UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE I
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MIQUEAS OLIVEIRA MORAIS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TECNOLÓGICO BIOCONSERVANTE DE CULTURAS NATIVAS PARA USO EM PRODUTO LÁCTEO CAPRINO FERMENTADO

CAMPINA GRANDE
2023

MIQUEAS OLIVEIRA MORAIS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TECNOLÓGICO BIOCONSERVANTE DE CULTURAS NATIVAS PARA USO EM PRODUTO LÁCTEO CAPRINO FERMENTADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para obtenção do grau de mestre.

Área de concentração: Ciências da saúde

Orientadora: Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti

Coorientadora: Dra. Karina Maria Olbrich dos Santos

CAMPINA GRANDE
2023

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

S586c Silva, Miqueas Oliveira Morais da.

Caracterização do potencial tecnológico bioconservante de culturas nativas para uso em produto lácteo caprino fermentado [manuscrito] / Miqueas Oliveira Morais da Silva. - 2023.

87 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Profa. Dra. Flávia Carolina Alonso Buriti, Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS. "

1. Culturas nativas. 2. Inulina. 3. Leite cru caprino. 4. Bebida láctea caprina. 5. Atividade inibitória. I. Título

21. ed. CDD 615

Elaborada por Geovani S. de Oliveira - CRB - 15/1009

Biblioteca Central BC/UEPB

MIQUEAS OLIVEIRA MORAIS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TECNOLÓGICO BIOCONSERVANTE DE CULTURAS NATIVAS PARA USO EM PRODUTO LÁCTEO CAPRINO FERMENTADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba para obtenção do grau de mestre.

Área de concentração: Ciências da saúde

Aprovada em: 12/ 09/ 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Prof.ª Dr.ª Eliane Rolim Florentino
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dr. Antônio Silvio do Egito
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por ser tão presente em minha vida e Autor do meu destino. Aos meus pais, Rubenilda Maria e José Oliveira/Fofinho (*in memoriam*), por serem essenciais na minha vida. Aos meus irmãos, Jaelcio e Gabriela, por transparecerem o verdadeiro sentido da fraternidade. À minha esposa Laura, pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, desejo expressar minha profunda gratidão a Deus, o doador da vida e da infinita benevolência, por manter minha saúde e fornecer-me a força necessária para superar os obstáculos que surgiram em meu caminho. Sou grato também pela bênção de ter uma família excepcional e por cruzar meu destino com almas tão especiais, cujo altruísmo e generosidade nunca vacilaram ao longo da realização deste trabalho. Agradeço a Ele, que se manifesta diariamente através dos pequenos e belos detalhes da vida.

Este projeto transformou-se em realidade graças à colaboração de muitas pessoas, às quais dedico minha emocionada gratidão. À minha querida mãe, Rubenilda, dirijo minha eterna gratidão, pois a ela devo meu progresso, pois nunca faltou seu apoio, amor, carinho, incentivo e inspiração. Ao meu pai, José Oliveira/Fofinho (em memória), dedico com profundo amor e saudade, ainda que sua presença física não possa ser desfrutada neste momento jubiloso da minha jornada. No entanto, não posso deixar de expressar minha gratidão a ele, pois muito do que sou hoje deve-se a seus ensinamentos e valores transmitidos. Agradeço-lhe por tudo! O esforço incansável e a dedicação diária de vocês para garantir minha educação e permitir que eu concretizasse meus sonhos são inestimáveis, e minha gratidão e amor serão eternos.

A meu irmão, Jaelcio, expresso meu agradecimento por ter me presenteado com um notebook no início da minha jornada acadêmica, mas, acima de tudo, por ter sido um modelo a seguir em minha vida. Sua perseverança em assegurar que eu chegasse até aqui, sua lição de que o futuro é moldado pela dedicação constante no presente e sua capacidade de instilar confiança nas minhas decisões são inestimáveis. A minha irmã, Gabriela, agradeço por todas as correções de texto ao longo do percurso, por estar sempre disponível para me ouvir, por estar ao meu lado nos momentos cruciais e por todo o incentivo dado durante a jornada acadêmica. À minha cunhada, Thaysa, também merece meu sincero agradecimento por ser uma parte integral desta conquista compartilhada. Sou profundamente grato por acreditar no meu sonho, pelo apoio contínuo, pela amizade calorosa e pela atenção inestimável sempre que precisei.

Agradeço a todos os meus familiares, que depositaram sua confiança no meu esforço, mesmo quando, em muitas ocasiões, não pude dedicar-lhes a atenção que mereciam, devido às longas horas de estudo e trabalho.

À minha esposa Laura, que, acima de tudo, é minha grande amiga, presente nos momentos difíceis com palavras de encorajamento. Agradeço por sua compreensão e apoio ao longo da minha trajetória acadêmica, por sua infinita paciência e por entender as muitas horas em que estive ausente devido ao estudo e ao trabalho. Ela demonstrou um carinho inigualável e não mediu esforços para me acompanhar nesta etapa da minha vida, impedindo-me de desistir, mesmo quando isso significava abrir mão de suas próprias aspirações. Sou grato por seu amor, carinho e por seu auxílio inestimável na busca por soluções quando parecia que não havia nenhuma. Laura, você compartilhou comigo tanto momentos de tristeza quanto de alegria, e por isso, sou eternamente grato.

À minha orientadora, Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti, desejo expressar minha sincera gratidão pela confiança depositada, pela paciência incansável, pela dedicação inabalável, pelos valiosos conselhos e pelos preciosos ensinamentos.

A minha coorientadora, Karina Maria Olbrich dos Santos, pela disponibilidade, pelo seu incentivo e ensinamentos.

Quero expressar minha sincera gratidão às minhas estimadas colegas de laboratório, Ana Paula e Vanda. Sua colaboração incansável e comprometida com a pesquisa foi de importância indescritível para a conquista que alcançamos. Suas contribuições valiosas não apenas facilitaram meu caminho, mas também enriqueceram nossa jornada acadêmica.

À Isadora, por todas as nossas conversas e trocas de conhecimento, pelo apoio em várias análises, pela parceria fundamental nessa etapa da minha vida.

À banca examinadora, Prof.ª Dr.ª Eliane Rolim Florentino e Dr. Antonio Silvio do Egito, pela disponibilidade de participar da Defesa da Dissertação e pela certeza das suas valiosas contribuições para melhoria desse trabalho.

À Dr.ª Elainy Virgínia dos Santos Pereira e ao Dr. Giordanni Cabral Dantas, membros do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), desejo expressar minha profunda gratidão por toda a orientação oferecida, pelas esclarecedoras conversas e pela inestimável paciência demonstrada. A assistência de vocês desempenhou um papel fundamental em minha jornada. A dedicação de vocês à pesquisa e brilhante sabedoria são fontes de profundo agradecimento por tudo que pude absorver e aprender até o presente momento.

À professora Dr.ª Thaisa Abrantes Souza Gusmão, pela presteza ao disponibilizar o Laboratório de Análise Sensorial para os testes necessários para este trabalho.

A todos os provadores participantes da análise sensorial.

À Sweetmix Indústria Comércio e Importação, na pessoa da Annelise Pimenta, pela sua atenção e por nos ajudar doando os prebióticos que precisei durante a pesquisa. À Biotech

Brasil Fermentos e Coagulantes Ltda. pela doação da cultura de *Streptococcus thermophilus*. À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pelo fornecimento das culturas nativas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, aos docentes e técnicos administrativos.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) pelo auxílio à pesquisa através dos equipamentos multiusuários, ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e bolsas aos colaboradores deste trabalho.

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

RESUMO

O presente estudo foi divido em três etapas. Na etapa 1, foi avaliada a capacidade inibitória, *in vitro*, de bactérias láticas nativas, *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107, *Lactiplantibacillus plantarum* (CNPC001, CNPC002, CNPC003, CNPC004 e CNPC020) e *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, sobre cepas referências de microrganismos contaminantes *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 em meios sólidos tradicionalmente utilizados para a contagem desses microrganismos em alimentos. Na etapa 2, *L. plantarum* CNPC001 foi selecionado, devido à sua notável capacidade de inibir a cepa de *Salmonella*, para avaliar, em leite cru caprino fermentado, o seu potencial antimicrobiano sobre indicadores de contaminação (*E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp.). Para isso, foram produzidos, em triplicata, dois tratamentos em leite cru caprino, um apenas com o *starter Streptococcus thermophilus* QGE e outro com o *starter* e *L. plantarum* CNPC001 em cocultura. Na etapa 3, avaliou-se a estabilidade de uma bebida de leite caprino termicamente tratado, fermentada com *S. thermophilus* e *L. plantarum* CNPC001 em cocultura, adicionada de inulina e mel. Nas duas últimas etapas os produtos passaram por avaliações físico-químicas e microbiológicas. Apenas na etapa 3 determinou-se a composição centesimal e foi realizada a avaliação sensorial. Na etapa 1, *L. plantarum* CNPC001 obteve desempenho superior frente aos indicadores de contaminação e este microrganismo foi selecionado para prosseguir nos estudos em matriz alimentar, tanto no leite cru de cabra (etapa 2) quanto na bebida láctea fermentada de cabra (etapa 3). Quando incorporado na matriz alimentar, *L. plantarum* CNPC001 demonstrou efeito bioconservante significativo, inibindo *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp., além de manter uma viabilidade adequada, acima de 7 log UFC g^{-1}, tanto no leite cru de cabra quanto na bebida láctea fermentada. A bebida láctea caprina fermentada exibiu parâmetros microbiológicos e de composição adequados à legislação brasileira, especialmente indicadores sanitários, bactérias láticas e proteínas, nutriente este cujo teor foi apropriado para esta classificação de produto. O produto obteve boa aceitação sensorial global, com notas superiores a 8,9 numa escala de 0 a 10. Conclui-se, portanto, que a combinação de inulina, mel e cultura nativa potencialmente probiótica *L. plantarum* CNPC001 em cocultura com *S. thermophilus*, demonstra ser promissora para enriquecer funcionalmente o leite de cabra, bem como auxiliar na sua conservação.

Palavras-chave: culturas nativas; inulina; leite cru caprino; bebida láctea caprina; atividade inibitória.

ABSTRACT

The present study was divided into three stages. In the stage 1, the *in vitro* inhibitory capacity of native lactic bacteria, *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107, *Lactiplantibacillus plantarum* (CNPC001, CNPC002, CNPC003, CNPC004 and CNPC020), and *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, was evaluated on the reference strains of contamination microorganisms *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 in solid media traditionally used for the enumeration of these microorganisms in food. In stage 2, *L. plantarum* CNPC001 was selected, due to its remarkable ability to inhibit the *Salmonella* strain, to assess its antimicrobial potential in fermented raw goat milk against contamination indicators (*E. coli*, *S. aureus*, and *Salmonella* spp.). To do this, two distinct treatments were produced in triplicate in raw goat milk, one only with the starter *Streptococcus thermophilus* and the other with the starter and *L. plantarum* CNPC001 in co-culture. In stage 3, the stability of a beverage produced with thermally treated goat milk fermented with *S. thermophilus* and *L. plantarum* CNPC001 in co-culture, enriched with inulin and honey. In the last two stages, the products underwent physical-chemical and microbiological evaluations, with only stage 3 determining the proximate composition and sensory evaluation. The results of stage 1 revealed that *L. plantarum* CNPC001 outperformed the contamination indicators. Thus, this microorganism was selected to continue the studies in food matrices, both in raw goat milk (stage 2) and in fermented goat dairy products (stage 3). When incorporated into the food matrix, *L. plantarum* CNPC001 demonstrated a significant bio-preservative effect, inhibiting the growth of *E. coli*, *S. aureus*, and *Salmonella* spp. while maintaining adequate viability, above 7 log CFU g^{-1}, in both raw goat milk and fermented dairy beverage. The fermented goat milk beverage exhibited microbial parameters and composition within the limits established by Brazilian regulations, particularly sanitary indicators, lactic acid bacteria and protein content, nutrient this with appropriate levels for this food product classification. This product achieved good overall sensory acceptance, with scores above 8.9 on a scale from 0 to 10. In conclusion, the combination of inulin, honey, and the potentially probiotic native culture *L. plantarum* CNPC001 in co-culture with *S. thermophilus* shows to be promising in functionally enriching goat milk and aiding in its preservation.

Keywords: native cultures; inulin; raw goat milk; goat milk beverage; inhibitory activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Técnica de perfuração em ágar sólido em placas de Petri para avaliação do efeito bioconservante de cepas nativas..... 32

Figura 2 – Atividade antimicrobiana *in vitro* de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *E. coli* ATCC 25922 em BEM..... 43

Figura 3 – Atividade antimicrobiana *in vitro* de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *E. coli* ATCC 25922 em VRBA..... 43

Figura 4 – Atividade antimicrobiana *in vitro* de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *Staphylococcus aureus* ATCC 2592... 44

Figura 5 – Atividade antimicrobiana *in vitro* de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028..... 44

LISTA DE TABELAS

MATERIAIS E MÉTODOS

Tabela 1 – Ingredientes utilizados para a produção dos leites cru fermentado T1 e T2.... 35

Tabela 2 – Ingredientes utilizados para a produção da base láctea para o produto lácteo fermentado caprino (PF)..... 38

RESULTADOS E DISCUSÃO

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana de culturas nativas de bactérias láticas usando ensaio de difusão em ágar..... 45

Tabela 4 – Alterações nos valores médios de acidez titulável e pH das amostras testes..... 46

Tabela 5 – Populações de *S. thermophilus* detectados nos produtos lácteos fermentados caprinos, produto final, durante a fabricação (tempo 0) e armazenamento a 4 ± 1°C..... 47

Tabela 6 – Populações de *Lactiplantibacillus plantarum* detectadas no leite cru antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação e após 14 e 28 dias de armazenamento a 4 ± 1°C para o tratamento T2..... 48

Tabela 7 – Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C..... 50

Tabela 8 – Resultados de *Salmonella* spp. leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C..... 52

Tabela 9 – Composição média (± desvio padrão) do leite de cabra cru..... 53

Tabela 10 – Composição média (± desvio padrão) dos tratamentos de leite de cabra após a fermentação para o produto final..... 55

Tabela 11 – Alterações nos valores médios de acidez titulável e pH para o produto lácteo fermentado..... 56

Tabela 12 – Populações de *S. thermophilus* e *L. plantarum* detectadas no produto lácteo antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação e após 14 e 28 dias de armazenamento a 4 ± 1°C..... 58

Tabela 13 – Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no produto lácteo fermentado (APÊNDICE D) antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C..... 60

Tabela 14 – Valores gerais de aceitabilidade (média ± desvio padrão) obtidos na análise sensorial com 43 provadores para a produto lácteo fermentado (PF) após 7 e 28 dias de armazenamento..... 61

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	15
2	**OBJETIVOS**	17
2.1	**Objetivo geral**	17
2.2	**Objetivos específicos**	17
3	**REFERENCIAL TEÓRICO**	18
3.1	**Leite de cabra e suas potencialidades**	18
3.2	**Microrganismos probióticos**	19
3.3	**Culturas de bactérias láticas e suas potencialidades como probióticos e uso em alimentos**	20
3.4	**Família *Lactobacillaceae***	22
3.4.1	*Lacticaseibacillus rhamnosus* (anteriormente *Lactobacillus rhamnosus*)	22
3.4.2	*Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*)	23
3.4.3	*Limosilactobacillus mucosae (anteriormente Lactobacillus mucosae*)……..	23
3.5	**Uso de probióticos como bioconservantes em alimentos**	24
3.6	**Prebióticos**	24
3.6.1	**Inulina**	25
3.7	**Simbióticos**	26
3.8	**Produtos lácteos fermentados**	27
4	**MATERIAIS E METODOS**	29
4.1	**Local da pesquisa**	29
4.2	**Obtenção da matéria prima**	29
4.3	**Etapa 1: avaliação da capacidade inibitória de bactérias láticas sobre microrganismos indicadores de contaminação *in vitro***	30
4.3.1	Condições de cultivo das bactérias láticas nativas	30
4.3.2	Condições de cultivo das culturas de referência de indicadores de contaminação	31
4.3.3	Método de difusão em ágar para avaliação do efeito bioconservante de cepas nativas	31
4.3.3.1	*Interpretação dos resultados*	33
4.3.3.2	*Análise estatística*	33
4.4	**Etapa 2: avaliação da *L. plantarum* CNPC001 sobre indicadores de contaminação em leite cru fermentado**	33

4.4.1 Preparo do inóculo..... 33
4.4.2 Ensaios fermentativos e amostragem..... 34
4.4.3 Análises físico-químicas..... 35
4.4.4 Análises de bactérias láticas..... 35
4.4.5 Análise de indicadores de contaminação em leite cru e leite cru adicionado de bactérias láticas..... 36
4.4.6 Análise estatística dos resultados..... 37
4.5 Etapa 3: avaliação da estabilidade de produto lácteo fermentado com cultura iniciadora em cocultura com *L. plantarum* CNPC001, inulina e mel... 37
4.5.1 Ensaios fermentativos e amostragem..... 37
4.5.2 Determinação da composição centesimal do produto lácteo fermentado..... 38
4.5.3 Análises físico-químicas..... 39
4.5.4 Análises de bactérias láticas..... 39
4.5.5 Análise de indicadores de contaminação..... 40
4.5.6 Avaliação sensorial do produto lácteo fermentado..... 40
4.5.7 Análise dos resultados..... 41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 42
5.1 Etapa 1: avaliação da capacidade inibitória de bactérias láticas sobre microrganismos indicadores de contaminação *in vitro*..... 42
5.2 Etapa 2: avaliação de uma cultura nativa de bactéria lática sobre indicadores de contaminação em leite cru fermentado..... 46
5.2.1 Parâmetros físico-químicos e microbiológicos..... 46
5.2.2 Avaliação das bactérias láticas no leite cru fermentado..... 47
5.2.3 Avaliação dos indicadores de contaminação..... 48
5.3 Etapa 3: Avaliação da estabilidade de produto lácteo fermentado com cultura lática nativa, inulina e mel..... 53
5.3.1 Avaliações bromatológicas e físico-químicas do leite de cabra *in natura*..... 53
5.3.2 Avaliações bromatológicas e físico-químicas do produto lácteo fermentado.... 54
5.3.3 Populações de bactérias láticas..... 57
5.3.4 Pesquisa de indicadores de contaminação..... 59
5.3.5 Avaliação sensorial do produto lácteo fermentado..... 61
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 63

APÊNDICE A TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE..... 80
APÊNDICE B INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS..... 83
APÊNDICE C Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C..... 85
APÊNDICE D Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no produto lácteo fermentado antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C..... 87

1 INTRODUÇÃO

Durante a pandemia de COVID-19, os produtos alimentícios que são vistos pelos consumidores como uma forma positiva de melhorar sua imunidade tiveram um aumento de vendas de 3 a 4 vezes até 2020. A longo prazo, a pandemia afeta todo o setor alimentar em três domínios principais: segurança alimentar, ingredientes alimentares bioativos e sustentabilidade (Galanakis *et al.*, 2021).

Esse aumento na busca por alimentos funcionais também está relacionado ao crescente desenvolvimento científico na área de nutrição, especialmente no que diz respeito à influência dos alimentos, como os probióticos e as fibras dietéticas, na composição do microbioma intestinal e, consequentemente, na saúde humana (Haikonen *et al*., 2022). Em vista disso nota-se que a busca por alimentos funcionais tem aumentado amplamente, em parte devido à conscientização do consumidor sobre seus benefícios à saúde, e também pelo crescente desenvolvimento científico na área de nutrição aliado ao mercado altamente competitivo de alimentos (Da Silva *et al*., 2022; Garcia *et al*., 2020).

Seguindo essa tendência tecnológica, os prebióticos e probióticos são os principais insumos funcionais utilizados na indústria de alimentos por possuírem características bem estabelecidas, capazes de proporcionar saúde e bem-estar para os consumidores (Balthazar *et al*., 2017).

Probióticos são definidos como microrganismos, que quando administrados vivos e em quantidade adequada, oferecem benefícios para saúde do hospedeiro-alvo, através da contribuição para uma microbiota intestinal e um sistema imunológico saudáveis (Hill *et al*., 2014; Pereira *et al*., 2019). De acordo com a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (*International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics*, ISAPP), o termo prebiótico refere-se a "um substrato que é utilizado seletivamente pelos microrganismos hospedeiros que conferem benefício à saúde" (Gibson *et al*., 2017).

A simbiose entre esses insumos corrobora com a potencialização dos seus efeitos sobre a saúde do consumidor (Balthazar *et al*., 2019), assim como é capaz de contribuir alterando a textura do alimento, o que pode favorecer o desenvolvimento de produtos sensorialmente mais agradáveis (Guimarães *et al*., 2020).

À vista disso, a Embrapa Caprinos e Ovinos desde o ano de 2010 tem desenvolvido estudos na prospecção de bactérias láticas com propriedades probióticas e aptidão tecnológica para uso em produtos lácteos probióticos a partir de cepas isoladas de leite e queijos artesanais

do Ceará. Para certificação de suas características funcionais, nutricionais e de segurança utiliza-se de testes *in vitro* e *in vivo* para a seleção preliminar dos isolados (Abreu, 2015; Moraes *et al*., 2017; Rodrigues *et al*., 2018).

Muito embora seja elevado o número de culturas probióticas comerciais bem caracterizadas, é importante e necessário o investimento no estudo de culturas nativas de bactérias láticas (BAL) candidatas a novos probióticos, com promissoras atividades que contribuem para a saúde e propriedades tecnológicas, em especial, com intuito de beneficiar pequenos produtores, tendo em vista que são os pequenos laticínios que possuem um acesso mais restrito a estirpes probióticas (Da Silva *et al*., 2022; Santos *et al*., 2015).

Produtos lácteos fermentados, têm sido descritos como veículos de interesse para a incorporação de bactérias probióticas. O uso de matrizes alimentares alternativas, como leite de cabra, pode ser uma boa opção para a produção de alimentos funcionais, principalmente para indivíduos que não podem ingerir produtos lácteos bovinos devido a alergias às proteínas desse leite (Rolim *et al*., 2015).

O leite de caprinos tem um importante papel como fonte de cálcio, de gordura de elevada digestibilidade, de proteína de alto valor biológico e hipoalergenicidade. Suas propriedades nutricionais e funcionais justificam sua singularidade e demonstram que seu uso na fabricação de produtos representam um nicho promissor para diversificar e inovar a indústria láctea (Nayik *et al*., 2021; Santos *et al*., 2023).

Tendo em vista o que foi mencionado, destaca-se a importância da valorização de laticínios caprinos. Assim, produtos lácteos fermentados caprinos adicionados de prebiótico e/ou probiótico tornam-se um potencial alimento funcional que pode conferir efeitos benéficos ao consumidor. Assim sendo, ressalta-se a relevância de pesquisas cuja finalidade envolvam a produção de alimentos funcionais de baixo custo e a melhoria da viabilidade probiótica após armazenamento ou durante o processo de fabricação dos alimentos funcionais (Santos *et al*., 2017).

O presente estudo revelou resultados promissores em relação à capacidade de preservação biológica de cepas nativas pertencentes à família *Lactobacilaceae*. Destaca-se que a cepa *L. plantarum* CNPC001 obteve desempenho superior frente ao indicador de contaminação *Salmonella* spp. Por essa razão foi escolhida para avaliação bioconservante em leite cru fermentado caprino e incorporada em uma bebida láctea fermentada em cocultura com *S. thermophilus*, enriquecida de inulina e mel, em leite de cabra tratado termicamente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar o potencial bioconservante de culturas láticas nativas, *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107, *Lactiplantibacillus plantarum* (CNPC001, CNPC002, CNPC003 e CNPC 004) e *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 para o uso pelo setor lácteo.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos desse trabalho envolveram:

a) estudar a capacidade inibitória de *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107, *Lactiplantibacillus plantarum* (CNPC001, CNPC002, CNPC003 e CNPC 004) e *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 sobre microrganismos indicadores de contaminação, *in vitro*, selecionando a com melhor desempenho para inserção em matriz láctea;
b) avaliar o efeito bioconservante da *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC001 da coleção da Embrapa em leite cru fermentado;
c) avaliar a estabilidade de uma bebida láctea fermentada adicionada de *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC001 em cocultura com *S. thermophilus*, enriquecida de inulina e mel, em leite de cabra tratado termicamente.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Leite de cabra e suas potencialidades

A literatura aponta um crescente interesse pelo uso do leite de cabra e seus derivados como alimentos funcionais, haja vista suas propriedades nutricionais e terapêuticas. O leite de caprinos, quando comparado ao bovino, apresentam alcalinidade, maior digestibilidade, propriedade hipoalergênica, além de sofrer metabolismo lipídico mais eficiente no trato intestinal e possuir conteúdo mineral superior (zinco, cálcio, fósforo, potássio e magnésio) (Clark; Mora García, 2017; Pulina *et al*., 2018; Verruck; Dantas; Prudencio, 2019).

Também se destacam os seus lipídios e o teor de proteínas do soro de elevado valor biológico e funcional (Liu; Zhang, 2022). Algumas dessas características podem ter influência significativa em propriedades tecnológicas durante a fabricação de subprodutos derivados desse leite. Levando-se em consideração esses aspectos, o leite de cabra afirma-se como um nicho promissor para a indústria láctea.

O rebanho mundial de caprinos em 2018 era da ordem de 1,04 bilhões de cabeças, enquanto a nível nacional, 10,7 milhões de cabeças (Food and Agriculture Organization of The United Nations, 2020). Em observações feitas no Boletim Ativos de Ovinos e Caprinos (2016) é possível notar que o rebanho caprino do Brasil está localizado na região Nordeste, cerca de 90%, onde em 2017, contribuiu com uma média de 70% da produção nacional de leite, que de acordo com o censo agropecuário representa 18.245 (mil litros) (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017). Apesar da expressiva participação na produção de leite, a produção individual por animal ainda é baixa (Perdigão; Oliveira; Cordeiro, 2016).

Embora a produção de leite de cabra ainda seja pequena na América, ela mostrou um aumento substancial nos últimos anos. Nas últimas décadas, aumentou duas vezes mais, com as tendências do mercado sugerindo que até 2030 aumentará mais 53% (Pulina *et al*., 2018). No Brasil, o mercado de leite de cabra está em desenvolvimento, espera-se que o crescimento da demanda de consumidores, a organização do setor, ações de pesquisa, desenvolvimento e implementação de tecnologias nessa área, contribuam expandindo seu mercado e atraindo investimentos (Boletim Ativos de Ovinos e Caprinos, 2016; Perdigão; Oliveira; Cordeiro, 2016).

Vale ressaltar também que além da eficiência em termos econômicos, fatores ambientais devem ser considerados na busca por tecnologias para o aumento na eficiência e sustentabilidade de sistemas de produção de leite caprino e seus derivados, dessa forma,

estimulando o desenvolvimento de novos produtos, processos e serviços inovadores, cujo foco seja o fomento desse nicho no Brasil. À vista disso pode-se compreender o perceptível crescimento do mercado nacional dos produtos caprinos, isso se explica pelo fato de que o leite de cabra pode ser usado para produzir uma grande variedade de produtos, como bebidas, leite a temperatura ultra alta, produtos fermentados (queijo, iogurte e frozen), sorvete, manteiga, condensado/produtos secos, doces e balas (Aryana; Olson, 2017; Fazilah *et al*., 2018; Verruck; Dantas; Prudencio, 2019).

O incentivo do emprego do leite caprino como uma inovação na fabricação de novos produtos tem ocorrido mundialmente há mais de duas décadas. Assim, apesar de não ser recente, tal incentivo ainda apresenta baixos níveis de desempenho. Portanto, essa é uma área que pode ser mais investigada e tem potencial para aumentar a gama de produtos derivados de leite de cabra produzidos com qualidade e baixo custo (Verruck; Dantas; Prudencio, 2019).

Pesquisas com probióticos estão focadas, principalmente, em produtos lácteos bovinos devido à aceitabilidade mundial e à disponibilidade desse tipo de leite (Rodrigues *et al*., 2018). No entanto, o leite de cabra também é adequado como veículo de bactérias probióticas e para produzir produtos lácteos funcionais, tendo capacidade de manter a viabilidade dos probióticos durante o prazo de validade (Ranadheera; Naumovski; Ajlouni, 2018).

3.2 Microrganismos probióticos

No âmbito do desenvolvimento de novos produtos, a associação do leite de cabra com cepas específicas de culturas probióticas configuram um alto potencial quanto às suas propriedades funcionais e terapêuticas (Garcia; Travassos, 2012; Xavier-Santos *et al*., 2020). Em relação aos aspectos tecnológicos empregados em alimentos, um candidato probiótico deve apresentar capacidade de sobreviver a operações de processamento e armazenamento, e é desejável que contribua ao sabor e textura do produto final (Moraes *et al*., 2017).

Quando avaliado na literatura, estudos relatam a eficiência dos produtos lácteos fermentados de cabra como matriz apropriada para servir como veículo para bactérias probióticas da família *Lactobacillaceae*. É válido ressaltar que essa incorporação não causou alterações na qualidade das características do produto, pelo contrário, melhorou seus atributos sensoriais, além de conferir efeito inibitório contra patógenos deteriorantes, produção enzimas para digestão de lactose, alívio da constipação, assim como favorecer a redução dos níveis séricos de colesterol. (Almeida Neta *et al*., 2018; Dantas *et al*., 2022; Galdino *et al*., 2021; Korma *et al*., 2021).

Ademais, outras características fenotípicas são propriedades de interesse na busca de candidatos a probióticos: as cepas devem produzir enzimas, como as hidrolases de sais biliares, que estão relacionadas à redução dos níveis plasmáticos de colesterol; β-galactosidase, envolvida no metabolismo da lactose; bem como a produção de compostos antimicrobianos e capacidade de modular respostas imunes e adesão a tecidos intestinais. Outras recomendações incluem ausência de atividade hemolítica e ausência de resistência a antibióticos transferíveis pelas cepas e, também, a segurança deve ser comprovada (Lavilla-Lerma *et al*., 2013; Ranadheera *et al*., 2012; Santos *et al*., 2015).

A literatura reporta que a viabilidade das bactérias láticas (BAL) no alimento deve se manter acima de 6 log de unidades formadoras de colônias (UFC) g^{-1} durante todo o armazenamento a fim de fornecer os benefícios ao consumidor. Desse modo, é importante que as bactérias probióticas sejam inoculadas em níveis altos o suficiente para fornecer benefícios para a saúde dos consumidores durante toda a vida útil do produto (Pop *et al*., 2019).

3.3 Culturas de bactérias láticas e suas potencialidades como probióticos e uso em alimentos

O uso de probióticos em alimentos requer a comprovação da sua segurança e benefícios à saúde (Agência Nacional Vigilância Sanitária, 2018). Nessa perspectiva, vários aspectos devem ser observados para que cepas bacterianas sejam utilizadas em alimentos, sendo a inocuidade um aspecto fundamental. Diante disso, para estabelecer a segurança do uso de determinado microrganismo em alimentos, as cepas microbianas devem atender a um conjunto de parâmetros necessários para que esse produto/cepa seja caracterizado como probiótico. Incluindo a identificação adequada da estirpe, avaliação da segurança e rastreio das atividades probióticas *in vitro* e *in vivo*, caracterização funcional e posterior avaliação do número de bactérias viáveis no final do prazo de validade durante o período de estocagem (Da Silva *et al*., 2022; Food and Agriculture Organization of The United Nations; World Health Organization, 2002; Indian Council of Medical Research, 2011).

Produtos adicionados de culturas de bactérias láticas (BAL) podem veicular em suas rotulagens alegações sobre seus atributos funcionais e nutritivos, aumentando sua competitividade no mercado (Moraes *et al*., 2017). As bactérias láticas têm sido largamente estudadas em virtude de sua aplicabilidade como culturas iniciadoras (*starters*) em diversos produtos fermentados. O uso industrial de cepas da família *Lactobacillaceae* como culturas iniciadoras para a indústria de alimentos, depende de tecnologias de preservação necessárias

para garantir a entrega de culturas estáveis em termos de atividade, viabilidade e funcionalidade. Bactérias probióticas são geralmente adicionadas a produtos alimentares fermentados como culturas adjuntas, mas elas podem ter um papel adicional como iniciador (Santos *et al*., 2015).

As culturas iniciadoras consomem lactose, sobretudo pela presença da β-galactosidase (lactase), presente no soro e produzem metabólitos como ácido lático e compostos aromáticos, que melhoram o sabor, textura e valor nutricional do produto final. A acidificação rápida é uma característica desejável na seleção do microrganismo a ser empregado como culturas iniciadoras, que são responsáveis por acelerar e orientar o processo de fermentação (Santos *et al*., 2015; Santos *et al*., 2019).

Além disso, a hidrólise mediada por proteinases e peptidases de microrganismos lácticos pode reduzir a alergenicidade das proteínas e peptídeos do soro de leite. As proteinases e peptidases de culturas iniciadoras e probióticas são importantes a esses microrganismos para obtenção de aminoácidos essenciais para a sua multiplicação (Garcia *et al*., 2020; Miraballes; Hodos; Gámbaro, 2018; Santos *et al*., 2019).

A atividade proteolítica das culturas de BAL, agregam benefícios aos produtos em que poderão ser empregadas, especialmente quando adicionadas no soro. Pois favorecem a liberação de peptídeos bioativos a partir das proteínas presentes com várias atividades biológicas, como exemplo, peptídeos inibidores da enzima conversora de angiotensina responsáveis pelo efeito anti-hipertensivo (Fekete; Givens; Lovegrove, 2013; Santos *et al*., 2019; Xavier-Santos *et al*., 2020)

Foi relatado que muitas cepas da família *Lactobacillaceae* produzem exopolissacarídeos (EPS), e a diversidade estrutural desses EPS entre os lactobacilos probióticos pode contribuir para as propriedades específicas da cepa por sua ação probiótica. A título de exemplo têm-se a resistência ao estresse, desempenhando um importante papel na sobrevivência do microrganismo durante o trânsito intestinal, incluindo proteção contra exposição a condições de baixo pH no estômago, exposição à enzimas hidrolíticas e proteolíticas, também aos sais biliares, favorecendo assim, a persistência no ecossistema intestinal, ademais, proporciona interações com receptores e efetores específicos do sistema de defesa do hospedeiro (Fanning *et al*., 2012; London *et al*., 2014).

Como descrito, as cepas probióticas quando adicionadas a alimentos podem ser utilizadas com intuito de correção ou prevenção de inúmeras condições de saúde. Notavelmente, essas capacidades podem também estar também associadas às suas propriedades antioxidantes. Os mecanismos de ação antioxidante dos probióticos variam da

síntese e excreção de substâncias reativas à indução de eventos de sinalização, conduzindo ao aumento da capacidade dos sistemas citoprotetores do hospedeiro (Mahdhi *et al*., 2017; Zolotukhin; Prazdnova; Chistyakov, 2018).

3.4 Família *Lactobacillaceae*

Recentemente foi proposto unir a família *Leuconostocaceae* à família *Lactobacillaceae*. O gênero *Lactobacillus* também foi reclassificado em 25 gêneros (Zheng *et al*., 2020). Como a taxonomia do gênero *Lactobacillus* foi recentemente revisada e sabendo que esta nova classificação provoca uma ampla repercussão, foram utilizadas a mais recentes nomenclaturas ao longo do texto e, quando necessário, incluída também as antigas entre parênteses.

A família *Lactobacillaceae* é formada por bastonetes Gram-positivos, anaeróbios facultativos e pertencem ao grupo das bactérias láticas (BAL), pois o ácido lático é o principal produto final do metabolismo de carboidratos. Essa família é encontrada naturalmente no trato gastrointestinal (TGI) de humanos e animais (Suissa *et al*., 2022; Wang *et al.*, 2021).

Esses microrganismos são de particular interesse por apresentar propriedades relacionadas à saúde, além de uma longa história de uso em fermentações de alimentos (Salva *et al*., 2011). Estudos apontam que estirpes pertencentes a essa família apresentam propriedades probióticas, as quais podem ser caracterizadas pela sua capacidade de aderir ao epitélio intestinal e inibir a multiplicação de patógenos no TGI por meio de concorrência. A adesão ao muco intestinal é uma característica desejável em bactérias probióticas, tendo em conta que aumenta sua persistência no TGI e a capacidade de colonizar efetivamente o intestino (Etzold *et al*., 2014; Galdino *et al*., 2021; Lavilla-Lerma *et al*., 2013).

A adição de culturas láticas probióticas com atividade antimicrobiana comprovada pode contribuir para a manutenção da qualidade microbiológica de produtos lácteos durante o armazenamento (Rolim *et al*., 2015). Associado a isso, pode haver um barateamento dos custos de produção, conferindo uma vantagem principalmente para pequenos produtores.

3.4.1 *Lacticaseibacillus rhamnosus* (anteriormente *Lactobacillus rhamnosus*)

Um dos exemplos citados na literatura com *L. rhamnosus*, é para a nova cepa EM1107, isolada do queijo Coalho bovino, que quando avaliada quanto aos aspectos

tecnológicos, de segurança e de funcionalidade, tem se apresentado como promissor candidato a probiótico para uso em produtos lácteos fermentados (Santos *et al*., 2015).

O estudo realizado por Rolim *et al*. (2015) demonstrou o potencial dessa cepa de *L. rhamnosus* como cultura protetora, retardando o crescimento de patógenos comumente associados ao queijo Coalho de cabra, principalmente *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Resultados promissores também com a cepa EM1107 foram descritos por Rodrigues *et al*. (2018), os quais sugerem que a cepa isolada ou adicionada ao queijo de cabra exerce um efeito contra os danos induzidos pelo ácido acético e pode ser uma alternativa às doenças inflamatórias intestinais, pela modulação da inflamação intestinal.

3.4.2 *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*)

O uso em alimento de *L. rhamnosus* e *L. plantarum* foi confirmado como seguro constando na lista de "*Qualified Presumption of Safety*" (European Food Safety Authority, 2012). Vários estudos têm demonstrado que *L. plantarum* apresenta boa compatibilidade quando empregada na fermentação de produtos lácteos e suas propriedades antibacterianas são interessantes para a segurança alimentar como na tecnologia de biopreservação (Almeida Neta *et al*., 2018; Galdino *et al*., 2021; Dantas *et al*., 2022). *L. plantarum* CNPC003 em sobremesa láctea fermentada contendo soro de leite e ingredientes obtidos da casca da jabuticaba apresentou viabilidade superior a 7 log UFC g^{-1}, além da presença de compostos fenólicos antioxidantes (Almeida Neta *et al*., 2018).

3.4.3 *Limosilactobacillus mucosae* (anteriormente *Lactobacillus mucosae*)

Pesquisa realizada por Moraes *et al*. (2017) sugeriu que a cepa *L. mucosae* CNPC007 isolada do leite de cabra exibiu uma alta taxa de sobrevivência em condições gástricas e entéricas simuladas, em relação às propriedades tecnológicas para aplicações em produtos lácteos, registrou uma capacidade de acidificação e coagulação do leite relativamente alta, produção de diacetil e atividade proteolítica. Concluindo assim que essa cepa é um candidato probiótico promissor para aplicação em produtos lácteos.

3.5 Uso de probióticos como bioconservantes em alimentos

A bioconservação aumenta a vida útil dos alimentos e melhora a sua qualidade. A capacidade de probióticos, especialmente os da família *Lactobacillaceae*, de inibir o crescimento de bactérias patogênicas é reconhecida há séculos, por essa razão desempenham um importante papel na prevenção da deterioração dos alimentos. Sua capacidade de alterar a composição da microbiota intestinal e inibir a colonização ou o crescimento de microrganismos patogênicos é uma característica marcante dos probióticos (Fidanza; Panigrahi; Kollmann, 2021).

Vários mecanismos podem explicar a atividade bioconservante, sendo os principais: competição por nutrientes e locais de adesão, induzindo mudanças nas condições ambientais desfavoráveis a bactérias patogênicas, produção de compostos antimicrobianos e, finalmente, modulando as respostas imunes do hospedeiro (Divyashree *et al.*, 2021). Das bactérias láticas (BAL), o microrganismo *L. plantarum* é uma das principais espécies, amplamente difundidas devido às suas características, em particular, funcionais e como bioconservante existentes em produtos lácteos e alimentos fermentados (Seddik *et al*., 2017).

3.6 Prebióticos

Além dos estudos dos probióticos, a evolução e avanços nos métodos moleculares e computacionais expandiram a compreensão de como a dieta influencia a composição e função da microbiota intestinal. A metabolização de polissacarídeos na dieta pelas bactérias gastrointestinais é um exemplo da relação simbiótica entre o hospedeiro e a microbiota (Holscher, 2017).

Em particular, carboidratos e proteínas não digeridos que atingem o intestino grosso são submetidos a fermentação. Assim, os microrganismos intestinais produzem gases como hidrogênio (H_2), dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), amônia (NH_3) e sulfeto de hidrogênio (H_2S) (Poelaert *et al*., 2017), além de vários metabólitos, como ácidos graxos de cadeia curta (*short chain fatty acids*, SCFA) e ácidos graxos de cadeia ramificada (*branched chain fatty acids*, BCFA), compostos fenólicos e indóis, aminas biogênicas e metabólitos de enxofre. Todos esses compostos influenciam as condições fisiológicas e funções metabólicas em humanos (Gilbert *et al*., 2018; Koecher *et al*., 2014). Logo, é possível perceber que além de aumentar a viabilidade probiótica, a sinergia entre prebióticos e as cepas probióticas pode

aumentar ainda mais o conteúdo de ácidos graxos funcionais nos produtos lácteos fermentados (Davani-Davari *et al*., 2019).

Em dezembro de 2016, um grupo de especialistas em microbiologia, nutrição e pesquisa clínica foi convocado pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (*International Scientific Association of Probiotics and* Prebiotics, ISAPP) para revisar a definição e o escopo dos prebióticos, ampliando assim o seu conceito, passando a incluir outros substratos, que utilizados seletivamente por microrganismos resultam em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota conferindo benefícios à saúde do consumidor (Gibson *et al*., 2017).

Essa atualização expande o conceito de prebióticos incluindo substâncias não-carboidratos, como polifenóis e ácidos graxos poliinsaturados convertidos nos respectivos conjugados ácidos graxos podem se encaixar na definição atualizada, também se estendem para aplicações em locais do corpo que não sejam o cólon, podendo ser administrados diretamente a outros locais do corpo colonizados por microrganismos, não necessariamente administrado por via oral e sobre o número limitado de bactérias para alterações específicas na microbiota. À medida que nossa compreensão do papel da microbiota na saúde do hospedeiro continua a se expandir, é provável que essa definição continue evoluindo (Gibson *et al*., 2017; Holscher, 2017).

Embora novas substâncias prebióticas estejam sendo avaliadas e suas aplicações estejam sendo descobertas, há uma falta de aplicação de substâncias prebióticas nos produtos lácteos de cabra. Portanto, essa é uma área que pode ser mais investigada e tem potencial para aumentar a gama de produtos prebióticos disponíveis no mercado (Verruck; Dantas; Prudencio, 2019).

2.6.1 Inulina

Existem numerosos tipos de prebióticos, os mais comuns são classificados como fibras solúveis, incluindo a inulina (Fazilah *et al.*, 2018) que resistem à digestão no intestino delgado humano e são fermentadas pela microbiota intestinal (Slavin, 2013).

Trata-se de um polissacarídeo do tipo frutano, que consiste em “n” monômeros de frutose unidos por ligações β-(1,2) entre os resíduos β-D-frutosil (onde “n” varia de 2 a 60) e, geralmente, possuem um grupo final de D-glicose unido ao restante da cadeia por ligação α-(1,2) (Liu *et al*., 2017; Mensink *et al*., 2015). Os frutanos tipo inulina estão entre os prebióticos mais importantes e amplamente estudados (Rastall; Gibson, 2015). A inulina é um

carboidrato versátil com muitas aplicações em alimentos e produtos farmacêuticos, não apenas por suas propriedades nutricionais, mas também por razões tecnológicas (Karimi *et al*., 2015). Além de ser usada como prebiótico, a inulina é amplamente utilizada na indústria de alimentos para modificar a textura, substituir a gordura ou como adoçante com baixas calorias (Mensink *et al.*, 2015).

Ainda, possui a capacidade de estimular o crescimento intestinal das bifidobactérias, as quais, por antagonismo, suprimem a atividade de outras bactérias indesejáveis. Isso se deve ao fato que o crescimento de bifidobactérias leva à redução do pH devido à produção de ácidos, afetando, portanto, a redução do número de bactérias patogênicas ou nocivas, atenuando a formação de metabólitos tóxicos (Gibson *et al*., 2017).

Liu *et al*. (2017) concluíram que a suplementação com inulina pode fornecer uma nova direção para melhorar o perfil lipídico e o metabolismo da glicose dos consumidores. Ainda, a adição de baixas porcentagens (1% a 4%) de inulina em sobremesas lácteas aumenta a capacidade de armazenamento prolongado e confere atualizações de qualidade em comparação com sobremesas convencionais (Pop *et al*., 2019).

3.7 Simbióticos

Em maio de 2019, a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (*International Scientific Association of Probiotics and* Prebiotics, ISAPP) convocou um painel de nutricionistas, fisiologistas e microbiologistas para revisar a definição e o escopo dos simbióticos. O painel atualizou a definição de um simbiótico para “uma mistura compreendendo microrganismos vivos e substrato(s) seletivamente utilizados por microrganismos hospedeiros que conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (Gibson *et al*., 2017).

Microrganismos probióticos quando associados à prebióticos podem ser empregados com sucesso para a produção de produtos lácteos de cabra simbiótica, é especialmente atraente para os consumidores interessados em alimentos com propriedades funcionais, além de melhorar a imagem e o valor dos produtos (Barbosa *et al*., 2016; Costa *et al*., 2015; Kınık *et al.*, 2017; Morais *et al*., 2016; Verruck *et al*., 2019). A adição de probióticos e prebióticos para a preparação de bebidas lácteas.

De Souza Oliveira *et al*. (2011) comprovaram em seu estudo que a presença de inulina no processo tecnológico intensificou a taxa de crescimento de culturas bacterianas e, em menor grau, ampliou o período de enumeração de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus*

acidophilus, de forma que a inulina melhorou o processo de fermentação do leite quando culturas de lactobacilos foram utilizadas. Chaves de Lima, De Moura Fernandes e Cardarelli (2017) relataram que a presença de *Lactococcus lactis* e uma mistura de inulina e oligofrutose no soro de queijo de cabra mostrou atividade antibacteriana contra *Listeria monocytogenes*.

Flesch, Poziomyck e Damin (2014) identificaram em seu trabalho que o uso de simbióticos pode promover um aumento no número de bifidobactérias, controle glicêmico, redução do colesterol no sangue, equilíbrio da flora intestinal que ajuda na redução da constipação e/ou diarreia, melhora a permeabilidade intestinal e estimula o sistema imunológico. Demonstrando que os simbióticos se comportam de maneira diferente e positiva em várias situações patológicas.

Além dos benefícios para a saúde fornecidos pelos prebióticos e probióticos, também podem influenciar na textura dos alimentos, o que pode ser benéfico para o desenvolvimento de produtos mais agradáveis sensorialmente (Guimarães *et al*., 2020).

Dentre todas essas influências apontadas, as grandes indústrias e os pequenos produtores de alimentos estão mais interessados na influência dos prebióticos e probióticos na tecnologia de alimentos, na estrutura do produto final e na vida útil (Pop *et al*., 2019).

Com base nos aspectos até então abordados percebe-se que o mercado de prebióticos e probióticos está testemunhando um crescimento sem precedentes. Portanto, a combinação de leite de cabra e ingredientes funcionais é uma das áreas de pesquisa mais promissoras para a indústria de laticínios de cabra (Verruck; Dantas; Prudencio, 2019).

3.8 Produtos lácteos fermentados

O desenvolvimento do produto lácteo de cabra fermentado contendo bactérias probióticas tem sido recomendado como uma possibilidade significativa na produção de alimentos funcionais (Balakrishnan; Agrawal, 2014; Chen *et al*., 2018; Verruck; Dantas; Prudencio, 2019). Os produtos lácteos fermentados são ricos em vitaminas e minerais altamente biodisponíveis e seus benefícios estão associados aos peptídeos bioativos presentes nos alimentos (Rosa; Cruz; Teodoro, 2022).

Diante do exposto, o desenvolvimento de alimentos lácteos funcionais requer o apoio de pesquisas científicas e deve considerar as expectativas do consumidor, o processo tecnológico, as técnicas adequadas de análise e comercialização e as vantagens nutricionais (Iriondo-Dehond; Miguel; Del Castillo, 2018). Portanto, são necessários mais estudos para

investigar os efeitos da adição de microrganismos probióticos e, principalmente, componentes prebióticos em produtos lácteos de cabra (Verruck *et al.*, 2019).

4 MATERIAIS E METODOS

4.1 Local da pesquisa

Os ensaios de inibição *in vitro*, fermentação do leite cru e análises bromatológicas, físico-químicas e microbiológicas do produto lácteo fermentado foram realizados no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA) do Centro de Ciências e Tecnologia (CCT), da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I. A avaliação sensorial do produto lácteo fermentado foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus I.

4.2 Obtenção da matéria prima

O estudo em questão se dividiu em três etapas, que serão descritas a seguir. Na Etapa 1 foram utilizadas as cepas indicadoras de contaminação *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028, que foram cedidas pelo laboratório de microbiologia básica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) na Universidade Estadual da Paraíba. Ainda na Etapa 1, também foram utilizadas cepas nativas de *Lacticaseibacillus rhamnosus* (anteriormente *Lactobacillus rhamnosus*) EM1107, *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*) (CNPC001, CNPC002, CNPC003, CNPC004 e CNPC020) e *Limosilactobacillus mucosae* (anteriormente *Lactobacillus mucosae*) CNPC007, que foram cedidas, na forma liofilizada, da coleção de microrganismos de interesse para a agroindústria da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), tendo sido armazenadas sob congelamento a -18 ºC. Nas Etapas 2 e 3 utilizou-se as cepas *Streptococcus thermophilus* (cultura QGE, Biotech Brasil Fermentos e Coagulantes Ltda, Alto Piquiri, Paraná, 0,004g 100 mL^{-1}) e *L. plantarum* CNPC001 para preparar os inóculos usados nessas etapas.

O leite de cabra *in natura*, congelado imediatamente após a ordenha, cedido por produtores rurais locais integrantes da Cooperativa de Aroeiras, Paraíba, passou por caracterização quanto aos parâmetros físico-químicos e foi utilizado nas Etapas 2 e 3. O mel comercial orgânico da marca Natz (lote 17422), adquirido na farmácia Drogasil e a inulina (Orafti GR), cedida pela Sweetmix, Sorocaba, São Paulo, foram utilizados na Etapa 3.

4.3 Etapa 1: avaliação da capacidade inibitória de bactérias láticas sobre microrganismos indicadores de contaminação *in vitro*

4.3.1 Condições de cultivo das bactérias láticas nativas

Para o cultivo da bactéria foi realizado a ativação tomando como base a metodologia descrita por Barcelos (2017), afim de multiplicar as culturas recebidas da coleção da Embrapa, deixando-as com maior atividade metabólica e retirar o material usado na liofilização. As cepas *L. rhamnosus* EM1107, *L. plantarum* CNPC001, CNPC002, CNPC003, CNPC004 and CNPC020, e *L. mucosae* CNPC007 foram empregadas para a preparação da suspensão bacteriana.

Cada cepa liofilizada foi inoculada em tubos de ensaio em vidro com tampa de rosca, estéril, contendo 5 mL de caldo De Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (Acumedia, Neogen do Brasil para Laboratório, Indaiatuba, São Paulo). Os tubos seguiram para estufa bacteriológica (modelo 402 – 4D, Nova Ética) a uma temperatura de 35 ±2 °C por um período de 24 horas, correspondendo à primeira ativação. Em uma etapa subsequente, realizou-se um novo cultivo, com a transferência de 100 µL do conteúdo dos tubos incubados na primeira ativação para tubos Falcon, estéril, contendo 5 mL de caldo MRS. Esses tubos foram, então, incubados na mesma estufa bacteriológica (modelo 402 – 4D, Nova Ética) a 35 ±2 °C por 24 horas, representando a segunda ativação. Desse modo, as bactérias estavam aptas a serem usadas nos ensaios.

Com intuito de manter as bactérias láticas viáveis durante todo o experimento, foram realizados repiques a cada 20 dias, transferindo-se, após agitação no vórtex, 100 µL do conteúdo do tubo de ensaio (MRS com a bactéria lática ativa) para outro tubo de ensaio em vidro com tampa de rosca, estéril, contendo 5 mL de caldo MRS, com posterior incubação em estufa bacteriológica a 35 ±2 °C por 24 h. Em seguida, foi colocado no refrigerador a 4 ±2 °C para conservação.

Paralelamente, também ocorreu a realização de leituras de absorbância no espectrofotômetro no laboratório de bioquímica do CCBS em comprimento de onda de 600 nm para a padronização da concentração do microrganismo de modo a obter suspensões contendo aproximadamente 8 log UFC mL^{-1}, confirmadas a partir do seu cultivo de suas diluições seriadas em placas com ágar MRS (*pour plate*) acidificado a pH 5,4. por 48 h a 35 ± 2 ºC. De modo que alíquotas de 1 mL de cada diluição das amostras foram transferidas, em triplicata, para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi adicionado ágar DeMan-Rogosa-

Sharpe (MRS) acidificado com ácido acético até atingir o pH 5,4, fundido e resfriado a cerca de 45 ºC. Após a homogeneização e o endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 35 ± 2 ºC por 48 horas, em aerobiose.

4.3.2 Condições de cultivo das culturas de referência de indicadores de contaminação

Para a realização dos ensaios de atividade antimicrobiana frente a cepas de referência de contaminação foram selecionados os principais microrganismos indicadores de contaminação em alimentos, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. As cepas utilizadas neste estudo foram cedidas e cultivadas em meio ágar Mueller-Hinton, acondicionadas em placas de Petri, pelo laboratório de microbiologia básica do Centro de Ciências Básicas da Saúde (CCBS) da Universidade Estadual da Paraíba.

Para uso nos ensaios, utilizando uma alça bacteriológica esterilizada, uma colônia da cepa ATCC foi retirada da placa de Mueller-Hinton, selecionando uma colônia bacteriana isolada para o procedimento. Posteriormente, a cepa coletada foi transferida com meticulosidade para um tubo de ensaio estéril contendo caldo Infusão Cérebro Coração (*Brain Heart Infusion* BHI), assegurando-se de evitar qualquer contaminação do meio de cultura líquido. Para assegurar a uniformidade da cepa no caldo, o tubo de ensaio contendo a cepa e o caldo BHI foi agitado de maneira suave e cuidadosa. Em seguida, o tubo de ensaio, agora contendo a cepa em caldo BHI, foram incubadas a 35 ± 2 ºC por 48 horas, em aerobiose. Durante esse período, a cepa se multiplicou e se tornou ativa no meio de cultura líquido. Após esse período de incubação a fim de utilizar em ensaios subsequentes as amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 ±2 ºC. Essas etapas asseguraram o processamento adequado da cepa ATCC para fins experimentais, mantendo sua integridade e viabilidade.

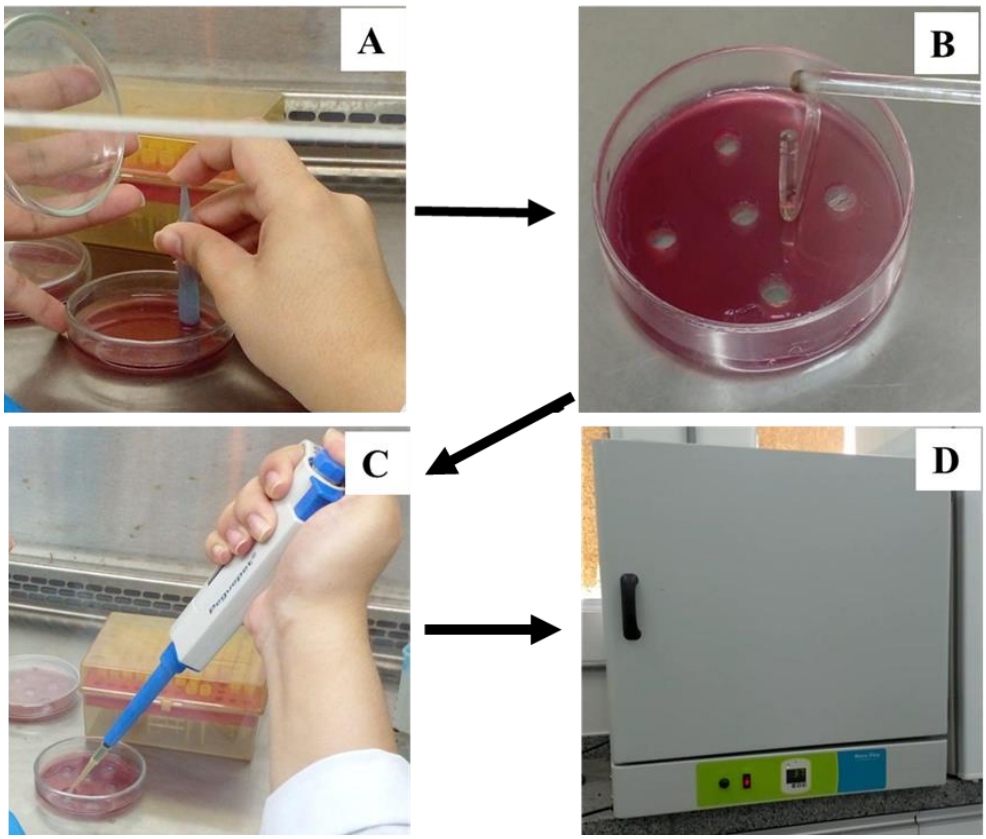
A fim de padronizar a densidade do inóculo para o teste de suscetibilidade, as suspensões foram ajustadas conforme o padrão 0,5 McFarland, com auxílio de um dispositivo fotométrico, obtendo-se, portanto, uma suspensão contendo aproximadamente 8 log UFC mL^{-1} (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015).

4.3.3 Método de difusão em ágar para avaliação do efeito bioconservante de cepas nativas

Os ensaios foram conduzidos utilizando a técnica de perfuração em ágar sólido em placas de Petri (Fernandes; De Oliveira; De Souza, 2021). Essa técnica consiste na realização

de orifícios feitos pela remoção do meio de cultura sólido em placas de Petri, com auxílio de cilindros formando poços, nos quais é possível aplicação das substâncias a serem analisadas (Figura 1).

Figura 1 –Técnica de perfuração em ágar sólido em placas de Petri para avaliação do efeito bioconservante de cepas nativas



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
A = Perfuração de poços em ágar.
B = Espalhamento do patógeno na superfície do ágar com o uso da alça de Drigalski.
C = Pipetagem de 30 µL da cepa nativa dentro dos poços.
D = Incubação a 35 ±2 ºC durante 48 horas.

Para cada cepa referência de indicador de contaminação, os ensaios foram realizados com os meios sólidos tradicionalmente utilizados para a contagem desses microrganismos em alimentos. Dessa forma, foram utilizadas placas de Petri estéril contendo ágar eosina azul de metileno (*Eosin Methylene Blue* - EMBA) e ágar cristal violeta vermelho bile (Violet Red Bile ágar - VRBA - Sigma -Aldrich) para *E. coli*, ágar RajHans (Himedia, 2011) para *Salmonella* spp., manitol salgado (Chapman Medium - Kasvi) para *Staphylococcus* spp. As cepas foram inoculadas assepticamente, na superfície das placas, com o uso da alça de Drigalski e, então, os poços foram preenchidos com 30 µL das amostras a serem testadas, em

triplicata. Devidamente identificadas, as placas seguiram para incubação a 35 ±2 ºC durante 48 horas.

4.3.3.1 Interpretação dos resultados

Passado o tempo de incubação, o agente antimicrobiano se difunde no ágar e inibe a multiplicação das estirpes contaminantes testadas. Posteriormente, as placas que demonstraram um inóculo adequado foram submetidas à medição das zonas de inibição resultantes, incluindo o diâmetro do poço, usando um paquímetro. O controle negativo foi realizado utilizando água destilada estéril, e todos os testes foram conduzidos em triplicata. Portanto, os resultados obtidos foram avaliados conforme a Equação 1:

$$Ø \text{ das zonas de inibição} = Ø \text{ das zonas de inibição completa} - Ø \text{ do poço} \quad (1)$$

onde: Ø = diâmetro

4.3.3.2 Análise estatística

Para a análise estatística dos ensaios de inibição das cepas referências de indicadores de contaminação, *in vitro*, foi utilizado o teste de análise de variância, fator único, considerando $p<0,05$. E foi utilizado o software Statistca 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

4.4 Etapa 2: avaliação da *L. plantarum* CNPC001 sobre indicadores de contaminação em leite cru fermentado

4.4.1 Preparo do inóculo

As cepas de *L. plantarum* CNPC001 e *S. thermophilus* foram disponibilizadas na forma liofilizada. O processo de ativação, de ambas, foi realizado tomando como base a metodologia descrita por Barcelos (2017). Uma alçada da cultura, liofilizada, foi inoculada em tubos de ensaio, estéril, contendo 10 mL de caldo MRS (Acumedia, Neogen do Brasil para Laboratório, Indaiatuba, São Paulo). Esses tubos foram então colocados em uma estufa bacteriológica (modelo 402 – 4D, Nova Ética) a uma temperatura de 35 ±2 °C por um período de por 48 horas. Posteriormente o caldo foi distribuído em microtubos de 1,5 mL e a cultura

bacteriana colhida por centrifugação a 2.500 rpm por 10 minutos, utilizando uma centrífuga (modelo CT - 0603, PARSEC - Tecnologia Laboratorial do Brasil, Itajaí, Santa Catarina). O *pellet* resultante foi cuidadosamente lavado com 10 mL de uma solução salina a 0,9% e novamente centrifugado sob as mesmas condições mencionadas anteriormente para retirada do MRS, esse processo se repetiu três vezes. Finalmente, o *pellet* foi inoculado na base de laticínios a ser fermentada originando o inóculo. Essa sequência foi feita separadamente para cada cepa.

O leite cru (300 mL) sofreu um tratamento térmico (90 °C por 15 min em banho-maria) e posteriormente resfriado a 43 ±1°C. Nesse momento, foi realizada a adição de três *pellets* da cultura nativa da coleção da Embrapa, *L. plantarum* CNPC001. O leite foi mantido a 43 ±1°C por 16h, tempo suficiente para atingir o pH em torno de 5,0. Em seguida, a temperatura do produto láctea foi reduzida para 4 ±2 °C.

Para a cultura *starter* (*S. thermophilus*), o leite cru sofreu o mesmo tratamento térmico citado anteriormente. Após o tratamento, ao chegar em 43 ±1°C foi adicionado 0,004 g para cada 100 g de leite caprino da cultura iniciadora *S. thermophilus*. O leite foi mantido a 43 ±1°C por 16 horas, tempo suficiente para atingir o pH em torno de 5,0 e melhoramento de consistência. Em seguida, a temperatura do produto láctea foi reduzida para 4 ± 2°C.

Dessa forma, foram originados os primeiros inóculos para ambas, foram armazenados em geladeira, os quais foram continuamente repicados em leite de cabra tratado termicamente, a cada 30 dias. Para o repique, foram utilizados 5 g do primeiro inóculo em 100 g de leite de cabra tratado termicamente.

4.4.2 Ensaios fermentativos e amostragem

Dois tratamentos (Tabela 1) denominados T1, obtido a partir da adição do inóculo da cultura *starter S. thermophilus* em leite cru e T2, leite cru adicionado dos inóculos contendo cultura *starter* e cultura nativa *L. plantarum* CNPC001. Foram realizados três lotes (réplicas genuínas) para cada produto, inicialmente, foram produzidos a partir de duas formulações base da metodologia utilizada por Galdino (2019), para esses não houve tratamento térmico. Na Tabela 1 são apresentados os ingredientes para a elaboração dos tratamentos T1 e T2.

Tabela 1 – Ingredientes utilizados para a produção dos leites cru fermentado T1 e T2

Ingredientes	**Tratamento**	
	T1	**T2**
Leite de cabra cru (g 100 g^{-1})	95,0	90,0
Inóculo da cepa nativa (g 100 g^{-1})	0	5,0
Inóculo da cultura iniciadora (g 100 g^{-1})	5,0	5,0
Total (g 100 g^{-1})	100,0	100,0

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
T1 = Tratamento 1 e T2 = Tratamento 2

Posteriormente ao preparo foram acondicionadas em recipientes de plástico (150 mL) previamente sanitizados, rotulados conforme os tempos de análises microbiológicas, durante a fermentação sendo o T0 o tempo antes da fermentação e TF a análise após 16 horas de fermentação e após 14 (D14) e 28 dias (D28) de armazenamento sob refrigeração a 4 ±2°C, em seguida foram fermentados a 43 ±1°C por 16 horas. Ao final do tempo de fermentação as amostras tiveram sua temperatura reduzida para 4 ±2°C.

4.4.3 Análises físico-químicas

A determinação do pH foi avaliada em potenciômetro (Tecnal -Equipamentos para Laboratório Ltda, Piracicaba, Brasil, modelo TEC-5), conforme os procedimentos analíticos descritos no método 0,17/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008) nos tempos T0, TF, D14 e D28.

A acidez titulável das amostras foi avaliada segundo os procedimentos descritos no método 426/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008) e expressa em termos de g de ácido lático 100 mL^{-1} nos tempos T0, TF, D14 e D28.

4.4.4 Análises de bactérias láticas

As análises microbiológicas foram realizadas em triplicatas nas bases lácteas antes e após a fermentação, transferindo assepticamente 1,0 mL da amostra para 9,0 mL de água de peptona tamponada (1 g L^{-1}) estéril, e submetido a diluições seriadas com o mesmo diluente (Buriti *et al*., 2014).

A população de bactérias láticas da família *Lactobacillaceae* foi avaliada após multiplicação em ágar MRS acidificado com ácido acético até pH 5,4, segundo a metodologia descrita por Almeida Neta (2018). De modo que alíquotas de 1 mL de cada diluição dos tratamentos foram transferidas, em triplicata, para placas de Petri estéreis. Em seguida, foi

adicionado ágar MRS acidificado com ácido acético até atingir o pH 5,4, fundido e resfriado a cerca de 45 ºC. Após a homogeneização e o endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 35 ± 2 ºC por 48 horas, em aerobiose.

As populações de *S. thermophilus* foram determinadas por transferência de 1 ml de cada diluição em ágar M17 (Difco, Sparks, MD, EUA), com adição de lactose (Vetec, Duque de Caxias, Brasil, 5 g L^{-1}), seguido de incubação a de 35 ±2 °C por 48 horas (Buriti *et al*., 2014; Santos *et al*., 2017).

4.4.5 Análise de indicadores de contaminação em leite cru e leite cru adicionado de bactérias láticas

As análises microbiológicas foram realizadas em triplicatas nos produtos lácteos, nos períodos de amostragem previamente descritos (T0, TF, D14 e D28) e no leite cru, transferindo assepticamente 1,0 mL da amostra para 9,0 mL de água de peptona tamponada (1 g L^{-1}), estéril, e submetido a diluições seriadas com o mesmo diluente (Buriti *et al*., 2014).

Para determinação da presença de *Staphylococcus* spp. foram retirados 100 µL das diluições, os quais foram aplicados em placas de Petri contendo ágar manitol salgado (Kasvi). Posteriormente, as amostras foram uniformemente espalhadas sobre a superfície do meio com o auxílio de uma alça de Drigalski. As placas seguiram para incubação a 35 ±2 °C por 48 h.

A determinação da presença de coliformes totais e *E.coli* foi realizada conforme o método AOAC 991.14 (Curiale *et al.*, 1991). Alíquotas de cada diluição das amostras foram transferidas, em triplicata, para placas Petrifilm^{TM}EC (3M Microbiology, St. Paul, MN, EUA), para a determinação de coliformes e de *Escherichia coli*. As placas Petrifilm^{TM}EC foram incubadas a 35 ±2 °C por 24 horas. A presença de *E. coli* foi confirmada para as placas que apresentaram colônias azuis com presença de gás. Já para a verificação da presença de coliformes totais, foram considerados o somatório de colônias rosas e azuis com a presença de gás.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., porções de 25 g de cada tratamento (retiradas em condições de assepsia) foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1% (diluição 10^{-1}) e incubadas a de 35 ±2 °C durante 24 horas, a fim de se obter a diluição 10^{-1}. Utilizando-se uma alça bacteriológica foi retirada uma alíquota da amostra enriquecida e estriada em placas de Petri contendo meio diferencial para *Salmonella* spp. RajHans (Himedia) (Himedia, 2011).

A quantificação de bolores e leveduras foi feita de acordo a metodologia de Messa *et al.* (2019) em ágar batata dextrose (Himedia) acidificado com ácido tartárico a pH 3,5. Foram inoculadas alíquotas de 100 μL a partir de diluições seriadas. As placas foram armazenadas, sem inverter, a 25 ±1°C, por 7 dias, com posterior contagem das colônias.

4.4.6 Análise estatística dos resultados

Exceto para os dados de indicadores de contaminação, apontados como intervalo de valores mínimos e máximos, os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. Para análise estatística destes resultados, foi utilizado o programa Statistca 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os resultados foram primeiramente analisados quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade das variâncias por meio do teste de Bartlett. Nos casos em que foi confirmada a normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, os dados foram analisados por análise de variância, considerando significância de $p < 0,05$, utilizando-se o teste de Tukey para avaliação dos contrastes. Nos casos em que não foi confirmada a normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos equivalentes, assumindo significância de $p < 0,05$.

A análise estatística dos resultados de indicadores de contaminação foi realizada através do teste binomial exato (Conover, 2001), empregando se $p<0,05$, em que a hipótese nula para coliformes, *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e bolores e leveduras consistia na obtenção de efeito inibitório de, no mínimo 33,33% com relação ao número ensaios em que tais microrganismos eram detectados. Para *Salmonella* spp. foi considerada a hipótese nula de inibição até a obtenção da ausência do microrganismo nos ensaios realizados.

4.5 Etapa 3: avaliação da estabilidade de produto lácteo fermentado com cultura iniciadora em cocultura com *L. plantarum* CNPC001, inulina e mel

4.5.1 Ensaios fermentativos e amostragem

Para a etapa 3, a base láctea foi obtida da homogeneização até completa dissolução da mistura de leite de cabra, inulina (Orafti GR) e mel comercial orgânico da marca Natz (lote 17422), em seguida passou por tratamento térmico (90 °C por 15 min.) com posterior resfriamento a 43 ±1°C e adição da cultura iniciadora *S. thermophilus* QGE (Biotech Brasil) e da cepa nativa *L. plantarum* CNPC001 (Tabela 2).

Tabela 2 – Ingredientes utilizados para a produção da base láctea para o produto lácteo fermentado caprino (PF)

Ingredientes	**Proporção**
Leite de cabra (g 100 g^{-1})	75,0
Inulina (g 100 g^{-1})	5,0
Mel (g 100 g^{-1})	10,0
Inóculo da cepa nativa (g 100 g^{-1})	5,0
Inóculo da cultura iniciadora (g 100 g^{-1})	5,0
Total (g 100 g^{-1})	100,0

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Ao final do preparo da base láctea as amostras foram acondicionadas em quatro recipientes com tampas (150 mL) previamente higienizados, em seguida foram fermentados a 43 ± 1°C por 16 horas. Os recipientes foram separados e rotulados conforme os dias de análises microbiológicas, sendo T0 o tempo antes da fermentação e TF a análise após 16 horas de fermentação e após 14 (D14) e 28 dias (D28) de armazenamento sob refrigeração a 4 ± 2°C. Após o processo de fermentação, a temperatura da base láctea foi reduzida para 4 ± 2°C. A Tabela 2 apresenta os ingredientes e suas respectivas proporções empregados na formulação da mencionada base láctea.

4.5.2 Determinação da composição centesimal do produto lácteo fermentado

4.5.2.1 Amostragem

A determinação de umidade, teor de sólidos totais, cinzas, gorduras e proteínas do produto lácteo fermentado foi realizada em amostras congeladas a −18 ºC no primeiro dia de armazenamento, em duplicata.

4.5.2.2 Determinação do teor de umidade, sólidos totais e cinzas

A determinação do teor de umidade e sólidos totais foi realizada em duplicata a partir da secagem de 2 g da amostra a 70 °C sob vácuo, utilizando um forno a vácuo Marconi (modelo MA 030/12 Piracicaba, Brasil). A cinza foi determinada gravimetricamente por aquecimento das amostras secas a 550 ºC, até a eliminação total da matéria orgânica. Os procedimentos analíticos para a determinação de sólidos totais e o teor de cinzas das amostras seguiram os métodos padrão do Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.5.2.3 Determinação do teor de gordura

A quantificação dos lipídeos nas amostras de leite fermentado foi obtida por extração com solvente usando o método de acordo com Gerber, as amostras foram avaliadas em duplicata.

4.5.2.4 Determinação do teor de proteínas

O teor de proteína foi estimado a partir da análise do teor de nitrogênio pelo método micro Kjeldahl, usando o fator de conversão de 6,38 para leite e produtos lácteos de acordo com a AOAC International (Horwitz; Latimer, 2005). As amostras foram avaliadas em duplicata.

4.5.2.5 Determinação do teor de carboidratos

O teor total de carboidratos foi calculado por diferença para obter 100% da composição total de acordo com (Food and Agriculture Organization of The United Nations, 2003), conforme a Equação 2:

$$\text{Carboidratos totais g } 100\ g^{-1} = 100 - (\text{umidade} + \text{cinzas} + \text{lipídeos} + \text{proteínas}) \quad (2)$$

4.5.3 Análises físico-químicas

A determinação do pH e da acidez titulável foram realizadas conforme descrito no item 4.4.3.

4.5.4 Análises de bactérias láticas

A população da família *Lactobacillaceae* e *S. thermophilus* foram determinadas conforme descrito no item 4.4.4.

4.5.5 Análise de indicadores de contaminação

Populações de coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., bolores e leveduras foram determinados conforme descrito no item 4.4.5.

4.5.6 Avaliação sensorial do produto lácteo fermentado

A avaliação sensorial foi aprovada (Número do Parecer: 5.204.605; CAAE: 53325221.8.1001.5187; Protocolo CEP/FCF/560) pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba - Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa (UEPB / PRPGP), Campina Grande, Paraíba.

As amostras das bebidas lácteas fermentadas foram produzidas em dois lotes sendo um deles avaliado aos 28 dias após a fabricação armazenado sob refrigeração (4 ± 1 °C), no Laboratório de Análise Sensorial, sediado na Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande, PB, através do teste de aceitabilidade, utilizando a escala hedônica híbrida (0 = desgostei muitíssimo; 5 = nem gostei nem não gostei; 10 = gostei muitíssimo) (Villanueva; Da Silva, 2009). A escolha de realizar a análise após o período de 28 dias a partir da fabricação se justifica pelo fato de que esse intervalo de tempo é considerado o mais crítico. Levando isso em consideração, quaisquer análises conduzidas antes desse prazo seriam igualmente aceitáveis.

Para a avaliação foram selecionados 43 adultos (participantes não treinados) saudáveis com idade entre 18 e 65 anos e que não apresentaram alergia ou restrições à proteína do leite ou componentes da formulação. As amostras estavam de acordo com as normas regulamentadoras brasileiras de qualidade sanitária (Brasil, 2022). Amostras servidas, monadicamente, em porções de 25 g codificadas com três dígitos aleatórios. Antes da avaliação os consumidores limparam o paladar com água potável e bolachas cream cracker. Em seguida os copos contendo as amostras foram entregues observando a randomização para evitar o “efeito de ordem” (Almeida Neta *et al*., 2018; Giarnetti *et al*., 2015). Todos foram instruídos a relatar os atributos sensoriais relacionados ao sabor, cor, consistência, odor, dulçor, aceitação global, destacando de quais desses aspectos gostaram e quais detestaram, e estiveram livres para mencionar nenhum ou mais de um atributo (Buriti *et al*., 2014). Também responderam a frequência que consomem leite fermentado e se comprariam o produto em análise.

4.5.7 Análise dos resultados

Exceto para os dados de indicadores de contaminação, apontados como intervalo de valores mínimos e máximos e/ou valores menores que o limite de detecção do método, os dados foram apresentados como média ± desvio padrão. Para análise estatística destes resultados, foi utilizado o programa Statistca 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os resultados foram primeiramente analisados quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk e quanto à homogeneidade das variâncias por meio do teste de Bartlett. Nos casos em que foi confirmada a normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, os dados foram analisados por análise de variância, considerando significância de $p < 0,05$, utilizando-se o teste de Tukey para avaliação dos contrastes. Nos casos em que não foi confirmada a normalidade e/ou homogeneidade das variâncias, os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos equivalentes, assumindo significância de $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Etapa 1: avaliação da capacidade inibitória de bactérias láticas sobre microrganismos indicadores de contaminação *in vitro*

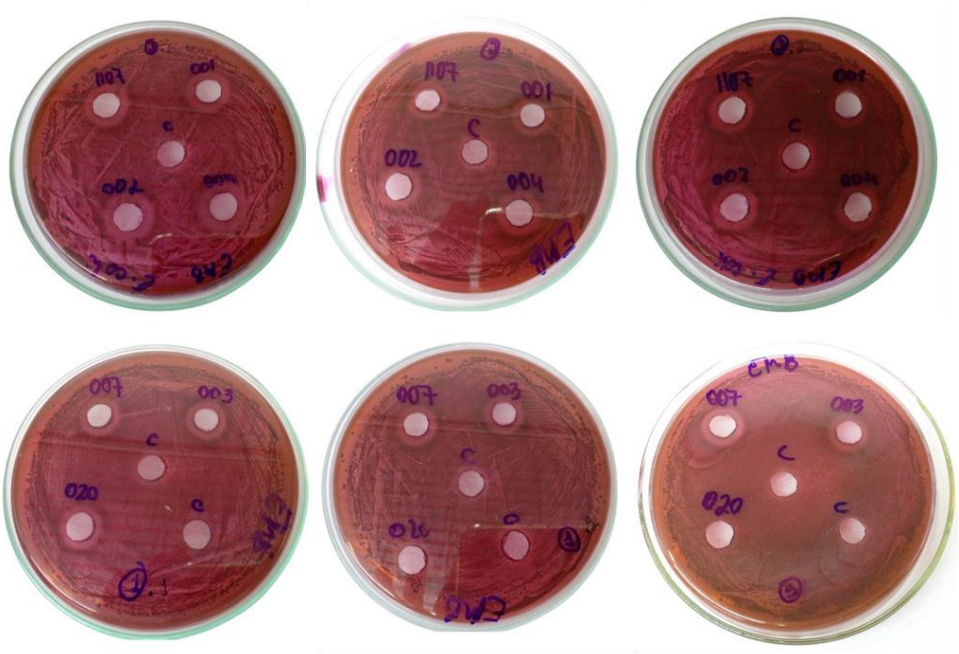
As cepas nativas de bactérias láticas, isoladas de queijo coalho e de lácteos caprinos, foram testadas utilizando-se do método de difusão em ágar quanto à atividade antimicrobiana, frente às cepas padrão de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

Conforme demonstrado na Tabela 3, bem como nas Figuras 2, 3, 4 e 5, e com base na média aritmética absoluta, uma vez que não se observaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os valores, as cepas que se destacaram no ensaio de inibição utilizando *E. coli* ATCC 25922 em VRBA foram em ordem decrescente as cepas de *L. plantarum* CNPC002 (10,33 ± 0,58) e CNPC003 (10,33 ± 0,58), seguido das cepas CNPC004 (9,67 ± 0,58) e CNPC001 (9,33 ± 0,58) também de *L. plantarum*. Já em EMBA também cultivado com *E. coli*, os melhores resultados, em ordem decrescente, foram para as cepas de *L. plantarum* CNPC001 (6,33 ± 0,58), CNPC002 (5,67 ± 0,58) e CNPC004 (4,67 ± 0,58), seguido da cepa *L. rhamnosus* EM1107 (4,67 ± 1,55).

Para os ensaios frente a *S. aureus* ATCC 25923 se destacaram a *L. plantarum* CNPC001 (8,33 ± 0,58), CNPC002 (7,67 ± 0,58) e CNPC003 (7,33 ± 0,58), nessa ordem, conforme Tabela 3.

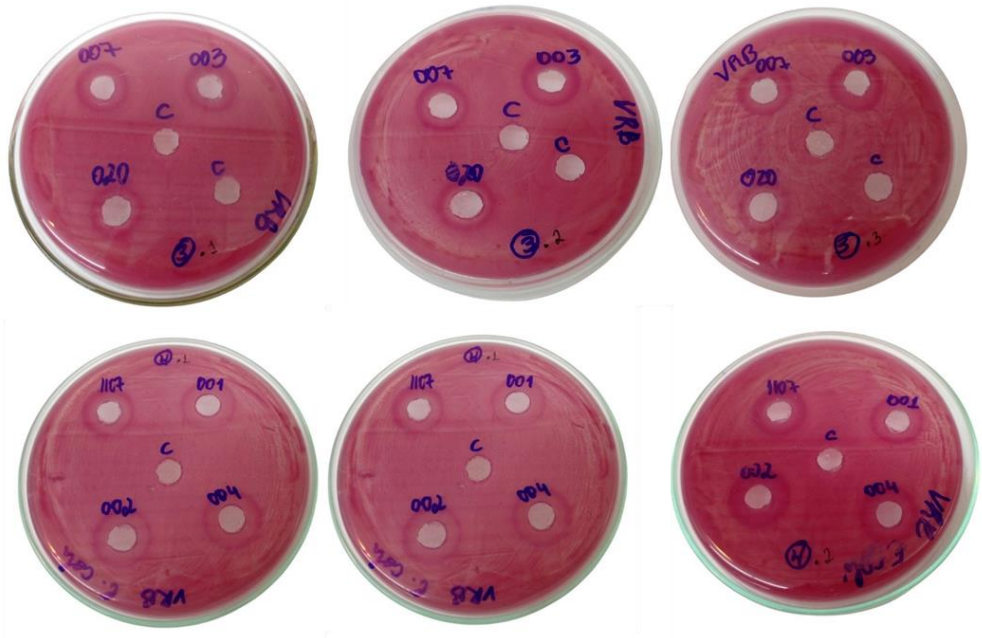
De acordo com a Instrução normativa nº 161, de 1º de julho de 2022 (Brasil, 2022) o padrão para contagem de *Salmonella* spp. em produtos lácteos é ausência. A Tabela 3 e a Figura 5 apresentam os resultados dos halos de inibição das cepas nativas contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. Para esse indicador de contaminação, as bactérias nativas candidatas a probiótico *L. plantarum* CNPC001 (7,67 ± 0,58) e CNPC002 (6,67 ± 0,58) assim como *L. rhamnosus* EM1107 (6,67 ± 0,58), seguidas de *L. plantarum* CNPC003 (6,33 ± 0,58), CNPC004 (6,33 ± 0,58) e CNPC020 (6,33 ± 0,58), apresentaram melhores resultados de ação antimicrobiana (Tabela 3 e a Figura 5). A atividade pode ser devida à presença de compostos antimicrobianos (bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio) produzidos pelos potenciais probióticos (Divyashree *et al*., 2021).

Figura 2 –Atividade antimicrobiana, *in vitro*, de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *E. coli* ATCC 25922 em EMB



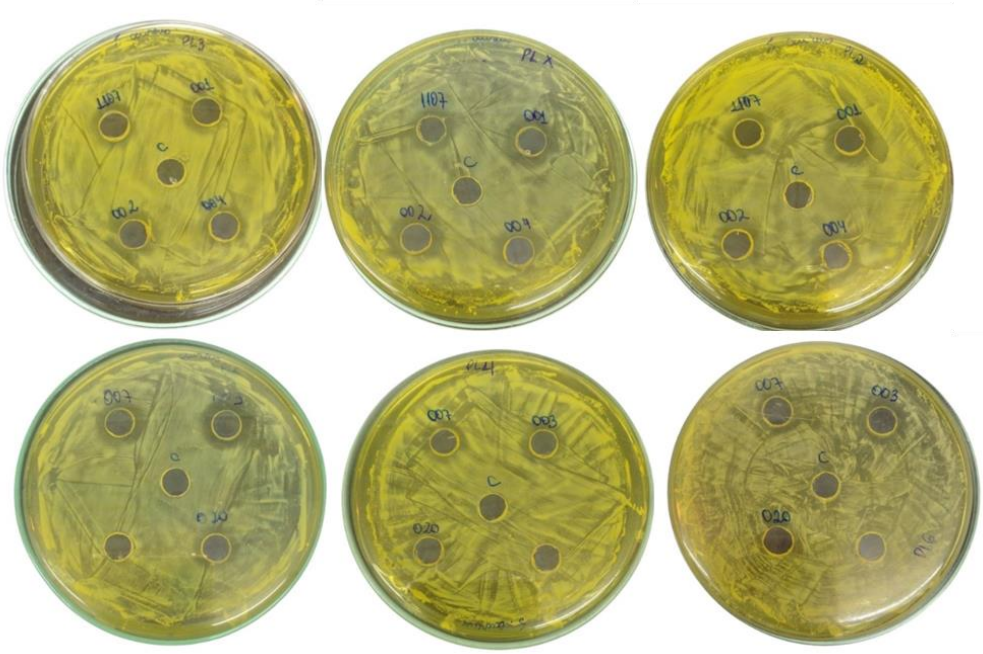
Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
Lactiplantibacillus plantarum CNPC001(001), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC002 (002), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC003 (003), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC004 (004), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC020 (020), *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107 (1107), *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (007), Controle negativo (C).

Figura 3 –Atividade antimicrobiana, *in vitro*, de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *E. coli* ATCC 25922 em VRBA



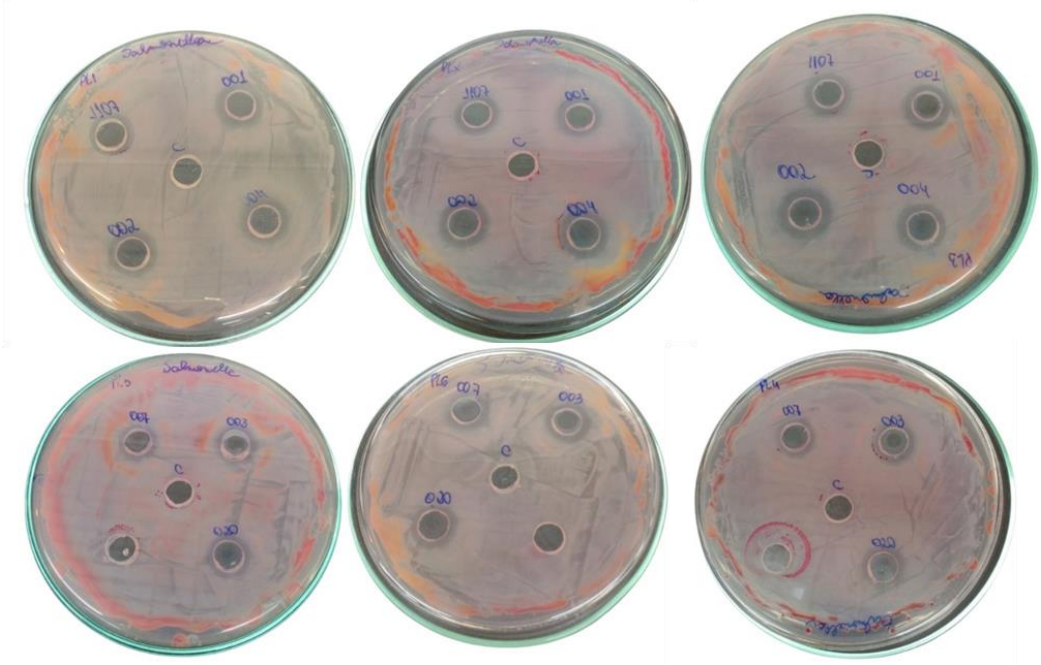
Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
Lactiplantibacillus plantarum CNPC001(001), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC002 (002), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC003 (003), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC004 (004), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC020 (020), *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107 (1107), *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (007), Controle negativo (C).

Figura 4 –Atividade antimicrobiana, *in vitro*, de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *Staphylococcus aureus* ATCC 2592



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
Lactiplantibacillus plantarum CNPC001(001), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC002 (002), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC003 (003), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC004 (004), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC020 (020), *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107 (1107), *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (007), Controle negativo (C).

Figura 5 –Atividade antimicrobiana, *in vitro*, de cepas de bactérias láticas potencialmente probióticas contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028



Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
Lactiplantibacillus plantarum CNPC001(001), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC002 (002), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC003 (003), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC004 (004), *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC020 (020), *Lacticaseibacillus rhamnosus* EM1107 (1107), *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 (007), Controle negativo (C).

Corroborando com esses resultados o efeito antimicrobiano de isolados de cepas pertencentes a família *Lactobacilaceae* obtidos de alimentos fermentados foi testado contra *Salmonella* spp. usando o teste de difusão em ágar por Divyashree *et al*. (2021), de acordo com os autores a cepa *L. plantarum* MYSRD 71, em particular, apresentou boa atividade inibitória contra o patógeno. Os autores justificam que estas cepas podem ser utilizadas para produzir compostos antimicrobianos que podem substituir conservantes químicos na indústria de alimentos.

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana de culturas nativas de bactérias láticas usando ensaio de difusão em ágar

Bactéria lática	**Medida do halo (mm)***			
	E. coli		***S. aureus***	***S. enterica* serovar Typhimurium**
	VRBA	**EMBA**	**Manitol salgado**	**Raj Hans**
L. plantarum CNPC001	9,33 ± 0,58	6,33 ± 0,58	8,33 ± 0,58	7,67 ± 0,58
L. plantarum CNPC002	10,33 ± 0,58	5,67 ± 0,58	7,67 ± 0,58	6,67 ± 0,58
L. plantarum CNPC003	10,33 ± 0,58	4,33 ± 0,58	7,33 ± 0,58	6,33 ± 0,58
L. plantarum CNPC004	9,67 ± 0,58	4,67 ± 0,58	6,67 ± 0,58	6,33 ± 0,58
L. plantarum CNPC020	7,67 ± 0,58	2,67 ± 1,58	-	6,33 ± 0,58
L. mucosae CNPC007	9,33 ± 0,58	3,33 ± 0,58	5,33 ± 0,58	5,67 ± 0,58
L. rhamnosus EM1107	7,33 ± 0,58	4,67 ± 1,55	6,66 ± 0,58	6,67 ± 0,58

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
* Medidas não diferem significativamente entre as bactérias láticas para nenhum microrganismo indicador nos meios de cultura avaliados (p>0,05).
- = ausência de halo.
E. coli = *Escherichia coli* ATCC 25922. *S. aureus* = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *S. enterica* serovar Typhimurium = *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028

Estudo realizado por Acurcio *et al.* (2017) observaram, *in vitro*, efeito antimicrobiano de uma cepa de *L. plantarum* B7 contra *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Os resultados sugerem que a inibição pode ser atribuída ao ácido lático produzido por *L. plantarum* em meio MRS, mas também pode estar relacionada a outros compostos produzidos pela cepa.

5.2 Etapa 2: avaliação de uma cultura nativa de bactéria lática sobre indicadores de contaminação em leite cru fermentado

5.2.1 Parâmetros físico-químicos e microbiológicos

Os tratamentos T1 e T2, produzidos a partir de leite cru fermentado, foram analisados em triplicata. Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da acidez titulável e pH nos ensaios estudados (leite cru adicionado de cepa nativa candidata a probiótico, com presença ou ausência de *S. thermophilus*).

Tabela 4 – Alterações nos valores médios de acidez titulável e pH das amostras testes

Tratamento	Tempo	pH	Acidez
T1	T0	6,39 ± 0,009Db	0,20 ± 0,02Aa
	TF	4,52 ± 0,036Ca	0,79 ± 0,07Ba
	D14	4,39 ± 0,017Ba	0,93 ± 0,01Ca
	D28	4,34 ± 0,010Ab	1,03 ± 0,03Da
T2	T0	6,35 ± 0,009Da	0,16 ± 0,04Aa
	TF	5,80 ±0,009Cb	0,79 ± 0,04Ba
	D14	4,44 ± 0,015Bb	0,94 ± 0,03Ca
	D28	4,13 ± 0,019Aa	1,05 ± 0,02Da

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
A, B, C e D = letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para um mesmo tratamento entre os dias de armazenamento.
a, b e c = letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo dia de armazenamento.
T1 = Tratamento 1. T2 = Tratamento 2.
T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.

Os valores de pH nos ensaios antes do processo de incubação apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), estiveram próximo a 6,4 e após 16 h (final da fermentação) o pH reduziu significativamente ($p < 0,05$). A fermentação progressiva da lactose devido ao metabolismo ativo das culturas adicionadas pode resultar em redução do pH. Os tratamentos apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), quanto a acidez ao longo do armazenamento, mas não entre os tratamentos para o mesmo dia de armazenamento. Em ambos os tratamentos foi possível atingir acidez superior a 0,6 g de ácido lático $100g^{-1}$ após 16 h de fermentação.

A acidificação do leite também é responsável pela textura e aroma do leite fermentado devido à formação de ácidos orgânicos como o ácido lático durante a fermentação.

Concordando com esses resultados, Galdino *et al*. (2021) em tratamento contendo *L. plantarum* CNPC001 e *S. thermophilus* obtiveram valores de acidez também superiores a 0,6 g de ácido lático $100g^{-1}$ após 24 h de fermentação. Segundo Dimitrellou *et al*. (2019), o leite de cabra atinge maior teor de acidez em relação ao leite de vaca quando fermentado.

5.2.2 Avaliação das bactérias láticas no leite cru fermentado

A viabilidade do iniciador *S. thermophilus* durante o processamento e armazenamento do produto lácteo fermentado caprino é apresentada na Tabela 5. As populações dessas culturas começaram sem diferenças significativas entre os tratamentos T1 e T2. Em ambos, o *starter* aumentou significativamente no final do processo de armazenamento. As populações de *S. thermophilus* diferiram significativamente durante o armazenamento ($p<0,05$), para um mesmo tratamento.

Tabela 5 – Populações de *S. thermophilus* detectados nos produtos lácteos fermentados caprinos, produto final, durante a fabricação e armazenamento a 4 ± 1°C

		Tratamento	
	Tempo	**T1**	**T2**
S. thermophilus (log UFC g^{-1})	T0	6,64 ± 0,06Aa	6,69 ± 0,08Aa
	TF	7,72 ± 0,03Ba	7,89 ± 0,07Bb
	D14	7,90 ± 0,01Ca	8,26 ± 0,18Cb
	D28	7,97 ± 0,02Da	8,61 ± 0,08Db

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
A, B, C e D = letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para um mesmo tratamento entre os dias de armazenamento.
a e b = letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos para o mesmo dia de armazenamento.
T1 = Tratamento 1. T2 = Tratamento 2.
T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.

Diante dos achados foi possível perceber que a inclusão do *L. plantarum* CNPC001 favoreceu o aumento da população da cultura *starter*, haja vista o aumento significativo em sua população em T2 após 16 horas de fermentação. Ao final do ensaio, a população de *S. thermophilus* se manteve acima de 7,9 log UFC g^{-1} para ambos os tratamentos.

Diferentemente, em estudo realizado por Tian *et al*. (2017) observaram que *S. thermophilus* apresentou menor capacidade de crescimento durante a fermentação e viabilidade ao longo do armazenamento de iogurte de leite de vaca quando cocultivado com

os probióticos *Lacticaseibacillus casei* LC2W (anteriormente *Lactobacillus casei* LC2W), *L. plantarum* ST-III ou *L. rhamnosus* GG do que na ausência desses probióticos.

O tratamento T2 apresentou contagem de *L. plantarum* acima de 6 log CFU g^{-1} (Tabela 6) desde a primeira amostragem, com aumento significativo ($p<0,05$) ao longo do armazenamento. Assim, a cultura nativa permaneceu viável durante todo o período de armazenamento, podendo, portanto, contribuir com efeito bioconservante no leite cru durante, no mínimo, 28 dias de prateleira.

Tabela 6 – Populações de *Lactiplantibacillus plantarum* detectadas no leite cru antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação e após 14 e 28 dias de armazenamento a 4 ± 1°C para o tratamento T2

	Tempo	**Tratamento**
		T2
Lactiplantibacillus plantarum (log UFC g^{-1})	T0	6,43 ± 0,04A
	TF	6,61 ± 0,05B
	D14	7,99 ± 0,01C
	D28	8,60 ± 0,02D

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
A, B, C e D = letras maiúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) para um mesmo tratamento entre os dias de armazenamento.
T2 = Tratamento 2.
T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.

Ao avaliar o comportamento fermentativo da cultura autóctones potencialmente probiótica *L. plantarum* CNPC001 no leite de cabra, após tratamento térmico, Galdino et al. (2021) perceberam que do tempo inicial de fermentação (0 h), em 6 h, 24 h e 48h de fermentação houve uma diminuição na contagem tanto de *L. platarum* (8,10 ± 0,23, 8,42 ± 0,15, 7,85 ± 0,36 e 5,90 ± 0,12) e *S. thermophilus* (8,22 ± 0,39, 8,63 ± 0,30, 8,05 ± 0,04 e 5,99 ± 0,27, respectivamente), por outro lado, observa-se um aumento significativo de *S. thermophilus* (Tabela 5) e *L. plantarum* (Tabela 6) entre o tempo inicial de fermentação (T0) e após 16 h de fermentação (TF) para todas as amostragens.

5.2.3 Avaliação dos indicadores de contaminação

Em vários estudos, cepas da família *Lactobacillaceae*, usadas sozinhas ou em cocultura inibiram o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes, incluindo

coliformes, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. (Buriti; Cardarelli; Saad, 2007; Wong-Villarreal *et al*, 2021).

Na Tabela 7 foi considerado como significativo os valores superiores a 33,0%. É notória a redução da carga microbiana dos contaminantes do leite cru fermentado com *L. plantarum* adicionado de *S. thermophilus* (T2) ao final do período armazenado equiparado com leite cru (Tabela 7). Para coliformes, muito embora não haja diferença significativa entre os tratamentos T1 e T2, no 28º dia de armazenamento notou-se que todas as amostras estiveram dentro dos limites exigidos pela legislação apenas para T2 (Brasil, 2007).

Quanto à população de *E. coli* (Tabela 7), entre os dias de armazenamento observa-se que após 16 horas de fermentação (TF) houve uma diminuição significativa na contagem do indicador para ambos os tratamentos (T1 e T2). O percentual de amostras positivas e amostras acima da legislação de T2 (25,0%) é menor em 50,0% em relação a T1 (50,0%), assim a associação entre *L. plantarum* e *S. thermophilus* em leite cru fermentado apresentou melhor desempenho bioconservante contra *E. coli*.

Similarmente, Goranov *et al*. (2022) utilizaram *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923 para contaminar voluntariamente suas amostras, notaram que *Lactobacillus helveticus* 2/20 sozinho no estado livre ou encapsulado inibiu efetivamente o crescimento dos deteriorantes em mousse de chocolate quando armazenado a 20 ±2 °C.

Considerando todas as amostras analisadas durante os quatro períodos de amostragem, o tratamento T1 (Tabela 7), produziram amostras positivas de *Staphylococcus* spp. durante todo o período de armazenamento (100,0%). Para T2 (Tabela 7), houve 33,33% de amostras positivas para *Staphylococcus* spp. e ao 14º dia de armazenamento os resultados estiveram abaixo de 2 log mL^{-1}, indicando ação inibitória em leite cru fermentado da cultura nativa *L. plantarum*. Em congruência com os resultados foi relatado, *in vitro*, que *L. plantarum* TW29-1 apresentou forte efeito antibacteriano contra *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. (Saboktakin-Rizi *et al*., 2021).

Tabela 7 – Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C

Contaminantes	Tratamento	Concentração bacteriana (valores mín, – máx., log UFC mL^{-1})					% amostras positivas* (nº positivo/total analisado)	% amostras acima da legislação** (nº acima/total analisado)	Limite máximo da legislação ***
		Leite cru	T0	TF	D14	D28			
Coliformes	T1	4,97–8,00	4,25–4,70^{Aa}	4,41–5,00^{Aa}	3,09–3,90^{Aa}	2,61–3,97^{Aa}	100,0% (24/24)^{a}	100,0% (24/24)^{a}	2,0 log mL^{-1}
	T2		3,00–4,58^{Aa}	2,43–4,49^{Aa}	1,26–2,78^{Aa}	<1,00–1,96^{Aa}	91,7% (22/24)^{a}	75,0% (18/24)^{a}	
E. coli	T1	2,90–3,58	3,43–3,52^{Ba}	1,26–3,45^{Aa}	<1,00^{Aa}	<1,00^{Aa}	50,0% (12/24)^{b}	50,0% (12/24)^{b}	1,0 log mL^{-1}
	T2		3,48–3,53^{Ba}	<1,00^{Aa}	<1,00^{Aa}	<1,00^{Aa}	25,0% (6/24)^{a}	25,0% (6/24)^{a}	
Staphylococcus spp.	T1	3,18–3,77	3,15–4,51^{Aa}	2,83–4,48^{Ab}	2,08–3,26^{Ab}	1,28–3,08^{Ab}	100,0% (24/24)^{b}	-	-
	T2		2,99–3,72^{Ba}	<2,00–2,30^{Aa}	<2,00^{Aa}	<2,00^{Aa}	33,33% (8/24)^{a}	-	
Bolores e leveduras	T1	3,40–3,81	3,46–3,62^{Aa}	3,18–3,66^{Aa}	3,62–3,96^{Aa}	5,08–5,51^{Aa}	100,0% (24/24)^{a}	100,0% (24/24)^{a}	3,0 log mL^{-1}
	T2		3,26–3,60^{Aa}	3,36–3,67^{Aa}	3,34–3,52^{Aa}	3,00–3,46^{Aa}	100,0% (24/24)^{a}	95,8% (23/24)^{a}	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

$^{A, B}$ = letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente (P<0,05) no teste binomial exato para um mesmo tratamento durante os períodos de amostragem considerando a hipótese nula (H_0) de que o número de amostras positivas é reduzido para, pelo menos, 33,33% (APÊNDICE C).

$^{a, b}$ = letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem significativamente (P<0,05) no teste binomial exato para um mesmo microrganismo no mesmo tempo de amostragem (APÊNDICE C) ou no conjunto dos períodos de amostragem (coluna* = total computado nos períodos de amostragem de T0 a D21) considerando a hipótese nula (H_0) de que o número de amostras positivas, ou o número de amostras acima do limite da legislação (coluna**), é reduzido para, pelo menos, 33,33%.

*** IN 46, Brasil (2007) para coliformes, IN 161, Brasil (2022) para *E. coli* e bolores e leveduras. - = não disponível nas legislações atuais vigentes.

T1 = Tratamento 1. T2 = Tratamento 2.

T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento

.

Buriti, Cardarelli e Saad (2007) conduziram um estudo onde foi analisado o potencial bioconservante de uma cocultura de *Lacticaseibacillus paracasei* LBC 82 (anteriormente *Lactobacillus paracasei* LBC 82) e *S. thermophilus* presentes em queijo cremoso fresco, os achados indicaram inibição dos contaminantes bacterianos do início da fabricação e durante o armazenamento por 21 dias.

Milione *et al*. (2015) avaliaram *L. plantarum* LpU4, bem como sua plantaricina LpU4 purificada, como bioconservantes, ao final foi possível observar a capacidade de inibir o crescimento de *S. aureus*, respaldando o uso de *L. plantarum* frente a *S. aureus.* Não houve redução significativa para bolores e leveduras em nenhum dos tratamentos, ambos produziram amostras positivas e acima da legislação nos quatro períodos de amostragem. Entretanto, para T2 é possível notar que a concentração de bolores e leveduras se manteve entre 3,0 e 3,67 log UFC mL^{-1} em todo período de armazenamento, o que indica possível efeito fungistático do *L. plantarum* em leite cru fermentado. Em contrapartida, Luz *et al*. (2018) em estudo com soro de leite fermentado por *L. plantarum* 220 e 221 observaram boa atividade contra os fungos micotoxigênicos pertencentes ao gênero *Fusarium*, enquanto uma leve atividade foi obtida para os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*.

Avaliando a Tabela 8, antes da fermentação (T0) o percentual de amostras positivas foi de 33,33% para ambos os tratamentos, após 16 horas de fermentação (TF) apenas em T1 houve presença de *Salmonella* spp. Apenas ao 28º dia em ambos os tratamentos (T1 e T2) estiveram dentro dos limites exigidos pela legislação (Brasil, 2022).

Durante a etapa de fermentação e armazenamento de T2, a BAL inibiu os microrganismos patogênicos e deteriorantes. O antagonismo pode ser atribuído principalmente à competição de crescimento e produção de ácidos orgânicos, além disso, muitas cepas de BAL sintetizam outros compostos antimicrobianos, como as bacteriocinas, que aumentam seu papel conservante (Milioni *et al*., 2015).

Tabela 8 – Presença de *Salmonella* spp. no leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C

		Leite cru	Períodos de amostragem				% amostras positivas* (nº positivo/total analisado)	Limite máximo da Legislação**
			T0	TF	D14	D28		
% amostras positivas (nº positivo/total analisado)	T1	33,33% (2/6)	33,33% (2/6) ^{Ba}	33,33% (2/6) ^{Bb}	33,33% (2/6) ^{Ba}	0% (0/6) ^{Aa}	25% (6/24) ^{a}	Ausente em 25 g
	T2		33,33% (2/6) ^{Ba}	0% (0/6) ^{Aa}	33,33% (2/6) ^{Ba}	0% (0/6) ^{Aa}	16,7% (4/24) ^{a}	

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

$^{A, B}$ = letras maiúsculas distintas na mesma linha diferem significativamente (P<0,05) no teste binomial exato para um mesmo tratamento durante os períodos de amostragem considerando a hipótese nula (H_0) de que o número de amostras positivas é reduzido para 0% (APÊNDICE C).

$^{a, b}$ = letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem significativamente (P<0,05) no teste binomial exato para *Salmonella* spp. no mesmo tempo de amostragem (APÊNDICE C) ou no conjunto dos períodos de amostragem (coluna* = total computado nos períodos de amostragem de t0 a D21) considerando a hipótese nula (H_0) de que o número de amostras positivas, ou o número de amostras acima do limite da legislação (coluna**), é reduzido para 0%.

** IN 161, Brasil (2022).

T1 = Tratamento 1. T2 = Tratamento 2.

T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.

5.3 Etapa 3: Avaliação da estabilidade de produto lácteo fermentado com cultura lática nativa, inulina e mel

5.3.1 Avaliações bromatológicas e físico-químicas do leite de cabra *in natura*

Para a elaboração do produto lácteo fermentado caprino, o leite de cabra *in natura* foi avaliado quanto aos parâmetros de acidez, sólidos totais, umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos por diferença. Os resultados dessas análises estão contidos na Tabela 9.

Tabela 9 – Composição média (± desvio padrão) do leite de cabra cru

Parâmetros		Resultado	Legislação
Acidez (g 100 mL^{-1})		0,145 ± 0,005	0,130 – 0,180
Sólidos totais (g $100g^{-1}$)		13,37 ± 0,16	-
Umidade (g $100g^{-1}$)		86,63 ± 0,16	-
Gordura (g $100g^{-1}$)		4,17 ± 0,23	Min. 2.9
Proteínas (g $100g^{-1}$)	Base úmida	3,69 ± 0,01	Min. 2,8
	Base seca	27,61 ± 0,09	-
Cinzas (g $100g^{-1}$)	Base úmida	0,86 ± 0,05	Min. 0,70
	Base seca	6,43 ± 0,29	-
Carboidratos por diferença (g $100g^{-1}$)	Base úmida	4,85 ± 0,53	-
	Base seca	23,08 ± 2,79	-

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023. Brasil (2000).
- = parâmetro não exigido.

Observa-se na Tabela 9 que todos os parâmetros atenderam aos requisitos exigidos pela Instrução Normativa nº 37 para leite de cabra (Brasil, 2000).

Os resultados da composição média do produto lácteo fermentado probiótico de cabra no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a 4 ± 1°C são mostrados na Tabela 10. Tomando como base o valor de acidez de 0,145 g 100 g^{-1}, apresentou valores maior que o reportado por Machado *et al*. (2017) de 0,130 g 100 g^{-1}, foi menor do que os observados por Piat, Malacarne e Gall (2015), Galdino (2019) de 0,170 g 100 g^{-1} e 0,170 g 100 g^{-1}, respectivamente. A acidez pode ser utilizada como indicador do estado de conservação do leite, pois a ação de microbiana acarreta um aumento na acidez e diminuição do teor de lactose (Coelho *et al*., 2018).

O teor de sólidos (13,37 g 100 g^{-1}) foi superior ao reportado por Machado *et al*. (2017) que obteve um teor de 11, 28 g 100 g^{-1} e menor que os resultados de Galdino (2019), 14,19 g 100 g^{-1}. O teor de umidade foi de 86,63 (g 100 g^{-1}), foi superior aos observados por Piat, Malacarne e Gall (2015) de 85,61 g 100 g^{-1} e por Galdino (2019), 85,81 g 100 g^{-1}.

O valor de cinzas (0,86 g 100 g^{-1}) foi maior que os reportados por Machado *et al*. (2017) de 0,700 g 100 g^{-1}, e por Coelho *et al*. (2018) de 0,710 g 100 g^{-1} e menor que Galdino (2019) de 0,906 g 100 g^{-1}.

Para o teor de proteína (3,69 g 100 g^{-1}), o valor obtido foi superior aos encontrados por Coelho *et al*. (2018) e por Machado *et al*. (2017), de 3,57 g 100 g^{-1} e 3,22 g 100 g^{-1}, respectivamente e menor que Galdino (2019), 4,2 g 100 g^{-1}. O teor de proteína pode ser influenciado pela raça, estágio de lactação, alimentação, clima, parto e época do ano (Pinheiro *et al*., 2014).

O teor de gordura foi de 4,17 g 100 g^{-1}, superior aos reportados por Machado *et al*. (2017) de 3,01 g 100 g^{-1}, e semelhante ao citado por Coelho *et al*. (2018) e Galdino (2019), 4,26 g 100 g^{-1} e 4,2 g 100 g^{-1}, nessa ordem. O teor de gordura contribui significativamente para a formação do *flavor* do leite de cabra, devido aos ácidos graxos de cadeia curta principalmente os ácidos caproico, caprílico e cáprico (Piat; Malacarne; Gall, 2015).

O valor de carboidrato por diferença foi de 4,85 g 100 g^{-1}, sendo superior aos reportados por Machado *et al*. (2017) e por Coelho *et al*. (2018), de 4,30 g 100 g^{-1} e 4,80 g 100 g^{-1}, respectivamente e, menor que Galdino (2019), 5,14 g 100 g^{-1}, sendo a lactose o carboidrato que está em maior proporção, contribuindo diretamente para o valor de sólidos totais (Piat; Malacarne; Gall, 2015).

5.3.2 Avaliações bromatológicas e físico-químicas do produto lácteo fermentado

Na Tabela 10 estão apresentados os resultados da composição média do produto lácteo fermentado.

O produto lácteo fermentado caprino apresentou um teor de gordura de 1,98 g 100 g^{-1} (Tabela 10). A redução da gordura em relação ao leite cru, pode estar associada a perdas ocorridas durante o processo de fabricação, em que uma parte da gordura pode aderir à superfície da vidraria. Leite de cabra fermentado adicionado da sobremesa de mandacaru (Galdino, 2019) apresentou teor de gordura foi superior, com 2,55 g 100 g^{-1}.

Tabela 10 – Composição média (± desvio padrão) dos tratamentos de leite de cabra após a fermentação para o produto final

Parâmetros		**Resultado**
Sólidos totais (g $100g^{-1}$)		22,28 ± 0,25
Umidade (g $100g^{-1}$)		77,72 ± 0,25
Gordura (g $100g^{-1}$)		1,98 ± 0,05
Proteínas (g $100g^{-1}$)		2,44 ± 0,12
Cinzas (g $100g^{-1}$)	Base úmida	0,74 ± 0,03
	Base seca	3,32 ± 0,18
Carboidratos por diferença (g $100g^{-1}$)		17,12 ± 0,30

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

O produto analisado apresenta fração láctea igual a 85%, de acordo com a legislação brasileira (Brasil, 2007), o teor de proteína deve ser de no mínimo 2,9 g 100 g^{-1} para leites fermentados, podendo ter conteúdo de proteínas inferiores em leites fermentados com agregados, açucarados e/ou saborizados, não devendo reduzir-se a uma proporção maior do que a porcentagem de substâncias alimentícias não lácteas. Desse modo para ser considerado leite fermentado o produto deveria apresentar um teor mínimo de 2,46% de proteína, o que não foi constatado (Tabela 10).

Diferentemente, no estudo de Galdino (2019) o teor de proteína (2,55 g 100 g^{-1}) esteve dentro do valor previsto pela legislação. Mesmo o valor sendo abaixo, é válido ressaltar que o regulamento de identidade e qualidade de leites fermentados do Brasil é principalmente voltado para o uso de leite de vaca.

Segundo a legislação, para o produto ser legalmente incluído na classificação de bebida láctea fermentada com adição de produto ou substância alimentícia é necessário atingir um mínimo de 1,0 g de proteína em 100 g de produto (Brasil, 2005), valor ultrapassado pelo produto analisado.

Ao analisar dados da literatura, é possível notar que o teor proteico do leite de cabra (~3,3%) representa aproximadamente 97% do leite de vaca (3,4 - 3,46%), o que pode justificar o menor teor proteico do produto analisado (Liao *et al*., 2017; Prosser, 2021).

Assim como, a composição do leite caprino pode variar com a raça, estágio de lactação, aspectos fisiológicos, armazenamento e, principalmente, composição da alimentação (Santos *et al*., 2023). Dessa forma, considerando a possibilidade de realizar um ajuste utilizando o fator 0,97 da proporção da proteína do leite de cabra em relação ao leite de vaca,

o teor proteico apresentado na Tabela 10 pode ser considerado adequado para um leite fermentado de cabra com 15% de adições, como apresentado na Equação 3:

Teor proteico mínimo = 0,97 × 2,9 × 0,85 (3)

Teor proteico mínimo = 2,3925% para um leite fermentado caprino.

Onde: 0,97 é o fator cabra/vaca; 2,9 é o valor mínimo de teor proteico da legislação; 0,85 é referente à base láctea.

O teor de proteína pode ser influenciado por uma série de fatores, pois o conteúdo proteico varia de acordo com a raça, estágio de lactação, clima, parto, época do ano, estado do úbere e alimentação deficiente em proteína também contribui para baixos teores de proteína no leite (Pinheiro *et al*., 2014). Diante disse e sabendo que durante o período pandêmico os pequenos produtores enfrentaram muitas dificuldades financeiras, subtende-se que durante esse período as cabras possam ter sido submetidas a uma alimentação menos proteica. O teor de proteína do leite fermentado foi menor do que o do leite de cabra *in natura*, ocorrendo assim perda da proteína, esse fato pode ser justificado pela perda durante o processamento, a qual fica parcialmente aderida aos materiais utilizados durante o processo.

Tabela 11 –Alterações nos valores médios de acidez titulável e pH para o produto lácteo fermentado

Tempo	pH	Acidez
T0	6,40 ± 0,008A	0,21 ± 0,01A
TF	5,73 ± 0,024B	0,81 ± 0,08B
D14	4,39 ± 0,011C	1,13 ± 0,03C
D28	4,15 ± 0,058D	1,21 ± 0,02D

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
T0 = Tempo antes da fermentação.
TF = Tempo após 16 horas de fermentação.
D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento.
D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.
A, B, C e D = letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os períodos de armazenamento.

Um dos principais indicadores da qualidade do produto lácteo fermentado é a acidez, que está alinhada com o sabor e a textura do produto fermentado, ainda, uma acidez adequada confere ao produto um sabor único e evita o crescimento de bactérias deteriorantes (Korma *et*

al., 2021). As alterações nos valores médios de pH e acidez titulável durante 28 dias de armazenamento são exibidas na Tabela 11.

Os valores de pH nos ensaios antes do processo de incubação apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$), estiveram próximo a 6,4 e após 16 h (final da fermentação) o pH reduziu significativamente ($p < 0,05$). A fermentação progressiva da lactose devido ao metabolismo ativo das culturas adicionadas pode resultar em pós-acidificação reduzindo o pH. Houve redução significativa ($p < 0,05$), quanto a acidez ao longo do armazenamento**.** Durante todo o período de armazenamento a acidez das amostras atenderam aos requisitos exigidos pela Instrução Normativa nº 46 (Brasil, 2007). Achados semelhantes foram encontrados por Galdino (2019), cuja medidas de acidez titulável também aumentou significativamente ao longo do tempo de armazenamento e o pH apresentou redução.

5.3.3 Populações de bactérias láticas

Para o Produto Final (PF) as populações de *S. thermophilus* (Tabela 12) também diferiram significativamente durante o armazenamento ($p<0,05$). Após 16 horas de fermentação cultura iniciadora alcançou valores acima de 8,9 log UFC g^{-1}, entretanto, após 14 dias de armazenamento ocorreu uma diminuição significativa nessa população ($p<0,05$). Em contrapartida, nesse mesmo tempo de armazenamento houve aumento de *L. plantarum* CNPC001, apresentando, portanto, comportamentos antagônicos. Ao final do armazenamento, a população de *S. thermophilus* se manteve acima de 8 log UFC g^{-1}.

Diferentemente, Almeida Neta *et al*. (2018) em ensaios de sobremesa láctea fermentada contendo ingredientes da casca de jabuticaba, *S. thermophilus* e adicionada da cepa *L. plantarum* CNPC003, observaram uma redução significativa entre o primeiro e o sétimo dia na população *de S. thermophilus* ($p< 0,05$). Mesmo com essa redução a população de *starter* estiveram próximas a 8,90 log UFC g^{-1} no 21º dia.

Quanto à viabilidade de cepas da família *Lactobacillaceae* Almeida Neta *et al*. (2018) observaram uma redução significativa de suas populações foi verificada a partir do décimo quarto (7,01 ± 0,42) dia de armazenamento em relação ao primeiro (7,39 ± 0,59) dia ($p< 0,05$). Por outro lado, os resultados da Tabela 11 demonstraram um aumento significativo na população das cepas à medida que o período de armazenamento progredia, atingindo 8,79 log UFC g^{-1} ao 28º dia. Comparativamente, ao último dia de amostragem os valores da cepa *L. plantarum* desse estudo (8,79 log UFC g^{-1} após 28 dias de armazenamento) são maiores que

aqueles observados por Almeida Neta *et al*. (2018) (7,12 log UFC g^{-1} após 21 dias de armazenamento).

A contagem de células viáveis é de fundamental importância para que seja possível a verificação da estabilidade da cultura microbiana frente a condições de estocagem sob refrigeração, bem como a manutenção de adequado número de células. Considerando a população de *L. plantarum* CNPC001 (Tabela 12), sua viabilidade se manteve dentro do exigido pela legislação (acima de 6 log UFC g^{-1}) durante todo o armazenamento para PF, com população sempre acima de 6,7 log UFC g^{-1} de bactérias láticas viáveis (Brasil, 2007).

Tabela 12 –Populações de *S. thermophilus* e *L. plantarum* detectadas no produto lácteo antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação e após 14 e 28 dias de armazenamento a 4 ± 1°C

Tempo	*S. thermophilus* (log UFC g^{-1})	*L. plantarum* (log UFC g^{-1})
T0	6,73 ± 0,05A	6,52 ± 0,02A
TF	8,94 ± 0,05B	7,60 ± 0,01B
D14	8,61 ± 0,02C	7,91 ± 0,01C
D28	8,08 ± 0,01D	8,79 ± 0,01D

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
T0 = Tempo antes da fermentação.
TF = Tempo após 16 horas de fermentação.
D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento.
D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento.
A, B, C e D = letras maiúsculas distintas na mesma linha indicam diferenças significativas (P<0,05) entre os períodos de armazenamento.

Os tratamentos T2 e PF apresentam diferenças significativas (p<0,05) para o mesmo tempo de armazenamento, dados não apresentados, entretanto, ambos apresentam viabilidade de *L. plantarum* superior a 6,6 log CFU g^{-1} durante todo o armazenamento (Tabelas 6 e 12), estando de acordo com a legislação vigente e com o mínimo recomendado de microrganismo probiótico em alimentos de 6 log CFU g^{-1} para ter benefícios efeitos na saúde do consumidor.

O T2 (Tabela 12) não passou por tratamento térmico, tampouco foi adicionado de inulina, diferente do PF. Embora seja evidenciados os valores entre os tratamentos, pode-se afirmar que esses dois fatores, supracitados anteriormente, não limitaram o T2 de cumprir o requisito para um produto probiótico, em se tratando do mínimo recomendado de microrganismo probiótico em alimentos, apresentou contagem acima de 6 log CFU g^{-1} a partir das 16 horas de fermentação, assim como se manteve dentro dos valores exigidos pela legislação (Brasil, 2007).

Galdino *et al*. (2021) apontam a inulina como sendo promissora tanto para melhorar o desempenho fermentativo em leite de cabra quanto para permitir a maior capacidade de sobrevivência desses lactobacilos a condições gastrointestinais simuladas, aumentando assim o potencial funcional do produto lácteo fermentado de cabra, o que pode justificar a maior viabilidade de *L. plantarum* no PF.

5.3.4 Pesquisa de indicadores de contaminação

Grupos microbianos importantes são pesquisados em produtos lácteos para avaliar os procedimentos e condições higiênicas durante a produção (Perin *et al*., 2019). A Tabela 13 apresenta populações de contaminantes microbianos no produto lácteo fermentado.

De acordo com a Instrução Normativa nº161, de 1º de julho de 2022 que estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos, tem-se que o produto lácteo fermentado deve apresentar até 1,0 log mL^{-1} de *E. coli* e até 3,0 log mL^{-1} para bolores e leveduras, para *Salmonella* spp., deve ser ausência. Essa legislação não apresenta exigências para os demais contaminantes, portanto foram utilizadas legislações anteriores. A Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (Brasil, 2019) para *Staphylococcus* coagulase positivo, cujo limite é de 2,0 log mL^{-1}. Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007 (Brasil, 2007) para coliformes, com limite é de 2,0 log mL^{-1}.

São apresentadas as concentrações dos indicadores microbianos de contaminação na Tabela 13. Não houve diferença significativa ($p<0,05$) ao longo das amostragens, as concentrações de todos os indicadores estiveram de acordo com as normas regulamentadoras brasileiras para todos os lotes produzidos. Todas as amostragens estiveram ausente para *Salmonella* spp.

Tabela 13 - Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no produto lácteo fermentado (APÊNDICE D) antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C

Contaminantes	Concentração bacteriana (UFC/mL) (valores mín, – máx)				% amostras positivas* (nº positivo/total analisado)	% amostras acima da legislação** (nº acima/total analisado)	Limite máximo da legislação***
	T0	TF	D14	D28			
Coliformes	1,30 – 1,48	< 1	< 1	< 1	8,3% (2/24)	0,0% (0/24)	2,0 log mL^{-1}
E. coli	< 1	< 1	< 1	< 1	0,0% (0/24)	0,0% (0/24)	1,0 log mL^{-1}
Staphylococcus coagulase positiva	< 2	< 2	< 2	< 2	0,0% (0/24)	0,0% (0/24)	2,0 log mL^{-1}
Bolores e leveduras	2,3 – 2,48	< 2	< 2	< 2	25,0% (6/24)	0,0% (0/24)	3,0 log mL^{-1}

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.
* = total computado de amostras positivas nos períodos de amostragem de T0 a D21.
** = total computado de amostras positivas acima da legislação nos períodos de amostragem de T0 a D21.
*** IN 46, Brasil (2007) para coliformes, IN 60, Brasil (2019) para *Staphylococcus* coagulase positivo, IN 161, Brasil (2022) para *E. coli* e bolores e leveduras.
T0 = Tempo antes da fermentação. TF = Tempo após 16 horas de fermentação. D14 = Tempo após 14 dias de armazenamento. D28 = Tempo após 28 dias de armazenamento
Fonte: Autoria própria.

5.3.5 Avaliação sensorial do produto lácteo fermentado

As características sensoriais do produto final são importantes indicadores da aceitação do consumidor. Desse modo, os dados da análise sensorial do produto lácteo de cabra fermentados foram organizados na Tabela 14. Foram avaliadas em termos de atributos sensoriais com base nas pontuações médias dadas por 43 provadores não treinados.

Tabela 14 –Valores gerais de aceitabilidade (média ± desvio padrão) obtidos na análise sensorial com 43 provadores para a produto lácteo fermentado (PF) após e 28 dias de armazenamento

Parâmetros	Pontuação
Cor	9,19 ± 3,23
Consistência	9,0 ± 1,29
Odor	8,98 ± 1,24
Sabor	9,07 ± 1,26
Dulçor	9,09 ± 1,21
Aceitação Global	9,14 ± 0,99
Frequência com que consome leite fermentado	8,26 ± 1,66
Você compraria esse produto	9,02 ± 1,40

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

Os resultados obtidos na avaliação sensorial dos produtos lácteos fermentados (Tabela 14) são de grande relevância, especialmente quando analisados no contexto de percepção do sabor (9,07 ± 1,26) e da aceitabilidade global (9,14 ± 0,99). É notável que os escores atribuídos a essas características tenham demonstrado valores elevados. Entretanto, é importante considerar que essas altas pontuações podem ter sido influenciadas por diversos fatores, dentre os quais a percepção da cor e consistência pode ter desempenhado um papel significativo. O efeito da cor dos alimentos na percepção do sabor é relatado por vários estudos e afirmado por pesquisadores da área de análise sensorial (Santos *et al.*, 2017).

Além disso, destaca-se que a média das notas obtidas para a intenção de compra da bebida láctea fermentada após 28 dias de armazenamento foi superior a 9,0. Esse resultado é bastante significativo, uma vez que reflete a forte disposição dos consumidores em adquirir o produto. Tal alta intenção de compra sugere que o produto conquistou a confiança dos consumidores e pode ser interpretado como um indicativo positivo de sua aceitação no mercado.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na etapa 1 desse estudo foi possível notar que as cepas nativas avaliadas apresentaram efeitos antimicrobianos contra cepas *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella enterica* serovar Typhimurium quando usados os meios tradicionalmente empregados para a análise microbiológica destes microrganismos. *L. plantarum* CNPC001 demonstrou melhores resultados naqueles ensaios, sendo, portanto, escolhida para os estudos em matriz alimentar, em leite cru caprino (etapa 2) e produto lácteo fermentado para análise sensorial (etapa 3). Foi visto que a presença da cepa *L. plantarum* CNPC001 conferiu um melhor efeito conservante quando incorporado na matriz alimentar. A cepa *L. plantarum* CNPC001 apresentou boa viabilidade em leite cru e no produto lácteo fermentado com valores acima de 7 log UFC g^{-1}.

Embora o teor de proteínas estivesse abaixo do limite estabelecido para leites fermentados, o produto lácteo caprino fermentado apresentou composição média dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação brasileira para bebidas lácteas, e se manteve estável durante 28 dias quanto aos requisitos para contaminantes estabelecidos para este produto, bem como obteve boa aceitação sensorial global (notas acima de 8,9 dentro de uma escala de 0 a 10) aos 28 dias.

Esses resultados demostram que a combinação da cultura nativa potencialmente probiótica *L. plantarum* CNPC001 com inulina e mel é promissora para o aumento da funcionalidade do leite de cabra e que a adição desta cultura nativa é capaz de auxiliar na conservação deste tipo de produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. R. **Identificação e caracterização do potencial probiótico de bactérias isoladas do leite e queijo caprino**. 2015. 103 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Sobral, [2015]. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1074920. Acesso em: 23 abr. 2020.

ACURCIO, Leonardo Borges; BASTOS, Rafael Wesley; SANDES, Sávio Henrique de Cicco; GUIMARÃES, Amanda Cristina de Carvalho; ALVES, Clarice Gregório; REIS, Diego Carlos dos; WUYTS, Sander; NUNES, Álvaro Cantini; CASSALI, Geovanni Dantas; LEBEER, Sarah. Protective effects of milk fermented by Lactobacillus plantarum B7 from Brazilian artisanal cheese on a Salmonella enterica serovar Typhimurium infection in BALB/c mice. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 33, p. 436-445, jun. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.010. Disponível em: https://www-sciencedirect.ez121.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1756464617301998?via%3Dihub. Acesso em: 05 jan. 2023.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Diretoria Colegiada. Resolução RDC N° 241, de 26 de julho de 2018. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 155, n. 144, p. 97, 27 jul. 2018.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12 de janeiro de 2001. Dispõe sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: Seção 1, Brasília, DF, p. 45-53, 10 jan. 2001.

ALMEIDA-NETA, M. C.; QUEIROGA, A. P. R.; ALMEIDA, R. L. J.; SOARES, A. C.; GONÇALVES, J. M.; FERNANDES, S. S.; DE SOUSA, M. C.; DOS SANTOS, K. M. O.; BURITI, F. C. A.; FLORENTINO, E. R. Fermented dessert with whey, ingredients from the peel of jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) and an indigenous culture of *Lactobacillus plantarum*: composition, microbial viability, antioxidant capacity and sensory features: composition, microbial viability, antioxidant capacity and sensory features. **Nutrients**, Basel, v. 10, n. 9, 2018. DOI: https://doi.org/10.3390/nu10091214. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/10/9/1214. Acesso em: 23 abr. 2020.

ARYANA, K. J.; OLSON, D. W. A 100-year review: yogurt and other cultured dairy products. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 100, n. 12, p. 9987-10013, Dec. 2017. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2017-12981. Disponível em: https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(17)31052-4/fulltext. Acesso em: 29 jun. 2020.

BALAKRISHNAN, Gayathri; AGRAWAL, Renu. Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. **Journal of Food Science and Technology**, Hoboken, v. 51, n. 12, p. 4138-4142, Dec. 2014. DOI: 1 https://doi.org/10.1007/s13197-012-0891-9. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13197-012-0891-9. Acesso em: 29 jun. 2020.

BALTHAZAR, C. F.; SANTILO, A.; GUIMARÃES, J. T.; CAPOZZI, V.; RUSSO, P.; CAROPRESE, M.; MARINO, R.; ESMERINO, E. A.; RAICES, R. S. L.; DA SILVA, M. C.; DA SILVA, H. L. A.; FREITAS, M. Q.; GRANATO, D.; CRUZ, A. G.; ALBENZIO, M. Novel milk–juice beverage with fermented sheep milk and strawberry (*Fragaria* × *ananassa*): nutritional and functional characterization. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 102, n. 12, p. 10724-10736, 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16909. Disponível em: https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(19)30811-2/fulltext. Acesso em: 29 jun. 2020.

BALTHAZAR, C. F.; PIMENTEL, T. C.; FERRÃO, L. L.; ALMADA, C. N.; SANTILLO, A.; ALBENZIO, M.; MOLLAKHALILI, N.; MORTAZAVIAN, A. M.; NASCIMENTO, J. S.; SILVA, M. C.; FREITAS, M. Q.; SANT'ANA, A. S.; GRANATO, D.; CRUZ, A. G. Sheep milk: physicochemical characteristics and relevance for functional food development. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Hoboken, v. 16, n. 2, p. 247-262, 2017. DOI: https://doi.org/10.1111/1541-4337.12250. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1541-4337.12250. Acesso em: 29 jun. 2020.

BARBOSA, I. C.; OLIVEIRA, M. E. G.; MADRUGA, M. S.; GULLÓN, B.; PACHECO, M. T. B.; GOMES, A. M. P.; BATISTA, A. S. M.; PINTADO, M. M. E.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Influence of the addition of: *Lactobacillus acidophilus* La-05, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and inulin on the technological, physicochemical, microbiological and sensory features of creamy goat cheese**. Food and Function**, Cambridge, v. 7, n. 10, p. 4356-4371, 2016. DOI: https://doi.org/10.1039/c6Fo00657D. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/fo/c6fo00657d#!divAbstract. Acesso em: 29 jun. 2020.

BARCELOS, S. C. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo *Petit-Suisse* caprino potencialmente probiótico com polpa de acerola (*Malpighia emarginata DC*)**. 2017. 171f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Instituto Federal do Ceará, Limoeiro do Norte, 2017.

BOLETIM ATIVOS DE OVINOS E CAPRINOS. Brasília, DF: CNA: Embrapa Caprinos e Ovinos, ano 3, ed. 2, jul. 2016. Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355090/0/Ativo_Ovinos_Caprinos/2cba6db9-b704-183-ba43-a8214b28eaa4?version=1.0. Acesso em: 23 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº. 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 08 de nov. 2000. Seção 1, p.103-105. Disponível em: https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=08/11/2000&jornal=1&pagina=105&totalArquivos=120. Acesso em: 23 abr. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº. 16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Bebida Láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 de ago. 2005. Seção 1, p.7-10. Disponível em: https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=24/08/2005&jornal=1&pagina=7&totalArquivos=144. Acesso em: 20 de jan. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 out. 2007. Seção 1, p.05. Disponível em: https://www.jusbrasil.com.br/diarios/741136/pg-4-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-24-10-2007/pdfView. Acesso em: 28 de jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 6 de julho de 2022. Seção 1, p.235. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2. Acesso em: 16 de fev. 2023.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus* in potentially probiotic and synbiotic fresh cream cheeses. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 70, n. 1, p. 228-235, Jan. 2007. DOI: https://doi.org/10.4315/0362-028x-70.1.228. Disponível em: https://meridian.allenpress.com/jfp/article/70/1/228/171828/Biopreservation-by-Lactobacillus-paracasei-in. Acesso em: 23 abr. 2020.

BURITI, F. C. A.; FREITAS, S. C.; EGITO, A. S.; DOS SANTOS, K. M. O. Effects of tropical fruit pulps and partially hydrolysed galactomannan from *Caesalpinia pulcherrima* seeds on the dietary fibre content, probiotic viability, texture and sensory features of goat dairy beverages. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 59, n. 1, p. 196-203, Nov. 2014. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.04.022. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643814002278?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

CHAVES DE LIMA, E. L.; DE MOURA FERNANDES, J.; CARDARELLI, H. R. Optimized fermentation of goat cheese whey with *Lactococcus lactis* for production of antilisterial bacteriocin-like substances. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 84, p. 710-716, Oct. 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.040. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817304449?via%3Dihub. Acesso em: 29 jun. 2020.

CHEN, L.; ZHANG, Q.; JI, Z.; SHU, G.; CHEN, H. Production and fermentation characteristics of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides of goat milk fermented by a novel wild *Lactobacillus plantarum* 69. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 91, 532-540, May 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818301312. Acesso em: 29 jun. 2020.

CLARK, S.; MORA GARCÍA, M. B.. A 100-year review: advances in goat milk research. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 100, n. 12, p. 10026-10044, Dec. 2017. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2017-13287. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030217310500. Acesso em: 29 jun. 2020.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard**. 12th ed. Wayne: CLSI, 2015. 96 p. ISBN 1-56238-985-8 [Print]; ISBN 1-56238-986-6 [Electronic]. Disponível em: https://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12.unlocked.pdf. Acesso em: 29 jun. 2020.

COELHO, M. C. S.; RODRIGUE, B. R.; COELHO, M. I. S.; LIBÓRIO, R. C.; COSTA, F. F. P.; SILVA, G. L. Características físico-química e microbiológica do leite de cabra produzido em Petrolina-PE. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Patos, v. 14, n. 3, p. 175-182, 2018.

CONOVER, W. J. Practical nonparametric statistics. 3. ed. New York: Wiley, 2001.

COSTA, M. P.; FRASAO, B. S..; SILVA, A. C. O.; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R. M.; CONTE-JUNIOR, C. A. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 98, n. 9, p. 5995-6003, Sept. 2015. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2015-9738. Disponível em: https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(15)00502-0/fulltext. Acesso em: 29 jun. 2020.

CURIALE, M. S.; SONS, T.; MCIVER, D.; MCALLISTER, J.CS.; HALSEY, B.; ROBLEE, D.; FOX, T. L. Dry rehydratable film for enumeration of total coliforms and *Escherichia coli* in foods: collaborative study. [Adopted as official method AOAC 991.41]. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, D. C., v. 74, n. 4, p.635-648, 1991.

DA SILVA, M. O. M.; DOS SANTOS, K. M. O.; SAAD, S. M. I.; BURITI, F. C. A. Prospective applications of probiotics and prebiotics in foods. In: BRANDELLI, Adriano (ed.). **Probiotics**: advanced food and health applications. Academic Press, 2022. Cap. 11. p. 209-231. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85170-1.00021-X. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978032385170100021X?via%3Dihub. Acesso em: 12 nov. 2022.

DANTAS, D. S; GOMES, L. S.; GONÇALVEZ, L. S. C.; CORREIA, J. O.; DA SILVA, G. M.; QUEIROGA, A. P. R.; DOS SANTOS, K. M. O.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A. Lactose hydrolysis implications on dairy beverages with autochthonous *Limosilactobacillus mucosae* and *Syzygium cumini* pulp. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 155, p. 112963, 1 Feb. 2022. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112963. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821021162. Acesso em: 28 set. 2022.

DAVANI-DAVARI, D.; NEGAHDARIPOUR, M.; KARIMZADEH, I.; SEIFAN, M.; MOHKAM, M.; MASOUMI, S. J.; BERENJIAN, A.; GHASEMI, Y. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. **Foods**, Basel, v. 8, n. 3, p. 1-27, Mar. 2019. DOI: https://doi.org/10.3390/foods8030092. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6463098/. Acesso em: 29 jun. 2020.

DE SOUZA OLIVEIRA, R. P.; PEREGO, P.; DE OLIVEIRA, M. N.; *et al*. Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 520-523, Mar. 2011. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.024. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643810003026. Acesso em: 23 abr. 2020.

DIMITRELLOU, D.; SALAMOURA, C.; KONTOGIANNI, A.; KATSIPI, D.; KANDYLIS, P.; ZAKYNTHINOS, G.; VARZAKAS, T. Effect of Milk Type on the Microbiological, Physicochemical and Sensory Characteristics of Probiotic Fermented Milk. **Microorganisms**, Basel, v. 7, n. 9, p. 274-1, 21 ago. 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms7090274. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-2607/7/9/274. Acesso em: 01 fev. 2023.

DIVYASHREE, S.; ANJALI, P.G.; SOMASHEKARAIAH, Rakesh; SREENIVASA, M.Y. Probiotic properties of *Lactobacillus casei* – MYSRD 108 and *Lactobacillus plantarum*-MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against Salmonella paratyphi. **Biotechnology Reports**, [S.l.], v. 32, p. 00672-00672, dez. 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00672. Disponível em: https://www-sciencedirect.ez121.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2215017X21000886?via%3Dihub#bib0022. Acesso em: 01 nov. 2022.

ETZOLD, Sabrina; KOBER, Olivia I.; MACKENZIE, Donald A.; TAILFORD, Louise E.; GUNNING, A. Patrick; WALSHAW, John; HEMMINGS, Andrew M.; JUGE, Nathalie. Structural basis for adaptation of lactobacilli to gastrointestinal mucus. **Environmental Microbiology**, Hoboken, v. 16, n. 3, p. 888-903, Mar. 2014. DOI: https://doi.org/10.1111/1462-2920.12377. Disponível em: https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1462-2920.12377. Acesso em: 23 abr. 2020.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. **European Food Safety Authority Journal**, Parma, v. 10, n. 6, p. 1-10, June. 2012. DOI: http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2740. Disponível em: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2012.2740. Acesso em: 23 abr. 2020.

FANNING, Saranna; HALL, Lindsay J.; CRONIN, Michelle; ZOMER, Aldert; MACSHARRY, John; GOULDING, David; MOTHERWAY, Mary O'Connell; SHANAHAN, Fergus; NALLY, Kenneth; DOUGAN, Gordon. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 109, n. 6, p. 2108-2113, 2012. DOI: https://doi.org/10.1073/pnas.1115621109. Disponível em: https://www.pnas.org/content/pnas/109/6/2108.full.pdf. Acesso em: 23 abr. 2020.

FAZILAH, N. F.; ARIFF, Arbakariya B.; KHAYAT, Mohd Ezuan; RIOS-SOLIS, Leonardo; HALIM, Murni. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 48, p. 387-399, Sept. 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.039. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S175646461830375X?via%3Dihub#!. Acesso em: 1 jul. 2020.

FEKETE, A. A.; GIVENS, D. I.; LOVEGROVE, J. A. The impact of milk proteins and peptides on blood pressure and vascular function: a review of evidence from human intervention studies. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 26, n. 2, p. 177-190, Dec. 2013. DOI: https://doi.org/10.1017/S0954422413000139. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24135454/. Acesso em: 23 abr. 2020.

FERNANDES, K. F. D.; OLIVEIRA, K. A. R.; SOUZA, E. L. Application of potentially probiotic fruit-derived lactic acid bacteria loaded into sodium alginate coatings to control anthracnose development in guava and mango during storage. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, 2021. DOI: https://doi.org/10.1007/s12602-021-09871-8. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-021-09871-8. Acesso em: 28 set. 2022.

FIDANZA, M.; PANIGRAHI, P.; KOLLMANN, T. R. *Lactiplantibacillus plantarum*– Nomad and ideal probiotic. **Frontiers in Microbiology**, Lausana v. 12, p. 2911, 6 out. 2021. Http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.712236. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.712236/full. Acesso em: 01 dez. 2022.

FLESCH, A. G. T; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. C. The therapeutic use of symbiotics. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 206-209, July/Sept. 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/pdf/abcd/v27n3/0102-6720-abcd-27-03-00206. Acesso em: 29 jun. 2020.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 226, p. 497-509, 1957. Disponível em: https://www.jbc.org/content/226/1/497.long. Acesso em: 29 jun. 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food energy**: methods of analysis and conversion factors. Report of a Technical Workshop; Food and Nutrition Paper Volume 77; Rome, Italy: FAO, 2003. 93 p. Disponível em: http://www.fao.org/uploads/media/FAO_2003_Food_Energy_02.pdf. Acesso em: 1 de jul. 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Production live animals: Goats. *In*: FAOSTATWEB. [Rome]: Food and Agriculture Organization of The United Nations,. [2020]. Disponível em: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QA. Acesso em: 20 abr. 2020.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, ON: FAO/WHO, 2002. 11 p. (Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotic in Food). Disponível em: https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf. Acesso em: 23 abr. 2020.

GALANAKIS, C. M.; RIZOU, M.; ALDAWOUD, T. M. S.; UCAK, I.; ROWAN, N. J. Innovations and technology disruptions in the food sector within the COVID-19 pandemic and post-lockdown era. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 110, p. 193-200, abr. 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224421001035?via%3Dihub. Acesso em: 10 fev. 2023.

GALDINO, I. K. C. P. O. **Comportamento de culturas nativas de lactobacilos com potencial probiótico em leite de cabra fermentado adicionado de *Cereus jamacaru* e sua resistência às condições gastrintestinais *in vitro***. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2019.

GALDINO, I. K. C. P. O.; OLIVEIRA, M. M.; OLIVEIRA, A. T.; SILVA, G. M.; OLIVEIRA, T. A.; DOS SANTOS, K. M. O.; EGITO, A. S.; BURITI, F. C. A. Fermentative behavior of native lactobacilli in goat milk and their survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 135, p. 10990, 2021. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109905. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382030894X?via%3Dihub. Acesso em: 26 jun. 2022.

GARCIA, R. V.; TRAVASSOS, A. E. R. Aspectos gerais sobre o leite de cabra: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 67, n. 386, p. 81-88, dez. 2012. DOI: https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120039. Disponível em: https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/240/250. Acesso em: 13 abr. 2020.

GARCIA, S. L. A.; SILVA, G. M.; MEDEIROS, J. M. S.; QUEIROGA, A. P. R.; QUEIROZ, B. B.; FARIAS, D. R. B.; CORREIA, J. O.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A.. Influence of co-cultures of *Streptococcus thermophilus* and probiotic lactobacilli on quality and antioxidant capacity parameters of lactose-free fermented dairy beverages containing *Syzygium cumini* (L.) skeels pulp. **RSC Advances**, Cambridge, v. 10, n. 17, p. 10297-10308, 2020. DOI: https://doi.org/10.1039/C9RA08311A. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/RA/C9RA08311A#!divAbstract. Acesso em: 13 abr. 2020. REPETIDA

GIARNETTI, M.; PARADISO, V. M.; CAPONIO, F.; SUMMO, C.; PASQUALONE, A. Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 1, p. 339-345, Sept. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.063. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815002169?via%3Dihub. Acesso em: 29 jun. 2020.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, New York, v. 14, n. 8, p. 491-502, Aug. 2017. DOI: https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nrgastro.2017.75#citeas. Acesso em: 26 jun. 2020.

GORANOV, B.; TENEVA, D.; DENKOVA-KOSTOVA, R.; SHOPSKA, V.; OULAHAL, N.; DENKOVA, Z.; KOSTOV, G.; DEGRAEVE, P.; PAGAN, R. Protein fermentation in the gut; implications for intestinal dysfunction in humans, pigs, and poultry. **American Journal of Physiology**: Gastrointestinal and Liver Physiology, Bethesda, v. 315, n. 2, p. 159-170, Aug. 2018. DOI: https://doi.org/10.1152/ajpgi.00319.2017. Disponível em: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpgi.00319.2017. Acesso em: 29 jun. 2020.

GORANOV, B.; TENEVA, D.; DENKOVA-KOSTOVA, R.; SHOPSKA, V.; OULAHAL, N.; DENKOVA, Z.; KOSTOV, G.; DEGRAEVE, P.; PAGAN, R. Biopreservation of Chocolate Mousse with Lactobacillus helveticus 2/20: microbial challenge test. **Molecules**, Basel, v. 27, n. 17, p. 5631-5631, 31 ago. 2022. DOI: http://dx.doi.org/10.3390/molecules27175631. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/27/17/5631. Acesso em: 02 fev. 2023.

GUIMARÃES, J. T; BALTHAZAR, C. F; SILVA, R.; ROCHA, R.; GRAÇA, J.; A ESMERINO, E.; SILVA, M. C; SANT'ANA, A.; DUARTE, M. C. K H; FREITAS, M. Q. Impact of probiotics and prebiotics on food texture. **Current Opinion in Food Science**, Oxford, v. 33, p. 38-44, June 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799319301316?via%3Dihub. Acesso em: 29 jun. 2020.

HAIKONEN, R.; KÄRKKÄINEN, O.; KOISTINEN, V.; HANHINEVA, K. Diet-and microbiota-related metabolite, 5-aminovaleric acid betaine (5-AVAB), in health and disease. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, 2022. Disponível em: https://www.cell.com/trends/endocrinology-metabolism/fulltext/S1043-2760(22)00061-3?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1043276022000613%3Fshowall%3Dtrue. Acesso em: 01 jan. 2023.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, New York, v. 11, n. 8, p. 506-514, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nrgastro.2014.66. Acesso em: 13 abr. 2020.

HIMEDIA. **Salmonella differencial agar (twin pack) (RajHans medium) M1078**. Mumbai, jan. 2011. (Technical data). Disponível em: http://himedialabs.com/TD/M1078.pdf Acesso em 10 jun. 2019.

HOLSCHER, H. D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. **Gut Microbes**, Philadelphia, v. 8, n. 2, p. 172-184, 2017. DOI: https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19490976.2017.1290756?needAccess=true&. Acesso em: 29 jun. 2020.

HORWITZ, W.; LATIMER, G. W. (ed.). **Official methods of analysis of AOAC International** (18th ed. rev. 2010). Gaithersburg, USA: AOAC International, 2005.

INDIAN COUNCIL OF MEDICAL RESEARCH. Ministry of Science and Technology. Department of Biotechnology. **Guidelines for evaluation of probiotics in food**. New Delhi: ICMR, 2011. 11 p. Disponível em: http://dbtindia.gov.in/sites/default/files/PROBIOTICS-GUIDELINES-PDF_0.pdf. Acesso em: 23 abr. 2020.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed., 1. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 1020. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 29 jun. 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de Dados Agregados. **Censo Agropecuário**. Tabela 6928 - Número de estabelecimentos agropecuários com caprinos, Efetivos, Venda e Produção de leite, por tipologia, condição do produtor em relação às terras e grupo de cabeças de caprino. [Rio de Janeiro, 2017]. Disponível em: https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6928#resultado. Acesso em: 20 abr. 2020.

IIRIONDO-DEHOND, M.; MIGUEL, E.; CASTILLO, M. Food byproducts as sustainable ingredients for innovative and healthy dairy foods. **Nutrients**, Basel, v. 10, n. 10, p. 1-24, 2018. DOI: https://doi.org/10.3390/nu10101358. Disponível em: https://www.mdpi.com/2072-6643/10/10/1358. Acesso em: 29 jun. 2020.

KARIMI, R.; AZIZI, M. H.; GHASEMLOU, M.; VAZIRI, M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: a review. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 119, p. 85-100, Mar. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.029. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861714011345. Acesso em: 29 jun. 2020.

Kınık, Ö. The effect of using pro and prebiotics on the aromatic compounds, textural and sensorial properties of symbiotic goat cheese. **Mljekarstvo**, Zagreb, v. 67, p. 71-85, 2017. DOI: https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2017.0108. Disponível em: https://hdl.handle.net/11454/32441. Acesso em: 29 jun. 2020.

KOECHER, K. J.; NOACK, J. A.; TIMM, D. A.; KLOSTERBUER, A. S.; THOMAS, W.; SLAVIN, J. L. Estimation and interpretation of fermentation in the gut: coupling results from a 24 h batch *in vitro* system with fecal measurements from a human intervention feeding study using fructo-oligosaccharides, inulin, gum acacia, and pea fiber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, n. 6, p. 1332-1337, 2014. DOI: https://doi.org/10.1021/jf404688n. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf404688n. Acesso em: 29 jun. 2020.

KORMA, S. A.; LI, Li; KHALIFA, S. A.; ABDRABO, K. A. E.; HUANG, Y.; AN, P.; FU, J. Microbiological, physicochemical, and sensory properties of goat milk co-fermented with isolated new yeasts. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, n. 6, p. 5296-5309, Dez. 2021. DOI: https://doi-org.ez121.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s11694-021-01091-6. Disponível em: https://link-springer-com.ez121.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11694-021-01091-6. Acesso em: 25 jan. 2023

LAVILLA-LERMA, L.; PÉREZ-PULIDO, R.; MARTÍNEZ-BUENO, M.; MAQUEDA, M.; VALDIVIA, E. Characterization of functional, safety, and gut survival related characteristics of *Lactobacillus* strains isolated from farmhouse goat's milk cheeses. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 163, n. 2-3, p. 136-145, May 2013. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.02.015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016816051300113X?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

LIAO, Y.; WEBER, D.; XU, W.; DURBIN-JOHNSON, B. P.; PHINNEY, B. S.; LÖNNERDAL, B. Absolute Quantification of Human Milk Caseins and the Whey/Casein Ratio during the First Year of Lactation. **Journal Proteome Rsearch**. v. 16, n. 11, p. 4113-4121, Out. 2017. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.7b00486. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jproteome.7b00486. Acesso em: 26 jan. 2023.
•

LIMA JÚNIOR, D. C. **Queijo de cabra com extrato de semente de *Helianthus annuus* (girassol) e cultura nativa de *Limosilactobacillus mucosae*: Avaliação do potencial funcional e sobrevivência da bactéria lática *in vitro***. 2022. 65f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2023.

LIU, F.; PRABHAKAR, M.; JU, J.; LONG, H.; ZHOU, H. W. Effect of inulin-type fructans on blood lipid profile and glucose level: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 71, n. 1, p. 9-20, 2017. DOI: https://doi.org/10.1038/ejcn.2016.156. Disponível em: https://www.nature.com/articles/ejcn2016156. Acesso em: 29 jun. 2020.

LIU, Y.; ZHANG, F. L., Y.; ZHANG, F. Comparison of whole goat milk and its major fractions regarding the modulation of gut microbiota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 102, n. 9, p. 3618-3627, 2022. DOI: https://doi.org/10.1002/jsfa.11708. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.11708. Acesso em: 01 jan. 2023.

LONDON, L. E. E.; PRICE, N. P. J.; RYAN, P.; WANG, L.; AUTY, M. A. E.; FITZGERALD, G. F.; STANTON, C.; ROSS, R. P. Characterization of a bovine isolate *Lactobacillus mucosae* DPC 6426 which produces an exopolysaccharide composed predominantly of mannose residues. **Journal of Applied Microbiology**, Hoboken, v. 117, n. 2, p. 509-517, Aug. 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/jam.12542. Disponível em: https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jam.12542. Acesso em: 23 abr. 2020.

LUZ, C.; IZZO, L.; GRAZIANI, G.; GASPARI, A.; RITIENI, A.; MAÑESA, J.; MECA, G. Evaluation of biological and antimicrobial properties of freeze-dried whey fermented by different strains of *Lactobacillus plantarum*. **Food & Function**, Cambridge, v. 9, n. 7, p. 3688-3697, 2018. DOI: http://dx.doi.org/10.1039/c8fo00535d. Disponível em: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/fo/c8fo00535d. Acesso em: 02 fev. 2023.

MACHADO, T. A. D. G.; OLIVEIRA, M. E. G.; CAMPOS, M. I. F.; ASSIS, P. O. A.; SOUZA, E. L.; MADRUGA, M. S.; PACHECO, M. T. B.; PINTADO, M. M. E.; QUEIROGA, R. C. R. E. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 80, p. 221-229, 2017. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.02.013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643817301123?via%3Dihub. Acesso em: 01 nov. 2022.

MAHDHI, A.; LEBAN, N.; CHAKROUN, I.; CHAOUCH, M. A.; HAFSA, J.; FDHILA, K.; MAHDOUANI, K.; MAJDOUB, H. Extracellular polysaccharide derived from potential probiotic strain with antioxidant and antibacterial activities as a prebiotic agent to control pathogenic bacterial biofilm formation. **Microbial Pathogenesis**, London, v. 109, p. 214-220, Aug. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.05.046. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401016305174?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

MENSINK, M. A.; FRIJLINK, H. W.; MAARSCHALK, K. D. V.; HINRICHS, Wouter L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: review of its physicochemical characteristics. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 130, p. 405–419, Oct. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.026. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861715004257. Acesso em: 29 jun. 2020.

MILIONI, C.; MARTÍNEZ, B.; DEGL'INNOCENTI, S.; TURCHI, B.; FRATINI, F.; CERRI, D.; FISCHETTI, R. A novel bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum LpU4 as a valuable candidate for biopreservation in artisanal raw milk cheese. **Dairy Science & Technology**, Paris, v. 95, n. 4, p. 479-494, 22 maio 2015. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s13594-015-0230-9. Disponível em: https://link-springer-com.ez121.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s13594-015-0230-9. Acesso em: 03 jan. 2023.

MIRABALLES, M.; HODOS, N.; GÁMBARO, A. Application of a pivot profile variant using cata questions in the development of a whey-based fermented beverage. **Beverages**, Basel, v. 4, p. 11-20, 1 Feb. 2018. DOI: https://doi.org/10.3390/beverages4010011. Disponível em: https://www.mdpi.com/2306-5710/4/1/11. Acesso em: 27 abr. 2020.

MORAES, G. M. D.; ABREU, L. R.; EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; SILVA, L. M. F.; NERO, L. A.; TODOROV, S. D.; DOS SANTOS, K. M. O. Functional properties of *Lactobacillus mucosae* strains isolated from Brazilian goat milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 9, n. 3, p. 235-245, Sept. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s12602-016-9244-8. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-016-9244-8. Acesso em: 23 abr. 2020.

MORAIS, E. C.; ESMERINO, E. A.; MONTEIRO, R. A.; PINHEIRO, C. M.; NUNES, C. A.; CRUZ, A. G.; BOLINI, H. M. A. Prebiotic low sugar chocolate dairy desserts: physical and optical characteristics and performance of PARAFAC and PCA preference map. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 81, p. 156–164, Jan. 2016. DOI: https://doi.org/10.1111/1750-3841.13121. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.13121. Acesso em: 29 jun. 2020.

NAYIK, G. A.; JAGDALE, Y. D.; GAIKWAD, S. A.; DEVKATTE, A. N.; DAR, A. H.; DEZMIREAN, D. S.; BOBIS, O.; RANJHA, M. M. A. N.; ANSARI, M. J.; HEMEG, H. A.; ALOTAIBI, S. S. Recent Insights Into Processing Approaches and Potential Health Benefits of Goat Milk and Its Products: a review. **Frontiers In Nutrition**, Lausanne, v. 8, p. 1-16, 6 dez. 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.3389/fnut.2021.789117. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2021.789117/full. Acesso em: 15 dez. 2023.

PERDIGÃO, N. R. O. F.; OLIVEIRA, L. S.; CORDEIRO, A. G. P. C. Sistemas de Produção de Caprinos Leiteiros. *In*: WORKSHOP SOBRE PRODUÇÃO DE CAPRINOS NA REGIÃO DA MATA ATLÂNTICA, 13., 2016, Coronel Pacheco. **Anais** [...]. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2016. p.11-29. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1051053/1/CNPC2016Doc119.pdf. Acesso em: 20 abr. 2020.

PEREIRA, A. M. S.; FARIAS, D. R. B.; QUEIROZ, B. B.; NOBRE, M. S. C.; CAVALCANTI, M. T.; SALLES, H. O.; DOS SANTOS, K. M. O.; MEDEIROS, A. C. D.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A. Influence of a co-culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus casei* on the proteolysis and ACE-inhibitory activity of a beverage based on reconstituted goat whey powder. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 11, p. 273-282, 2019. DOI: https://doi.org/10.1007/s12602-017-9362-y. Disponível em: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12602-017-9362-y.pdf. Acesso em: 13 abr. 2020.

PERIN, L. M.; PEREIRA, J. G.; BERSOT, L. S.; NERO, L. A. The Microbiology of Raw Milk. In: NERO, Luís Augusto; CARVALHO, Antonio Fernandes de (ed.). Raw Milk: balance between hazards and benefits. London: Academic Press, 2019. Cap. 3. p. 45-64. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-810530-6.00003-1. Disponível em: https://www-sciencedirect.ez121.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/B9780128105306000031. Acesso em: 03 jan. 2023.

PIAT, J.; MALACARNE, L. T.; GALL, R. E. **Sorvete com leite de cabra adicionado de mucilagem de chia (*Savia hispânica* L.) e farinha de semente de alfarroba (*Seratonia sliqua* L.)**. 2015. 84 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo em Alimentos) – Universidade Tecnológica do Paraná, Medianeira, 2015.

PINHEIRO. J. G. **Características físico-químicas do leite caprino na época seca e chuvosa na microrregião de Mossoró-RN**. 2012. Qualificação (Mestrado em Produção Animal: 37 UFERSA área de concentração Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2012.

POELAERT, C.; DESPRET, X.; SINDIC, M.; BECKERS, Y.; FRANCIS, F.; PORTETELLE, D.; SOYEURT, H.; THÉWIS, A.; BINDELLE, J. Cooking has variable effects on the fermentability in the large intestine of the fraction of meats, grain legumes, and insects that is resistant to digestion in the small intestine in an *in vitro* model of the pig's gastrointestinal tract. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 65, n. 2, p. 435-444, Jan. 2017. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04599. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.6b04599. Acesso em: 29 jun. 2020.

POP, O. L.; SALANTA, L. C.; POP, C. R.; COLDEA, T.; SOCACI, S. A.; SUHAROSCHI, R.; VODNAR, D. C. Prebiotics and dairy applications. *In*: GALANAKIS, C. M. (ed.). **Dietary fiber**: properties, recovery and applications. [Amsterdam]: Elsevier, 2019. cap. 8. p. 247-277. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816495-2.00008-3. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128164952000083?via%3Dihub. Acesso em: 29 jun. 2020.

PROSSER, C. G. Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. **Journal of food Science**, Hoboken, v. 86, n. 2, p. 257-265, Jan. 2021. DOI: https://doi.org/10.1111/1750-3841.15574. Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1750-3841.15574. Acesso em: 26 jan. 2023.

PULINA, G.; MILÁN, M. J.; LAVÍN, M. P.; THEODORIDIS, A.; MORIM, E.; CAPOTE, J.; THOMAS, D. L.; FRANCESCONI, A. H. D.; CAJA, G. Invited review: current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 101, n. 8, p. 6715-6729, Aug. 2018. DOI: https://doi.org/10.3168/jds.2017-14015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030218305290. Acesso em: 29 jun. 2020.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. *In vitro* analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, Amsterdam, v. 49, n. 2, p. 619-625, Dec. 2012. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996912003663?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

RANADHEERA, C. S.; NAUMOVSKI, N.; AJLOUNI, S. Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: recent developments and innovations. **Current Opinion in Food Science**, Oxford, v. 22, p. 109-114, Aug. 2018. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.02.010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214799318300110. Acesso em: 29 jun. 2020.

RASTALL, R. A.; GIBSON, G. R. Recent developments in prebiotics to selectively impact beneficial microbes and promote intestinal health. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 32, p. 42-46, Apr. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.002. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095816691400189X?via%3Dihub. Acesso em: 29 jun. 2020.

RODRIGUES, R., GUERRA, G.; SOARES, J.; SANTOS, K. ROLIM, F.; ASSIS, P.; ARAUJO, D.; ARAUJO JÚNIOR, R. F.; GARCIA, V. B.; ARAÚJO, A. A.; QUEIROGA, R. *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in goat milk matrix modulates intestinal inflammation involving NF-κB p65 and SOCs-1 in an acid-induced colitis model. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 50, p. 78-92, Nov. 2018. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2018.09.013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618304894?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

ROLIM, F. R. L.; DOS SANTOS, K. M. O.; BARCELOS, S. C.; EGITO, A. S.; RIBEIRO, T. S.; CONCEIÇÃO, M. L.; MAGNANI, M.; OLIVEIRA, M. E. G.; QUEIROGA, R. C. R. E. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* EM1107 in simulated gastrointestinal conditions and its inhibitory effect against pathogenic bacteria in semi-hard goat cheese. **LWT – Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 63, n. 2, p. 807-813, Oct. 2015. DOI: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.004. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815003539?via%3Dihub. Acesso em: 23 abr. 2020.

ROSA, L. S.; CRUZ, A. G.; TEODORO, A. J. Probiotics dairy products and cancer- a narrative review. **Research, Society and Development**, [S.l.] v. 11, n. 5, p. e30211528221, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i5.28221. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/28221. Acesso em: 16 feb. 2023.

SABOKTAKIN-RIZI, M. Identification of *Lactobacillus plantarum* TW29-1 isolated from Iranian fermented cereal-dairy product (Yellow Zabol Kashk): probiotic characteristics, antimicrobial activity and safety evaluation. **Journal of Food Measurement and Characterization**, New York, v. 15, n. 3, p. 2615-2624, 22 fev. 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s11694-021-00846-5. Disponível em: https://rdcu.be/c5YWf. Acesso em: 18 fev. 2023.

SALVA, S.; NUÑES, M.; VILLENA, J.; RAMÓN, A.; FONT, G.; ALVAREZ, S. Development of a fermented goats' milk containing *Lactobacillus rhamnosus*: *in vivo* study of health benefits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 91, n. 13, p. 2355-2362, Oct. 2011. DOI: https://doi.org/10.1002/jsfa.4467. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.4467. Acesso em: 23 abr. 2020.

DOS SANTOS, K. M. O.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C.; CRUZ, A. P. G.; BURITI, F. C. A.; CABRAL, L. M. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 97, n. 4, p. 1108-1115, Mar. 2017. DOI: https://doi.org/10.1002/jsfa.7836. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.7836. Acesso em: 29 jun. 2020.

SANTOS, K. M. O.; VIEIRA, A. D. S.; BURITI, F. C. A.; NASCIMENTO, J. C. F.; MELO, M. E. S.; BRUNO, L. M.; BORGES, M. F.; ROCHA, C. R. C.; LOPES, A. C. S.; FRANCO, B. D. G. M.; TODOROV, S. D. Artisanal Coalho cheeses as source of beneficial *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* strains. **Dairy Science & Technology**, Paris, v. 95, n. 2, p. 209-230, 2015. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s13594-014-0201-6. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13594-014-0201-6. Acesso em: 23 abr. 2020.

SANTOS, W. M.; GOMES, A. C. G.; NOBRE, M. S. C. N.; PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, E. R. F.; DOS SANTOS, K. M. O.; FLORENTINO, E. R.; BURITI, F. C. A. Goat milk as a natural source of bioactive compounds and strategies to enhance the amount of these beneficial components **International Journal of Dairy Technology**, Hoboken, v. 137, p. 105515, fev. 2023. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694622001996?via%3Dihub. Acesso em: 26 jan. 2023.

SANTOS, W. M.; NOBRE, M. S. C.; CAVALCANTI, M. T.; DOS SANTOS, K. M. O.; SALLES, H. O.; BURITI, F. C. A. Proteolysis of reconstituted goat whey fermented by *Streptococcus thermophilus* in co-culture with commercial probiotic *Lactobacillus* strains. **International Journal of Dairy Technology**, Hoboken, v. 72, n. 4, p. 559-568, Nov. 2019. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/1471-0307.12621. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1471-0307.12621. Acesso em: 23 abr. 2020.

SEDDIK, H. A.; BENDALI, F.; GANCEL, F.; FLISS, I.; SPANO, G.; DRIDER, D. *Lactobacillus plantarum* and its probiotic and food potentialities. **Probiotics And Antimicrobial Proteins**, New York, v. 9, n. 2, p. 111-122, 7 mar. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s12602-017-9264-z. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-017-9264-z. Acesso em: 15 nov. 2022.

SLAčANAC, Vedran; BOžANIć, Rajka; HARDI, Jovica; SZABÓ, Judit Rezessyné; LUčAN, Mirela; KRSTANOVIć, Vinko. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. **International Journal of Dairy Technology**, Hoboken, v. 63, n. 2, p. 171-189, May 2010. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00575.x. Disponível em: https://bib.irb.hr/datoteka/451883.2010_Int_J_of_Dairy_Technol_KOZA.pdf. Acesso em: 13 abr. 2020.
VEDRAN SLAC˘ ANAC, 1 * RAJKA BOZ˘ ANIC´ , 2 JOVICA HARDI, 1 JUDIT REZESSYNE´ SZABO´ , 3 MIRELA LUC˘ AN1 and V INKO KRSTANOV IC´ 1 NOME DOS AUTORES KKK

SLAVIN, J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. **Nutrients**, Basel, v. 5, n. 4, p. 1417-1435, 2013. DOI: https://doi.org/10.3390/nu5041417. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3705355/. Acesso em: 29 jun. 2020.

SUISSA, R.; OVED, R.; MAAN, H.; HADAD, U.; MEIJLER, M. M.; KOREN, O.; KOLODKIN-GAL, I. Context-dependent differences in the functional responses of Lactobacillaceae strains to fermentable sugars. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 13, p. 01-13, 24 out. 2022. DOI: http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.949932. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.949932/full. Acesso em: 01 jan. 2023.

TIAN, H.; SHEN, Y.; YU, H.; HE, Y.; CHEN, C. Effects of 4 Probiotic Strains in Coculture with Traditional Starters on the Flavor Profile of Yogurt. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 82, n. 7, p. 1693-1701, 9 jun. 2017. DOI: http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.13779. Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.13779. Acesso em: 29 jan. 2023.

VERRUCK, S.; DANTAS, A.; PRUDENCIO, E. S. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 52, p. 243-257, Jan. 2019. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.11.017. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464618305930. Acesso em: 29 jun. 2020.

VILLANUEVA, N. D. M.; DA SILVA, M. A. A. P. Comparative performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. **Food Quality and Preference**, Oxford, v. 20, p. 1-12, Jan. 2009. DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.06.003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0950329308000803. Acesso em: 29 jun. 2020.

WANG, Y.; WU, J.; LV, M.; SHAO, Z.; HUNGWE, M.; WANG, J.; BAI, X.; XIE, J.; WANG, Y.; GENG, W. Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, Lausanne, v. 9, p. 1-19, 12 maio 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2021.612285/full. Acesso em: 02 dez. 2022.

WONG-VILLARREAL, A.; CORZO-GONZÁLEZ, H.; HERNÁNDEZ-NÚÑEZ, E.; CONZÁLEZ-SÁNCHEZ, A.; GIACOMÁN-VALLEJOS, G. Caracterización de bacterias ácido lácticas con actividad antimicrobiana aisladas del queso crema de Chiapas, México. **CienciaUAT**, Ciudad Victoria, v. 15, n. 2, p. 144-155, 2021. DOI: https://doi.org/10.29059/cienciauat.v15i2.1. Disponível em: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582021000100144. Acesso em: 20 dez. 2022.

XAVIER-SANTOS, D.; BEDANI, R.; LIMA, E. D.; SAAD, S. M. I. Impact of probiotics and prebiotics targeting metabolic syndrome. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 64, p. 1-17, Jan. 2020. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103666. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464619305900?via%3Dihub. Acesso em: 2 abr. 2020.

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E.; FRANZ, C. M. A. P.; HARRIS, H. M. B.; MATTARELLI, P.; O'TOOLE, P. W.; POT, B.; VANDAMME, P.; WALTER, J.; WATANABE, K.; WUYTS, S.; FELIS, G. E.; GANZLE, M. G.; LEBEER, S. A taxonomic note on the genus Lactobacillus: description of 23 novel genera, emended description of the genus lactobacillus beijerinck 1901, and union of lactobacillaceae and leuconostocaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Oxford, v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 1 abr. 2020. Microbiology Society. http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.004107. Disponível em: https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijsem.0.004107#R14. Acesso em: 7 out. 2021.

ZOLOTUKHIN, P. V.; PRAZDNOVA, E. V.; CHISTYAKOV, V. A. Methods to assess the antioxidative properties of probiotics. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, New York, v. 10, n. 3, p. 589-599, Sept. 2018. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/s12602-017-9375-6. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12602-017-9375-6. Acesso em: 23 abr. 2020.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE

ESTUDO: CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TECNOLÓGICO E BIOATIVO DE CULTURAS E SUBPRODUTOS PARA O SETOR LÁCTEO E OBTENÇÃO DE LEITE DE CABRA FERMENTADO FUNCIONAL

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido eu, _____, em pleno exercício dos meus direitos, abaixo assino (a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário (a) do estudo "**CARACTERIZAÇÃO DO POTENCIAL TECNOLÓGICO E BIOATIVO DE CULTURAS E SUBPRODUTOS PARA O SETOR LÁCTEO E OBTENÇÃO DE LEITE DE CABRA FERMENTADO FUNCIONAL**". Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente que:

I) O trabalho terá como objetivo geral

Estudar o potencial tecnológico e funcional de culturas, ingredientes e produtos de interesse para o setor lácteo

II) As amostras produzidas serão mantidas sob refrigeração antes dos testes e servidas em copos de plásticos codificados, as amostras avaliadas terão 7, 14 e 21 dias de armazenamento

III) Este estudo apresenta probabilidade de risco mínimo. Amostras fora dos parâmetros de qualidade microbiológica e físico-química não serão oferecidas na análise sensorial. Testes para a avaliação da qualidade das amostras serão realizados durante a investigação da estabilidade de três lotes do produto ao longo do armazenamento refrigerado de 21 dias.

IV) Aos voluntários será garantido o acesso aos resultados das análises referentes à qualidade microbiológica e físico-química dos produtos.

V) Os benefícios do presente projeto serão resultantes das contribuições científicas, tecnológicas, ambientais e sociais que estão sendo previstas. Dentre os quais, incluem: estímulo da diversificação dos produtos de leite de cabra e sua agregação de valor; fortalecimento da caprinocultura leiteira na região Nordeste do Brasil; possibilidade de identificação de

culturas nativas com potencial probiótico; melhoria do acesso aos produtores regionais a essas culturas; disponibilidade de um alimento com potencial probiótico e prebiótico; possibilidade de obtenção de um leite fermentado de cabra com atividade antioxidante; criação de oportunidades para o desenvolvimento regional no setor lácteo caprino e de agroindústria.

VI) Ao voluntário só caberá à participação da análise sensorial e preenchimento da ficha do teste de diferença e não haverá nenhum risco ou desconforto ao voluntário.

VII) O voluntário poderá se recusar a participar, ou retirar seu consentimento a qualquer momento da realização do trabalho ora proposto, não havendo qualquer penalização ou prejuízo para o mesmo;

VIII) Ao pesquisador caberá o desenvolvimento da pesquisa de forma confidencial; entretanto, quando necessário for, poderá revelar os resultados ao médico, indivíduo e/ou familiares, cumprindo as exigências da Resolução Nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

IX) Será garantido o sigilo e a privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa;

X) Os resultados serão mantidos em sigilo, exceto para fins de divulgação científica;

Atestado de interesse pelo conhecimento dos resultados da pesquisa.
( ) Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
( ) Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

XI) Esse documento será impresso em duas vias uma via ficando em posse do participante voluntário;

XII) Não haverá qualquer despesa ou ônus financeiro aos participantes voluntários da pesquisa.

XIII) Não haverá qualquer procedimento que possa incorrer em danos físicos ou financeiros ao voluntário e, portanto, não haveria necessidade de indenização por parte da equipe científica e/ou da Instituição responsável. Desta forma, garante-se que todos os encargos financeiros, se houverem, ficarão sob responsabilidade do pesquisador (Res. 466/12 IV 3.g e h).

XIV) Em caso de dúvidas, você poderá obter maiores informações entrando em contato com Flávia Carolina Alonso Buriti, através do(s) telefone(s) (83) 9

8797 0427, ou através do endereço: Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, CEP: 58429-500, Tel: 3315-3360.

XV) Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa, localizado no 2º andar, Prédio Administrativo da Reitoria da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB e da CONEP (quando pertinente).

XVI) Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o teor do mesmo, dato e assino este termo de consentimento livre e esclarecido.

Responsável pelo Projeto: Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti

Prof.ª Dr.ª Flávia Carolina Alonso Buriti. Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, situado a Rua Baraúnas, 351, Bairro Universitário, CEP: 58429-500, Tel: 3315-3360

Campina Grande - PB, _____ de _____de_____.

_____

Assinatura do Participante

APÊNDICE B – Instrumento de coleta de dados

PARTICIPANTE Nº: _____ Data: __/__/____
Sexo: Masculino ( ) Feminino ( ) Idade: _____

Produto: Leite de cabra fermentado- Código:

Prove a amostra e marque com um **X** nas escalas abaixo a sua nota para cada característica (sabor, consistência, aparência, cor e aceitação global).

APARÊNCIA:

0 Desgostei | 5 Não gostei Nem desgostei | 10 Gostei muitíssimo

COR:

0 Desgostei | 5 Não gostei Nem desgostei | 10 Gostei muitíssimo

ODOR:

0 Desgostei | 5 Não gostei Nem desgostei | 10 Gostei muitíssimo

SABOR:

0 Desgostei | 5 Não gostei Nem desgostei | 10 Gostei muitíssimo

CONCISTÊNCIA:

0 Desgostei | 5 Não gostei Nem desgostei | 10 Gostei muitíssimo

ACEITAÇÃO GLOBAL:

0	5	10
Desgostei	Não gostei Nem desgostei	Gostei muitíssimo

ESPALHABILIDADE:

0	5	10
Desgostei	Não gostei Nem desgostei	Gostei muitíssimo

FREQUÊNCIA QUE CONSOME LEITE FERMENTADO:

0	5	10
Desgostei	Não gostei Nem desgostei	Gostei muitíssimo

VOCÊ COMPRARIA ESSE PRODUTO:

0	5	10
Desgostei	Não gostei Nem desgostei	Gostei muitíssimo

Cite a característica que você **mais** gostou na amostra. Comente.

_____
_____
_____

Cite a característica que você **menos** gostou na amostra. Comente.

_____
_____
_____

APÊNDICE C – Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no leite cru, no leite cru adicionado das culturas láticas antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C

Tratamento	Período de amostragem	Microrganismos	Total de amostragens para todos os lotes (n total)	Medições acima da legislação para o produto (n acima)	Proporção (n acima × 100)/(n total)
leite cru	Tempo 0	*E. coli*	6	6	100,0
leite cru	Tempo 0	*Staphylococcus* spp.	6	6	100,0
leite cru	Tempo 0	*Salmonella* spp.	6	6	100,0
leite cru	Tempo 0	Bolores e leveduras	6	6	100,0
St	Tempo 0	*E. coli*	6	6	100,0
St	Tempo 0	*Staphylococcus* spp.	6	6	100,0
St	Tempo 0	*Salmonella* spp.	6	2	33,33
St	Tempo 0	Bolores e leveduras	6	6	100,0
St-Lp	Tempo 0	*E. coli*	6	6	100,0
St-Lp	Tempo 0	*Staphylococcus* spp.	6	6	100,0
St-Lp	Tempo 0	*Salmonella* spp.	6	2	33,33
St-Lp	Tempo 0	Bolores e leveduras	6	6	100,0
leite cru	Após 16 h	*E. coli*	2	2	100,0
leite cru	Após 16 h	*Staphylococcus* spp.	2	2	100,0
leite cru	Após 16 h	*Salmonella* spp.	2	2	100,0
leite cru	Após 16 h	Bolores e leveduras	2	2	100,0
St	Após 16 h	*E. coli*	6	2	33,33
St	Após 16 h	*Staphylococcus* spp.	6	6	100,0
St	Após 16 h	*Salmonella* spp.	6	2	33,33
St	Após 16 h	Bolores e leveduras	6	6	100,0
St-Lp	Após 16 h	*E. coli*	6	0	0
St-Lp	Após 16 h	*Staphylococcus* spp.	6	2	33,33
St-Lp	Após 16 h	*Salmonella* spp.	6	0	0
St-Lp	Após 16 h	Bolores e leveduras	6	6	100,0
leite cru	dia 14	*E. coli*	2	2	100,0
leite cru	dia 14	*Staphylococcus* spp.	2	2	100,0
leite cru	dia 14	*Salmonella* spp.	2	2	100,0
leite cru	dia 14	Bolores e leveduras	2	2	100,0
St	dia 14	*E. coli*	6	0	0,0
St	dia 14	*Staphylococcus* spp.	6	6	100,0
St	dia 14	*Salmonella* spp.	6	2	33,33
St	dia 14	Bolores e leveduras	6	6	100,0
St-Lp	dia 14	*E. coli*	6	0	0
St-Lp	dia 14	*Staphylococcus* spp.	6	0	0
St-Lp	dia 14	*Salmonella* spp.	6	0	0
St-Lp	dia 14	Bolores e leveduras	6	6	100,
leite cru	dia 28	*E. coli*	2	2	100,0
leite cru	dia 28	*Staphylococcus* spp.	2	2	100,0
leite cru	dia 28	*Salmonella* spp.	2	2	100,0
leite cru	dia 28	Bolores e leveduras	2	2	100,0
St	dia 28	*E. coli*	6	0	0
St	dia 28	*Staphylococcus* spp.	6	4	66,67
St	dia 28	*Salmonella* spp.	6	0	0
St	dia 28	Bolores e leveduras	6	6	100,0
St-Lp	dia 28	*E. coli*	6	0	0
St-Lp	dia 28	*Staphylococcus* spp.	6	0	0
St-Lp	dia 28	*Salmonella* spp.	6	0	0
St-Lp	dia 28	Bolores e leveduras	6	4	66,67

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.

APÊNDICE D – Populações de contaminantes microbianos coliformes totais, *E. coli, S. aureus* e *Salmonella* spp. detectados no produto lácteo fermentado antes da fermentação (tempo 0), após a fermentação (16 h) e durante o armazenamento (14 e 28 dias) a 4 ± 1°C

Período de amostragem	Microrganismos	Total de amostragens para todos os lotes (n total)	Medições acima da legislação para o produto (n acima)	Proporção (n acima × 100) / (n total)
Tempo 0	*E. coli*	6	0	0
Tempo 0	*Staphylococcus* spp.	6	3	0
Tempo 0	*Salmonella* spp.	6	0	0
Tempo 0	Bolores e leveduras	6	0	0
Após 16h	*E. coli*	6	0	0
Após 16h	*Staphylococcus* spp.	6	0	0
Após 16h	*Salmonella* spp.	6	0	0
Após 16h	Bolores e leveduras	6	0	0
Dia 14	*E. coli*	6	0	0
Dia 14	*Staphylococcus* spp.	6	0	0
Dia 14	*Salmonella* spp.	6	0	0
Dia 14	Bolores e leveduras	6	0	0
Dia 28	*E. coli*	6	0	0
Dia 28	*Staphylococcus* spp.	6	0	0
Dia 28	*Salmonella* spp.	6	0	0
Dia 28	Bolores e leveduras	6	0	0

Fonte: Elaborado pelo autor, 2023.