptidases coagulantes que já estão presentes no leite, além da contribuição de bactérias ácido lácticas que também atuam durante o seu preparo (FIALHO et al., 2018; SILVA et al., 2012).

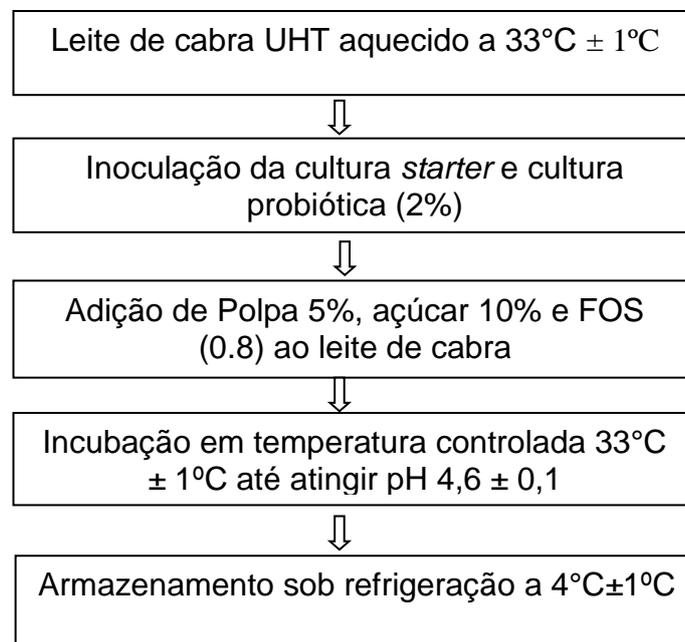
Diante do exposto este trabalho tem como objetivo extrair peptídeos de coalhada simbiótica formulada com leite caprino e avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Elaboração das coalhadas

Para elaboração das coalhadas foram utilizados frutos de Maracujá (*Passiflora edulis*), açúcar cristal refinado (União), leite caprino esterilizado UHT (Caprilat); provenientes do comércio local na cidade do Recife-PE; cultura *starter* (Docina®) com cepas de *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus diacetylactis* na proporção de 1:1, cultura probiótica (Bio-Rich®) com cepas de *Bifidobacterium Bb 12*, *Lactobacillus acidophilus* e *Streptococcus thermophilus* e frutoligossacarídeo (FOS) (Invictus Pharma), o fluxograma para obtenção está descrito na figura 01.

Figura 1: Fluxograma de elaboração para Coalhadas Caprinas com potencial simbiótico sabor maracujá



2.2 Extração dos peptídeos bioativos

A extração dos peptídeos solúveis da coalhada, foi realizada durante toda a vida de prateleira (1, 7, 14, 21 e 28 dias de estocagem) segundo a metodologia de

SILVA et al (2019), modificada com relação à mudança na velocidade (14.560×g) e tempo (20 minutos) de rotação. Para a extração, amostras de coalhada (20 g) foram homogeneizadas com água na proporção 1:2 (p/v) a 10000×g por 20 minutos em homogeneizador (Nissei AM-8). Em seguida, centrifugadas três vezes a 14.560×g por 20 minutos, a 4 °C. Após este procedimento, o sobrenadante final foi filtrado em papel de filtro quantitativo (Whatman nº 40), liofilizado, denominado Extrato Peptídico Solúvel (EPS) e armazenado a -20 °C (SILVA et al 2019).

2.3 Espectrometria de massa - MALDI – TOF

Os EPS obtidos, nos tempos 1, 14 e 28, referentes aos tempos de armazenamento em dias, tiveram suas Massas Moleculares (MM) determinadas por espectrometria de massa. As análises foram realizadas em um espectrômetro do tipo MALDI-TOF com aparelho do tipo Autoflex III (Bruker Daltonics, USA). As amostras dos extratos de peptídeos (20mg/ mL) foram diluídas em ácido trifluoroacético (TFA) a 0.1% (v/v). Em seguida, 1 µL dessa amostra diluída foi misturada com 3 µL da solução matriz 4-HCCA (ácido alfa-ciano 4-hidroxicinâmico) em acetonitrila 33% (v/v) e ácido trifluoroacético 0,1% (v/v), operada com modo de aquisição linear positivo. A faixa de detecção foi de 800 a 3500 m/z. A calibração externa foi realizada usando um mistura padrão de peptídeos, mix de 12 peptídeos (Bruker Daltonics). Os dados foram adquiridos usando Software Flex Control, e os espectros foram processados usando Software Flex Analysis One (Versão 3.0, Bruker Daltonics) (LIMA et al. 2017).

2.4 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos usados para determinar a atividade antimicrobiana foram *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. O pré-inóculo para cada estirpe padrão foi preparada em caldo Brain Heart Infusion Broth (BHI).

Todas as estirpes foram incubadas de forma aeróbia a 37 ° C durante 18 h. A concentração das células foi determinada medindo-se turbidez da suspensão a 595 nm (Microplate Lector LM-LGC, LGC Biotecnologia Ltda., São Paulo, Brasil) e depois convertido em unidades formadoras de colônias ($1,5 \times 10^8$ UFC / mL). Uma UFC representa uma célula viável que é capaz de promover o crescimento bacteriano. A mistura contendo 50 µL do extrato peptídico fermentado e 50 µL da suspensão

bacteriana foi avaliada após incubação por 24 h a 37 ° C. O crescimento bacteriano foi monitorado pela leitura em 595 nm.

Todos os experimentos foram realizados durante os 28 dias de vida de prateleira das formulações de coalhadas, em concentrações: 5 mg/ml, 2,5mg/ml e 1,25 mg/ml, em triplicata de Microplaca de 96 poços (NUNC®) e para evitar problemas com sedimentação da cultura bacteriana, a microplaca foi agitada por 30 segundos antes da leitura. O resultado foi determinado como a porcentagem de inibição do crescimento bacteriano com base em meio de controle negativo sem bactérias e meio de controle positivo com bactérias no meio foram os controles utilizados para determinar o crescimento (LIMA *et al* 2017).

2.5 Capacidade antioxidante usando os radicais ABTS (ÁCIDO 2,2'-AZINOBIS-3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-SULFONICO) e DPPH (2,2-DIFENIL-1- PICRILHIDRAZIL).

As amostras utilizadas em concentrações: 5 mg/ml, 2,5mg/ml e 1,25 mg/ml, a reação de oxidação foi preparada usando um sistema ABTS 7 mM solução estoque com persulfato de potássio 140 mM (concentração final). A mistura foi incubada no escuro em temperatura ambiente (23–25 ° C) durante 12–16 h (o tempo necessário para formação radical) antes de usar. A solução de ABTS foi diluída em etanol até uma absorbância de 0,7 (\pm 0,02) a 734 nm. A atividade antioxidante foi realizada utilizando-se alíquotas de 30 μ L das amostras de toda a vida de prateleira, misturadas com 3 mL de solução ABTS diluída. A absorbância 734 nm foi medida a 180 min Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8- ácido tetrametilcromano-2-carboxílico) foi usado como padrão de referência. Os valores foram calculados e expressos como percentagens de atividade antioxidante de acordo com a Eq. (1):

$$\% AA = \frac{Absi - Abss}{Abs} \times 100$$

Onde Absi é a absorbância inicial (solução ABTS) e Abss é a absorbância da mistura (solução ABTS + amostra) (LIMA *et al* 2017).

O método antioxidante usando o radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) foi realizada seguindo os métodos de Zubia *et al.* (2009). A capacidade da captura do radical foi determinada pela equação (2) e expressos em percentual . O ácido ascórbico foi usado como referência padrão. As amostras utilizadas em concentrações: 5 mg/ml, 2,5mg/ml e 1,25 mg/ml , cada concentração foi analisada em triplicata.

Equação 2: Antioxidante %= ((abs DPPH-abs amostra)/(abs DPPH))x100

2.6 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise da variância dos valores médios para as amostras individuais e comparados utilizando ANOVA com um nível de significância de p 0,05.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Peptídeos identificados utilizando MALDI-TOF

Uma análise detalhada dos peptídeos nos tempos de 1, 14 e 28 dias de vida de prateleira foi realizada por medição direta MALDI-TOF MS em um intervalo m / z de 500 a 5000 Da (Figura 2). A maior parte dos sinais foi detectada em um intervalo de (550 - 4027 Da). Correspondendo a comprimentos peptídicos de aproximadamente 6 a 17 aminoácidos. A Tabela 1 mostra os peptídeos presentes no extrato solúvel da coalhada identificados de acordo com suas massas e os peptídeos presentes no leite de cabra dados comparados com a literatura.

Os prováveis peptídeos Identificados podem ter sido originados dos fragmentos da α 1-caseína (α 1-CN), α 2-caseína (α 2-CN), β -caseína (β -CN), κ -caseína (κ -CN), β -Lactoglobulina (β -Lg), α -Lactalbumina (α -La) e β -Lactoglobulina (β -Lg).

O fragmento da β -CN f(193-209) é formado por hidrólise da β -caseína promovida pela ação da quimosina que atua clivando a ligação Leu192-Tyr193 (BAPTISTA *et al.*, 2017). Enquanto o peptídeo β -CN f(3-14) Pode ser comparado ao fragmento encontrado no trabalho de Nongonierma e Fitzgerald (2016) que encontraram peptideos obtidos de produtos lácteos digeridos que se encontravam no trato gastrointestinal.

Os peptídeos da β -caseína identificados neste trabalho apresentam sequência de aminoácidos e bioatividades conhecidas na literatura. Os peptídeos da β -CN f(193-209), β -CN f(193-207) e β -CN f(3-14) apresentam respectivamente sequências de aminoácidos 193YQEPVLGPVVRGPFPIIV209, 193YQEPVLGPVVRGPFPI207 e 3 LEELNVPGEIVE14 (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2016; LOPEZ-EXPÓSITO; AMIGO; RECIO, 2012). Contudo, apenas os fragmentos de resíduos de aminoácidos de 193-209 e de 193-207 apresentam bioatividade conhecida tal como, as atividades antimicrobiana, imunomodulatória e

inibitória da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) (NONGONIERMA; FITZGERALD, 2016).

Figura 02 - Perfil MALDI-TOF-MS do extrato peptídico de colhadas caprinas simbióticas no tempo 01 dia (A), 14 dias (B) e 28 dias (C) de vida de prateleira

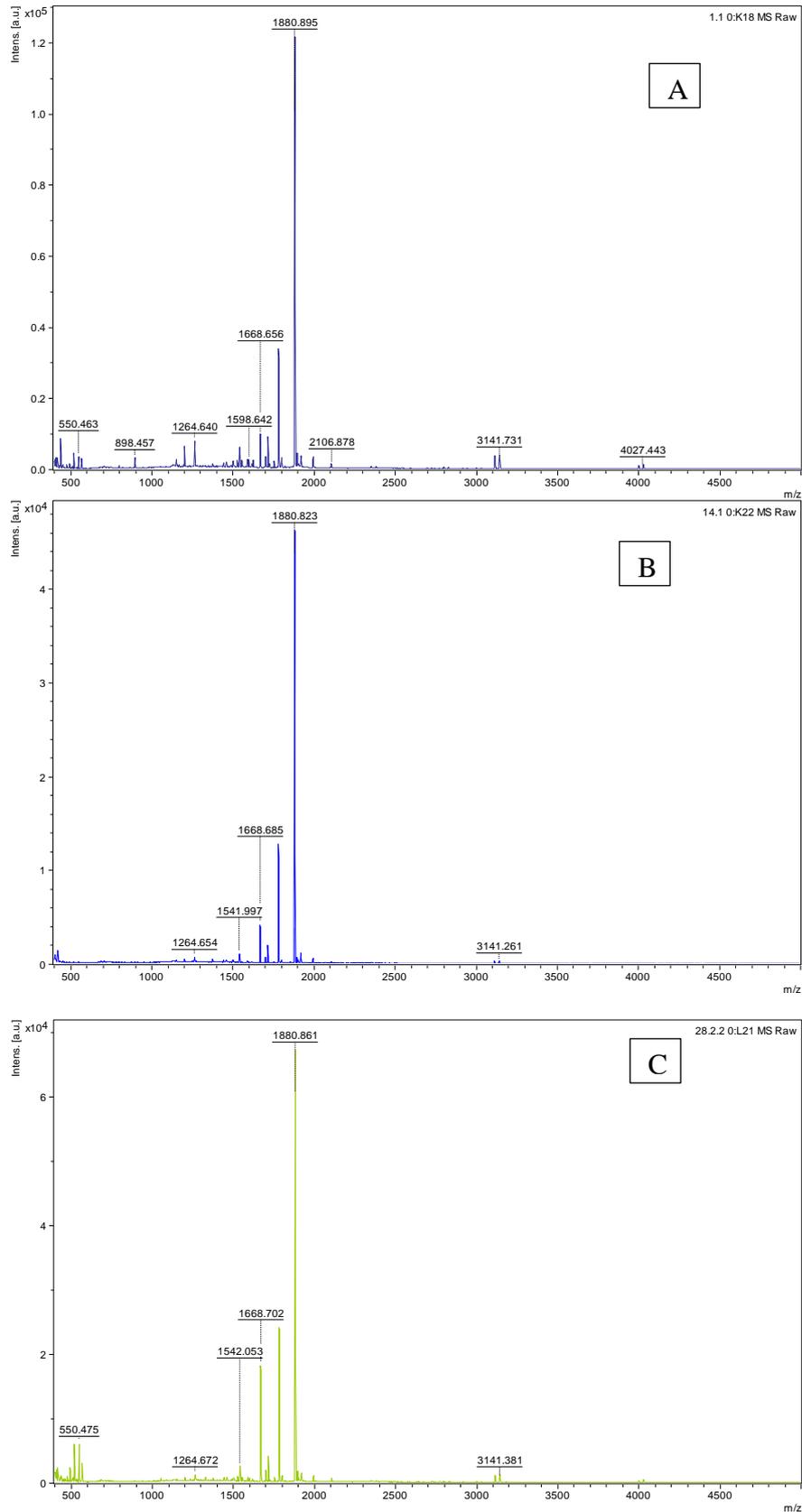


Tabela 01 - Peptídeos identificados nos extratos solúveis em água de coalhadas caprinas simbióticas de acordo com a espectrometria de massa dados comparados com a literatura.

Massa (Da) dos peptídeos extraídos de coalhada caprina	Massa (Da) dos peptídeos extraídos de leite de Cabra Fonte: BEZERRA et al. (2013)	Sequência de Aminoácidos	Fragmento proteico	Referência da literatura
550.463	552.73	KVLPV	β -CN f(169-173)	(Simsek et al., 2017)
851.470	865.1	PPLTQTPV	β -CN f(75-82)	(Jin et al., 2016)
898.457	890.5	PPEINTVQ	κ -CN f(156-163)	(Jin et al., 2016)
1.001.596	1002.1	GLDIQKVAGT	β -Lg f(9-18)	(Chobert et al., 2005)
1.117.692	1101.0	VLNENLLRF	α _{s1} -CN f(15e23)	(Møller, Rattray, & Ardö, 2013)
1.242.590	1231.6	TPEVDNEALEK	β -La f(125-135)	(Chobert et al., 2005)
1.264.640		INNQFLPYPY	κ -CN f(51-60)	(Jin et al., 2016)
1.371.941	1407.9	DVENLHLPLPL L	β -CN f(129-140)	(Fernández-Tomé et al., 2017)
1.541.997		YQEPVLGPVR GPFV	β -CN f(193-206)	(Gouldsworthy, Leaver, & Banks, 1996) / (Nongonierma & FitzGerald, 2016)
1.598.642		EPVLGPVRGPF PIIV	β -CN f(195-209)	(Møller, Rattray, & Ardö, 2013)
1.668.658		LYQEPVLGPVR GPFVIL	β -CN f(192-206)	(Gouldsworthy, Leaver, & Banks, 1996) / (Nongonierma & FitzGerald, 2016)
1.880.823	1967.5	YQEPVLGPVR GPFPIIV	β -CN f(193-209)	(Ebner et al., 2015)
2.106.878	2129.6	SLPQNIPPLTQ TPVVVPPFLQP EVM	β -CN f(69-93)	(Møller, Rattray, & Ardö, 2013)
3.141.731		IQPKTKVIPYVR YL	α _{s2} -CN f(194-207)	(Ebner et al., 2015)
4.027.443		YQEPVLGPVR GPFVIL	β -CN f(193-208)	(Fernández-Tomé et al., 2017)

3.2 Atividade antimicrobiana e antioxidante

A Tabela 2 apresenta os resultados observados para o extrato de peptídeo obtido de coalhada caprina durante o armazenamento a uma concentração final de 25 mg / mL em sua atividade antimicrobiana.

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana de coalhadas formulados com leite caprino durante a vida de prateleira de 28 dias.

Microrganismos analisados	T1	T7	T14	T21	T28
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	77,08	76,45	81,77	80,18	77,02
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	80,90	78,51	78,88	73,49	63,52
<i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028	80,15	76,92	78,38	72,84	79,71
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117	68,26	70,98	73,37	67,92	73,00

O resultado da atividade antimicrobiana apresentou uma alta porcentagem de inibição ($81,7 \pm 0,03$) frente aos microrganismos patogênicos. Este estudo mostrou que os peptídeos extraídos de coalhadas caprinas apresentaram maior inibição do crescimento de *Escherichia coli* ATCC 25922, a partir do dia 1º dia até o 28º dia de armazenamento. O menor valor de inibição foi encontrado para *Listeria monocytogenes* ATCC 19117.

Os resultados do presente estudo foram superiores aos encontrados na literatura, o extrato bruto de proteína obtido por precipitação presente em leite fermentado obtido do soro de leite caprino apresentou atividade bacteriostática frente a cepas bacterianas (MEDEIROS *et al.*, 2018).

O arranjo estrutural dos peptídeos realiza uma importante função no mecanismo de ação de fragmentos antimicrobianos. Estes atuam desarranjando a membrana celular microbiana, isto ocorre por uma interação eletrostática de ligação entre os peptídeos catiônicos e componentes carregados negativamente presente no envelope bacteriano (AKALIN, 2014).

Fragmentos gerados por hidrólise da caseína com efeito inibitório contra o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas também já foram referidos por Silva *et al.* (2016), em queijo coalho e Lima *et al.* (2017), em leite fermentado. Sendo assim os peptídeos com ação antimicrobiana derivados da caseína podem apresentar um controle alternativo de populações de bactérias causadoras de doenças.

Os percentuais de atividade antioxidante estão descritos na Tabela 3. O tempo que apresentou maior atividade foi o T28; resultados do presente estudo foram superiores aos da literatura, um extrato de proteína bruto obtido por precipitação presente em leite fermentado obtido do soro de leite caprino apresentaram atividade bacteriostática frente a cepas bacterianas pode-se observar que há aumento com o passar da vida de prateleira.

Tabela 3 - Atividade antioxidante de coalhadas formulados com leite caprino durante a vida de prateleira de 28 dias.

Tempo e concentração	% atividade antioxidante ABTS	% atividade antioxidante DPPH	Tempo e concentração	% atividade antioxidante ABTS	% atividade antioxidante DPPH	Tempo e concentração	% atividade antioxidante ABTS	% atividade antioxidante DPPH
T1 5mg/ml	58,52	52,46	T1 2,5 mg/ml	40,33	38,41	T1 1,25 mg/ml	29,29	28,14
T7 5mg/ml	55,10	51,60	T7 2,5 mg/ml	37,14	36,13	T7 1,25 mg/ml	21,86	21,74
T14 5mg/ml	68,00	65,10	T14 2,5 mg/ml	38,38	37,34	T14 1,25 mg/ml	26,24	25,11
T21 5mg/ml	78,19	76,23	T21 2,5 mg/ml	49,57	47,48	T21 1,25 mg/ml	28,62	26,48
T28 5mg/ml	82,38	78,26	T28 2,5 mg/ml	54,14	52,28	T28 1,25 mg/ml	30,95	30,33

Em um estudo com extração de peptídeos em leite de ovelha fermentado, Lima *et al* (2017), observou que todos os extratos peptídicos obtidos durante o armazenamento apresentou atividade antioxidante em todas as concentrações, os extratos peptídicos apresentaram 16 a 41,5% de atividade antioxidante. O maior valor obtido ($41,5\% \pm 3,6\%$) foi no 28º dia de armazenamento, resultado que corrobora com o encontrado nesta pesquisa.

Em um estudo realizado avaliando a atividade antioxidante de peptídeos de queijo de búfala fresco, Silva *et al.* (2019) revelou que a capacidade antioxidante foi proporcional a concentração do peptídeo, atingindo valores de $33,39 \pm 0,06\%$ a $63,27 \pm 0,18\%$ em concentrações de 2,5 a 20 mg / mL, respectivamente ($p < 0,05$).

A quantidade de proteína extraída nem sempre é responsável pela atividade antioxidante, mas sim o tipo e sequência de aminoácido obtido, que atua como doador de prótons para estabilizar os radicais livres (MAHATMANTO *et al.*, 2014).

4 CONCLUSÃO

Neste estudo foi obtido o perfil peptídico de coalhada caprina saborizada com maracujá, verificando que é um produto rico em nutrientes, propriedades probióticas e moléculas bioativas. Neste novo produto, foi possível extrair frações peptídicas, assim como detectar a sua capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) e evidenciar a alta taxa de atividade antioxidante (82%) proveniente desse produto. Diante disto, as propriedades identificadas atribuem ao produto propriedades bioativas, capaz de promover benefícios à saúde dos seus consumidores.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAMID, M., OTTE, J., DE GOBBA, C., OSMAN, A., & HAMADA, E. Angiotensin I converting enzyme inhibitory activity and antioxidant capacity of bioactive peptides derived from enzymatic hydrolysis of buffalo milk proteins. **International Dairy Journal**, v.66, p.91–98, 2017.

AGUILAR-TOALÁ, J. E., SANTIAGO-LÓPEZ, L., PERES, C. M., PERES, C., GARCIA, H. S., VALLEJO-CORDOBA, B., HERNÁNDEZ-MENDOZA, A. Assessment of multifunctional activity of bioactive peptides derived from fermented milk by specific *Lactobacillus plantarum* strains. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.1, p.65–75, 2017.

ALMEIDA JÚNIOR, W. L. G. et al. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. **Food Control**, Vurrey, v. 53, p. 96-103, 2015.

AKALIN, A. S. Dairy-derived antimicrobial peptides: Action mechanisms, pharmaceutical uses and production proposals. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 36, n. 2, p. 79-95, 2014.

AO, J., & LI, B. Stability and antioxidative activities of casein peptide fractions during simulated gastrointestinal digestion in vitro: Charge properties of peptides affect digestive stability. **Food Research International**, 52, 334–341, 2013.

ARRUTIA, F., RUBIO, R., & RIERA, F. A. Production and membrane fractionation of bioactive peptides from a whey protein concentrate. **Journal of Food Engineering**, v.184, p.1–9, 2016.

Aryana, K. J., & Olson, D. W. (). A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. **Journal of Dairy Science**, v.100, n.12, 9987–10013, 2017.

- ARRUDA, M. S. et al. New peptides obtained by hydrolysis of caseins from bovine milk by protease extracted from the latex *Jacaratia corumbensis*. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 73-79, 2012.
- BAPTISTA, D. P. et al. A Survey of the Peptide Profile in Prato Cheese as Measured by MALDI-MS and Capillary Electrophoresis. **Journal of Food Science**, New Jersey, v. 82, n. 2, p. 386-393, 2017.
- BEZERRA, V. S., CAMPOS J.,F., SILVA R.A., PORTO T.S., LIMA FILHO J.L., PORTO A.L.F., Biotechnological richness of the northeastern semi-arid region: antioxidant activity of casein hydrolysates from Moxotó goat milk (*Capra hircus Linnaeus*, 1758) obtained by papain action, **Food Sci. Technol**, Campinas, v.33, n.3, p. 513-520, July-Sept. 2013.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v.28, n.1, p.25–30, 1995.
- CHAVES-LÓPEZ, C., SERIO, A., PAPARELLA, A., MARTUSCELLI, M., CORSETTI, A., TOFALO, R., & SUZZI, G. Impact of microbial cultures on proteolysis and release of bioactive peptides in fermented milk. **Food Microbiology**, v.42, p.117–121, 2014.
- CHOBERT, J.-M., Khaled EL-ZAHAR, Sitohy, M., Dalgalaarrondo, M., Métro, F., Choiset, Y., & Haertlé, T. Angiotensin I-converting-enzyme (ACE)- inhibitory activity of tryptic peptides of ovine β -lactoglobulin and of milk yoghurts obtained by using different starters. **Lait**, v.19, p.141–152, 2005.
- CONTRERAS, M. DEL M., CARRÓN, R., MONTERO, M. J., RAMOS, M., & RECIO, I. Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity. **International Dairy Journal**, v.19, n.10, p.566–573, 2009.
- CONTRERAS, M. DEL M., SANCHEZ, D., SEVILLA, M. Á., RECIO, I., & AMIGO, L. Resistance of casein-derived bioactive peptides to simulated gastrointestinal digestion. **International Dairy Journal**, v.32, n.2, p.71–78, 2013.
- CUMBY, N., ZHONG, Y., NACZK, M., & SHAHIDI, F. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. **Food Chemistry**, v.109, n.1, p.144–148, 2008.
- CUSHMAN, D. W., & CHEUNG, H. S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. **Biochemical Pharmacology**, v.20, n.7, p.1637–1648, 1971.
- DALLAS, D. C., CITERNE, F., TIAN, T., SILVA, V. L. M., KALANETRA, K. M., FRESE, S. A., BARILE, D. Peptidomic analysis reveals proteolytic activity of kefir microorganisms on bovine milk proteins. **Food Chemistry**, v.197, p.273–284, 2016.
- DE CASTRO, R. J. S., & SATO, H. H. Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in

the food and pharmaceutical industries. **Food Research International**, v.74, p.185–198, 2015.

DE LIMA, M. DOS S. F., DA SILVA, R. A., DA SILVA, M. F., DA SILVA, P. A. B., COSTA, R. M. P. B., TEIXEIRA, J. A. C., CAVALCANTI, M. T. H. Brazilian Kefir-Fermented Sheep's Milk, a Source of Antimicrobial and Antioxidant Peptides. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, p.1–10, 2017.

DUPONT, D., MANDALARI, G., MOLLÉ, D., JARDIN, J., ROLET-RÉPÉCAUD, O., DUBOZ, G., MACKIE, A. R. Food processing increases casein resistance to simulated infant digestion. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.54,n.11, p.1677–1689, 2010.

EBNER, J., AŞÇI ARSLAN, A., FEDOROVA, M., HOFFMANN, R., KÜÇÜKÇETİN, A., & PISCHETSRIEDER, M. Peptide profiling of bovine kefir reveals 236 unique peptides released from caseins during its production by starter culture or kefir grains. **Journal of Proteomics**, v.117, p.41–57, 2015.

ESMAEILPOUR, M., Ehsani, M. R., Aminlari, M., Shekarforoush, S., & Hoseini, E. Antimicrobial activity of peptides derived from enzymatic hydrolysis of goat milk caseins. **Comparative Clinical Pathology**, v.25, n.3, p.599–605, 2016.

ESPEJO-CARPIO, F. J., GARCÍA-MORENO, P. J., PÉREZ-GÁLVEZ, R., MORALES-MEDINA, R., GUADIX, A., & GUADIX, E. M. Effect of digestive enzymes on the bioactive properties of goat milk protein hydrolysates. **International Dairy Journal**, v.54, p.21–28, 2016.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Summary of Food and Agriculture Statistics 2016. Disponível em : <<http://www.fao.org>> acessado em 12 de Março de 2019.

FARVIN, K. H. S., BARON, C. P., NIELSEN, N. S., OTTE, J., & JACOBSEN, C. Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 2 — characterisation of peptide fractions. **Food Chemistry**, v.123, p.1090–1097, 2010.

FERNÁNDEZ-TOMÉ, S., MARTÍNEZ-MAQUEDA, D., TABERNERO, M., LARGO, C., RECIO, I., & MIRALLES, B. Effect of the long-term intake of a casein hydrolysate on mucin secretion and gene expression in the rat intestine. **Journal of Functional Foods**, v.33, n.176–180, 2017.

FIALHO, T. L., CARRIJO, L. C., MAGALHÃES JÚNIOR, M. J., BARACAT-PEREIRA, M. C., PICCOLI, R. H., & DE ABREU, L. R. Extraction and identification of antimicrobial peptides from the Canastra artisanal minas cheese. **Food Research International**, v.107, p.406–413, 2018.

GHRIBI, A. M., SILA, A., PRZYBYLSKI, R., NEDJAR-ARROUME, N., MAKHLOUF, I., BLECKER, C., BESBES, S. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein concentrate. **Journal of Functional Foods**, v.12, p.516–525, 2015.

HA, M., SABHERWAL, M., DUNCAN, E., STEVENS, S., STOCKWELL, P., MCCONNELL, M., CARNE, A. In-depth characterization of sheep (*Ovis aries*) milk whey proteome and comparison with cow (*Bos taurus*). **PLoS ONE**, v.10, n.10, 2015.

HERNÁNDEZ-LEDESMA, B. et al. Dairy protein hydrolysates: peptides for health benefits. **Internacional Dairy Journal**, Amsterdam, v. 38, n. 2, p. 82-100, 2014.

HODGKINSON, A. J., Wallace, O. A. M., Smolenska, G., & Prosser, C. G. Gastric digestion of cow and goat milk: Peptides derived from simulated conditions of infant digestion. **Food Chemistry**, v.276, p.619–625, 2019.

HUMA, N., RAFIQ, S., SAMEEN, A., PASHA, I., & KHAN, M. I. Antioxidant potential of buffalo and cow milk Cheddar cheeses to tackle human colon adenocarcinoma (Caco-2) cells. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.31, p. 287–292, 2018.

JIN, Y., YU, Y., QI, Y., WANG, F., YAN, J., & ZOU, H. (). Peptide profiling and the bioactivity character of yogurt in the simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Proteomics**, v.141, p.24–46, 2016.

KAROU, S. D., TCHACONDO, T., OUATTARA, L., ANANI, K., SAVADOGO, A., AGBONON, A., ... SIMPORE, J. Antimicrobial, antiplasmodial, haemolytic and antioxidant activities of crude extracts from three selected Togolese medicinal plants. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n.10, p.808–813, 2011.

KOPF-BOLANZ, K. A., SCHWANDER, F., GIJS, M., VERGE, G., PORTMANN, R., & EGGER, L. Validation of an In vitro Digestive System for Studying Macronutrient **Decomposition in**, v.5, p.245–250, 2012.

KOPF-BOLANZ, K. A., SCHWANDER, F., GIJS, M., VERGÈRES, G., PORTMANN, R., & EGGER, L. Impact of milk processing on the generation of peptides during digestion. **International Dairy Journal**, v. 35, n.2, p.130–138, 2014.

LIMA, M. S. F. et al. Queijo de Coalho artesanal: fonte alternativa de peptídeos antimicrobianos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 20, n. 0, p. 1-7, 2017.

LIMA, M. S. F. et al Brazilian Kefir-Fermented Sheep's Milk, a Source of Antimicrobial and Antioxidant Peptides **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, V. 17, p.9365-8, 2017.

LÓPEZ-EXPÓSITO, I.; AMIGO, L.; RECIO, I. A mini-review on health and nutritional aspects of cheese with a focus on bioactive peptides. **Dair**

MACORI, G., & COTTER, P. D. Novel insights into the microbiology of fermented dairy foods. **Current Opinion in Biotechnology**, n.49, p.172–178, 2018.

MAHATMANTO, R. J. et al. Strategies for the discovery, identification and validation of milk protein-derived bioactive peptides. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 50, p. 26-43, 2014.

MEDEIROS, M. B. T. et al. Molecular identification of naturally occurring bacteriocinogenic and bacteriocinogenic-like lactic acid bacteria in raw milk and soft cheese. **Journal of Dairy Science**, Amsterdam, v. 93, n. 7, p. 2880-2886, 2010.

MEIRA, S. M. M., DAROIT, D. J., HELFER, V. E., CORRÊA, A. P. F., SEGALIN, J., CARRO, S., & BRANDELLI, A. (). Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. **Food Research International**, v.48,n.1, p.322–329, 2012.

MØLLER, K. K., RATTRAY, F. P., & ARDÖ, Y. Application of selected lactic acid bacteria and coagulant for improving the quality of low-salt Cheddar cheese: Chemical, microbiological and rheological evaluation. **International Dairy Journal**, v.33,n.2, p.163–174, 2013.

MORENO-MONTORO, M., OLALLA-HERRERA, M., RUFÍAN-HENARES, J. Á., MARTÍNEZ, R. G., MIRALLES, B., BERGILLOS, T., JAUREGI, P. Antioxidant, ACE-inhibitory and antimicrobial activity of fermented goat milk: activity and physicochemical property relationship of the peptide components. **Food Funct.** 2017.

MOSLEHISHAD, M., EHSANI, M. R., SALAMI, M., MIRDAMADI, S., EZZATPANAH, H., NASLAJI, A. N., & MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637. **International Dairy Journal**, v.29, n.2, p.82–87, 2013.

MROS, S., CARNE, A., HA, M., BEKHIT, A. E. D., YOUNG, W., & MCCONNELL, M. Comparison of the bioactivity of whole and skimmed digested sheep milk with that of digested goat and cow milk in functional cell culture assays. **Small Ruminant Research**, v.149, p.202–208, 2017.

NIELSEN, M. S. et al. Peptide profiles and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: Effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. **International Dairy Journal**, Netherlands, v. 19, n. 3, p. 155-165, 2009.

NONGONIERMA, A. B.; FITZGERALD, R. J. Strategies for the discovery, identification and validation of milk protein-derived bioactive peptides. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 50, p. 26-43, 2016.

PAPADIMITRIOU, C. G., VAFOPOULOU-MASTROJIANNAKI, A., SILVA, S. V., GOMES, A. M., MALCATA, F. X., & ALICHANIDIS, E. Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. **Food Chemistry**, v.105, n.2, p.647–656, 2007.

PAQUEREAU, Y. et al. Peptide profiling and the bioactivity character or yogurt in the simulated gastrointestinal digestion. **Journal of Proteomics**, Valencia, v. 141, p. 24-46, 2016.

PEÑA-RAMOS, E. A., & XIONG, Y. L. Antioxidant Activity of Soy Protein Hydrolysates in a Liposomal System. **Journal of Food Science**, v.67, n.8, p.2952–2956, 2002.

PICARIELLO, G., MAMONE, G., NITRIDE, C., ADDEO, F., & FERRANTI, P. (). Protein digestomics: Integrated platforms to study food-protein digestion and derived functional and active peptides. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v.52, p.120–134, 2013.

QUIRÓS, A., CONTRERAS, M. DEL M., RAMOS, M., AMIGO, L., & RECIO, I. (). Stability to gastrointestinal enzymes and structure-activity relationship of ??-casein-peptides with antihypertensive properties. **Peptides**, v.30, n.10, p.1848–1853, 2009.

SABEENA FARVIN, K. H., BARON, C. P., NIELSEN, N. S., OTTE, J., & JACOBSEN, C. Antioxidant activity of yoghurt peptides: Part 2 – Characterisation of peptide fractions. **Food Chemistry**, v.123,n.4, p.1090–1097, 2010.

SENTANDREU, M. A., & TOLDRÁ, F. A fluorescence-based protocol for quantifying angiotensin-converting enzyme activity. **Nature Protocols**, v.1,n.5, p.2423–7, 2006.

SILVA, R. A. et al. Can artisanal “Coalho” cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food? **Food Chemistry**, Barking, v. 135, n. 3, p. 1533-1538, 2012.

SILVA, R. A. et al. Proteomic and peptidomic profiling of Brazilian artisanal ‘Coalho’ cheese. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, EUA, v. 96, n. 13, p. 4337-4344, 2016.

SILVA, D. D. et al. Bioactive water-soluble peptides from fresh buffalo cheese may be used as product markers, **LWT - Food Science and Technology**, V.108, p. 97–105, 2019.

SIMSEK, S., SÁNCHEZ-RIVERA, L., EL, S. N., KARAKAYA, S., & RECIO, I. Characterisation of in vitro gastrointestinal digests from low fat caprine kefir enriched with inulin. **International Dairy Journal**, v.75, p.68–74, 2017.

SOLIERI, L., RUTELLA, G. S., & TAGLIAZUCCHI, D. Impact of non-starter lactobacilli on release of peptides with angiotensin-converting enzyme inhibitory and antioxidant activities during bovine milk fermentation. **Food Microbiology**, v.51, p.108–116, 2015.

TENORE, G. C., RITIENI, A., CAMPIGLIA, P., STIUSO, P., DI MARO, S., SOMMELLA, E., NOVELLINO, E. Antioxidant peptides from “Mozzarella di Bufala Campana DOP” after simulated gastrointestinal digestion: In vitro intestinal protection, bioavailability, and anti-haemolytic capacity. **Journal of Functional Foods**, v.15, n.365–375, 2015.

THÉOLIER, J., HAMMAMI, R., LABELLE, P., FLISS, I., & JEAN, J. Isolation and identification of antimicrobial peptides derived by peptic cleavage of whey protein isolate. **Journal of Functional Foods**, v.5, n.2, p.706–714, 2013.

TIMÓN, M. L., PARRA, V., OTTE, J., BRONCANO, J. M., & PETRÓN, M. J. Identification of radical scavenging peptides (< 3 kDa) from Burgos-type cheese. *Lebensmittel- Wissenschaft und -Technologie*- **Food Science and Technology**, v.57, p.359–365, 2014.

VINCENZETTI, S., POLIDORI, P., MARIANI, P., & VITA, A. Protein fraction characterization of sheep milk from the Comisana breed. **Veterinary Research Communications**, v.32 n.1, p.179-81, 2008.

WU, H.-C., CHEN, H.-M., & SHIAU, C.-Y. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). **Food Research International**, v. 36,n.9, p.949–957, 2003.

XUE, Z., YU, W., LIU, Z., WU, M., KOU, X., & WANG, J. Preparation and antioxidative properties of a rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate and three peptide fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57,n.12, p.5287–5293, 2009.

ZUBIA, M. et al. Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. **Food Chemistry**, v. 116, n. 3, p. 693-701, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As Coalhadas elaboradas com leite de cabra são formulações inovadoras para os produtores de leite caprino no Brasil, pelo seu diferencial de sabor e diversificação de produto, sendo uma importante fonte de renda e de geração de empregos. No desenvolvimento do presente estudo, foi possível observar que os produtos formulados obtiveram uma avaliação positiva dos seus aspectos sensoriais, boa estabilidade de vida de prateleira, um importante potencial probiótico e a partir deles, pode-se obter peptídeos com atividade biológica, como os antimicrobianos e antioxidantes. Os resultados obtidos neste estudo apresentou viabilidade para a indústria de laticínios, principalmente para a formulação de produtos com características geográficas regionais, diferenciando-os estes produtos daqueles já disponíveis no mercado. Os peptídeos obtidos constituem um potencial para uso na indústria alimentícia funcional, visto que apresentaram importantes atividades biológicas.

ANEXOS

ANEXO 01 - FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL

Nome: _____	Data: __/__/__
Amostra: _____	
Prove a amostra e indique sua opinião em relação à aparência, aroma, sabor, textura e impressão global, utilizando a escala abaixo:	
9 gostei muitíssimo	Aparência: _____
8 gostei muito	Aroma: _____
7 gostei moderadamente	Sabor: _____
6 gostei ligeiramente	Textura: _____
5 nem gostei/ nem desgostei	Impressão Global: _____
4 desgostei ligeiramente	
3 desgostei moderadamente	
2 desgostei muito	
1 desgostei muitíssimo	
Assinale qual seria sua atitude em relação à compra do produto:	
<input type="checkbox"/> Eu certamente compraria este produto	
<input type="checkbox"/> Eu provavelmente compraria este produto	
<input type="checkbox"/> Tenho dúvidas se compraria ou não este produto	
<input type="checkbox"/> Eu provavelmente não compraria este produto	
<input type="checkbox"/> Eu certamente não compraria este produto	
Comentários: _____	

ANEXO 02 - APROVAÇÃO COMITÊ DE ÉTICA

UNIVERSIDADE DE
PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Perfil Sensorial de derivados lácteos saborizados

Pesquisador: HAYANNA ADLEY SANTOS DE ARRUDA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 01091618.2.0000.5207

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.277.246

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que desenvolverá diferentes formulações de produtos lácteos saborizados, adicionadas de culturas probióticas e frutooligossacarídeos

Objetivo da Pesquisa:

Esta pesquisa tem como objetivo desenvolver diferentes formulações de produtos lácteos saborizados, adicionadas de culturas probióticas e frutooligossacarídeos, bem como selecionar os que apresentarem melhor desempenho na avaliação sensorial, avaliando sua estabilidade durante o armazenamento a partir de análises físico-químicas e microbiológicas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS:

Possibilidade de reações alérgicas aos componentes do derivado lácteo, o participante será encaminhado para atendimento médico emergencial. Também um pequeno risco, quanto ao desconforto sensorial. Após a análise, o participante receberá água para aliviar o desconforto, caso haja.

BENEFÍCIOS:

Os produtos derivados lácteos podem ser consumidos como alimentos funcionais por possuir potencial atividade simbiótica.