



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

VIVIANE MARIA DA SILVA QUIRINO

**VIABILIDADE DE COAGULAÇÃO DE LEITE DE CABRA COM PROTEASE
VEGETAL PARA A ELABORAÇÃO DE QUEIJO COM POTENCIAL PROBIÓTICO
E ANTIOXIDANTE**

CAMPINA GRANDE

2021

VIVIANE MARIA DA SILVA QUIRINO

**VIABILIDADE DE COAGULAÇÃO DE LEITE DE CABRA COM PROTEASE
VEGETAL PARA A ELABORAÇÃO DE QUEIJO COM POTENCIAL PROBIÓTICO
E ANTIOXIDANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Bromatologia

Orientadora:

Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriti

CAMPINA GRANDE

2021

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.

Q8v Quirino, Viviane Maria da Silva.

Viabilidade de coagulação de leite de cabra com protease vegetal para a elaboração de queijo com potencial probiótico e antioxidante [manuscrito] / Viviane Maria da Silva Quirino. - 2021.

40 p.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2021.

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

1. Alimento funcional. 2. Antioxidantes. 3. Probióticos. 4. Queijo de cabra. I. Título

21. ed. CDD 630

VIVIANE MARIA DA SILVA QUIRINO

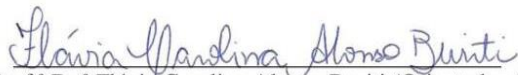
VIABILIDADE DE COAGULAÇÃO DE LEITE DE CABRA COM PROTEASE
VEGETAL PARA A ELABORAÇÃO DE QUEIJO COM POTENCIAL PROBIÓTICO E
ANTIOXIDANTE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual da Paraíba como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

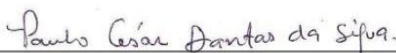
Área de concentração: Bromatologia

Aprovada em: 8/10/2021.

BANCA EXAMINADORA



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



Prof. Dr. Paulo César Dantas da Silva (Examinador 1)
DF/CCBS
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.^a Dr.^a Deysiane Oliveira Brandão (Examinador 2)
DF/CCBS
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

À minha família, pela dedicação,
companheirismo e amizade, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a vida e a força até o presente momento.

À minha família, que sempre me incentivou na busca pelo conhecimento, por terem dado todo suporte, conselhos, apoios e pelas influências positivas na minha vida. Em especial aos meus pais, Valdirene (*in memoriam*) e Jorge, e a minha tia Laílca.

Aos meus amigos Alícia, Ana Luísa, Anna Júlia, Bianca, Dayverson Luan, Helenilda e Raísa Laura por todo apoio emocional durante essa longa jornada, por me ajudarem nos momentos difíceis e por vibrarem por minhas conquistas junto comigo.

Aos colegas de curso por essa trajetória difícil, mas muito linda.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriti pela orientação, confiança, ensinamentos, paciência, apoio e incentivos ao longo das orientações deste trabalho e do programa de iniciação científica.

À banca examinadora, Prof. Dr. Paulo César Dantas da Silva e Prof.^a Dr.^a Deysiane Oliveira Brandão, pela disponibilidade e contribuições para a melhoria deste trabalho.

A todos os docentes e ao departamento de farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, pelos conhecimentos fornecidos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Parque Tecnológico da Paraíba (PaqTcPB), à Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo financiamento ao projeto. Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) pela oportunidade de pesquisa e bolsa.

Ao Dr. Antônio Silvío do Egito do Núcleo Regional Nordeste da Embrapa Caprinos e Ovinos por colaborar com o projeto para a obtenção do coagulante vegetal. À Dr.^a Karina Maria Olbrich dos Santos, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela investigação do potencial probiótico e disponibilização da cepa *L. mucosae* CNPC 007. Ao mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da UEPB Dôrian Lima Cordeiro Júnior pela parceria no projeto na elaboração e análise dos queijos.

À toda a equipe do Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), pelas atenções e acompanhamentos.

À Universidade Estadual da Paraíba e aos seus Laboratórios, pela disponibilização dos materiais e equipamentos na realização das aprendizagens teóricas e análises experimentais.

RESUMO

Alimentos funcionais, além de proporcionarem nutrição básica, resultam em benefícios à saúde. O desenvolvimento de novos produtos lácteos é uma extensa e complexa cadeia de valor do agronegócio brasileiro. Dentre os nichos de novos produtos que apresentam sucesso com a adição de compostos bioativos, como o exemplo de compostos antioxidantes e cepas de bactérias lácticas está o queijo caprino, que tem sido mais valorizado por ser um produto lácteo que possui um bom potencial para carrear microrganismos probióticos ao intestino humano. Este trabalho objetivou avaliar a atividade coagulante do extrato aquoso de sementes de girassol (*Helianthus annuus*), a produção de queijos com a utilização do extrato e adição de cepa nativa com potencial probiótico *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007 da coleção de bactérias lácticas da EMBRAPA, assim como, determinar a composição e o potencial antioxidante dos queijos produzidos. Com base nos ensaios de produção do extrato e de seu uso para a coagulação do leite, foi escolhida a proporção de semente de 120 g/150 mL de solução salina para a fabricação do coagulante vegetal empregado na fabricação dos queijos na proporção de 40 mL/L, na ausência (T1) e presença (T2) de *L. mucosae*. Os queijos T1 e T2, analisados no primeiro dia de estocagem, apresentaram, respectivamente, rendimento de 1,02 e 0,948 kg/10 L de leite, pH de 6,06 e 6,19, acidez titulável de 0,545 e 0,746 g de ácido láctico/100 mL, umidade de 45,71% e 45,89%, gordura na amostra úmida de 25,02% e 29,56% e gordura no extrato seco (GES) de 46,01% e 54,63%, sendo classificados como de média umidade ou de massa semidura e gordo. A viabilidade de *L. mucosae* no queijo T2 foi de 8,75 log UFC/g, sendo superior à população probiótica de 6 a 7 log UFC/100 g, normalmente recomendada para se obter efeito benéfico. O sequestro de radicais DPPH em porcentagem observado para T1 e T2 foi maior para o volume de 0,2 mL de extrato de queijo, alcançando 33,44% ($\pm 5,60$) e 13,92% ($\pm 4,09$), respectivamente. O queijo T1 apresentou maior sequestro de radicais DPPH; porém, o teor de fenólicos totais para T1 (106,37 \pm 9,99 mg EAG/100 g) foi menor que em T2 (235,21 \pm 27,30 mg EAG/100 g). O queijo controle apresentou metade do EC50 observado para o queijo com *L. mucosae* (5,04 \pm 0,59 e 12,41 \pm 4,54 g de queijo/L de solução de DPPH). O resultado de capacidade antioxidante total para o queijo controle também foi melhor (apenas 267,77 \pm 32,01 g de amostra para a captura de 1 g de DPPH), sendo metade do requerido para o queijo probiótico (508,80 \pm 189,55 g queijo para a captura de 1g de DPPH).

Palavras-Chave: Alimento funcional. Antioxidantes. Probióticos. Queijo de cabra.

ABSTRACT

Functional foods, besides to provide basic nutrition, they result in additional benefits to health. The development of new dairy products is an extensive and complex Brazilian agribusiness value chain. Among the niches of new products that are successful with the addition of bioactive compounds, such as antioxidant compounds and lactic acid bacteria strains, is goat cheese, which has been increasingly valued for being a dairy product that has good potential for carry probiotic microorganisms in the human gut. This study aimed to evaluate the clotting activity of the sunflower seeds (*Helianthus annuus*) aqueous extract, the production of cheese using this extract and the addition of the *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007 autochthonous strain with probiotic potential, belonging to the lactic acid bacteria collection of EMBRAPA, and to determine the composition and antioxidant potential of the produced cheeses. Based on the extract production tests and its use for the milk clotting, the seed proportion of 120 g/150 mL saline solution was chosen for the manufacture of the plant rennet used for cheesemaking in the proportion of 40 mL/L milk, in the absence (T1) and presence (T2) of *L. mucosae*. T1 and T2 cheeses were analysed on the first day of storage, showing, respectively, yield of 1.02 and 0.948 kg/10 L milk, pH of 6.06 and 6.19, titratable acidity of 0.545 and 0.746 g lactic acid/100 mL, moisture of 45.71% and 45.89%, fat in the wet sample of 25.02% and 29.56% and fat in the dry extract (GES) of 46.01% and 54.63%, being classified as medium moisture or semi-hard and full fat. The viability of *L. mucosae* in T2 cheeses was 8.75 log CFU/g, with a probiotic population greater than 6 to 7 log CFU/100 g in the product, which is normally recommended to obtain a beneficial effect. The percentage of DPPH sequestration observed for T1 and T2 were higher for the volume of 0.2 mL of cheese extract used, reaching 33.44% (± 5.60) and 13.92% (± 4.09), respectively. Although T1 cheese had higher DPPH radical scavenging, the total phenolic content for T1 (106.37 \pm 9.99 mg EAG/100 g) was lower than for T2 (235.21 \pm 27.30 mg EAG/100 g). Furthermore, the control cheese had an EC50 of 5.04 \pm 0.59 g of cheese/L of DPPH solution, half of what was observed for cheese with *L. mucosae*, with an EC50 of 12.41 \pm 4.54 g of cheese/ L of DPPH solution. For the total antioxidant capacity, the results obtained for the control cheese were also better, requiring only 267.77 \pm 32.01 g of sample to capture 1 g of DPPH, half the value required for the probiotic cheese, with 508, 80 \pm 189.55 g cheese to capture 1g of DPPH.

Keywords: Functional food. Antioxidants. Probiotics. Goat cheese.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Delineamento dos testes pilotos de avaliação das condições de coagulação do leite.....	22
Tabela 2 – Coagulação do leite obtida nos testes piloto.....	26
Tabela 3 – Rendimento e aspectos físico-químicos dos queijos (dia 1).....	27
Tabela 4 – Análise da viabilidade da bactéria láctica <i>Limosilactobacillus mucosae</i> CNPC 007.....	29
Tabela 5 – Porcentagens de sequestro de DPPH obtidas para as amostras de queijo controle e queijo probiótico durante o armazenamento (dia 1) (média ± desvio padrão).....	30
Tabela 6 – Concentração de fenólicos totais e parâmetros de atividade antioxidante do queijo controle e queijo probiótico durante o armazenamento (dia 1) (média ± desvio padrão).....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS_A	Absorbância com o extrato da amostra
ABS_c	Absorbância do controle
ACC	Semente a granel com casca
ASC	Semente a granel sem casca
BAL	Bactérias lácticas
PIBIC	Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
CC	Coagulante Comercial
CCT	Centro de Ciências e Tecnologia
CCBS	Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CV	Coagulante vegetal
DOP	Denominação de Origem Protegida
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
ECC	Embalada com casca
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAPESQ	Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba
GES	Matéria gorda no extrato seco
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NUPEA	Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
TSC	Semente trituradas sem casca (a granel)
T1	Queijo Controle
T2	Queijo Probiótico - contendo <i>L. mucosae</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral.....	13
2.2	Objetivos específicos	13
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
3.1	Caprinocultura leiteira.....	14
3.2	Leite de cabra.....	15
3.3	Queijo artesanal.....	15
3.4	Queijo como veículo de microrganismos probióticos.....	17
3.5	Extrato de semente de girassol (<i>Helianthus annuus</i>).....	18
3.5.1	<i>Girassol</i>	18
3.5.2	<i>Coagulante vegetal</i>	19
4	METODOLOGIA	21
4.1	Local da pesquisa.....	21
4.2	Matérias-primas.....	21
4.3	Obtenção do extrato vegetal de <i>H. annuus</i>	21
4.4	Ensaio piloto de avaliação das condições de coagulação do leite.....	21
4.5	Elaboração do queijo.....	22
4.6	Avaliação do rendimento do processo.....	23
4.7	Armazenamento (dia 1) e períodos de amostragem.....	23
4.8	Avaliação do pH.....	23
4.9	Avaliação da acidez titulável.....	23
4.10	Análise da viabilidade da bactéria láctica.....	24
4.11	Obtenção dos extratos fenólicos das amostras.....	24
4.12	Análise de fenólicos totais.....	24
4.13	Determinação da capacidade antioxidante.....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
5.1	Ensaio de coagulação.....	26
5.2	Avaliação do rendimento e aspectos físico-químicos dos queijos.....	27
5.3	Análise da viabilidade da bactéria láctica.....	29
5.4	Análise de fenólicos totais e capacidade antioxidante.....	30

6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

Alimentos funcionais são caracterizados como qualquer substância ou ingrediente de um alimento que desempenhem, além das suas funções nutricionais básicas quando consumidos como parte da dieta usual, efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou benefícios à saúde, através da diminuição dos riscos de algumas doenças crônicas. Podem incluir: fibras alimentares, oligossacarídeos, proteínas modificadas, peptídeos, carboidratos, antioxidantes, minerais e outras substâncias naturais e microrganismos (HENRIQUE et al., 2018; VIDAL et al., 2012).

O uso desses alimentos como veículo de promoção do bem-estar e saúde, tem incentivado as pesquisas de novos componentes naturais e o desenvolvimento de novos ingredientes, possibilitando a inovação em produtos alimentícios. Especificamente na área de laticínios, a produção de derivados como iogurtes, bebidas lácteas, leites fermentados e queijos, vem se destacando. Além de terem uma boa aceitação do público, são veículos em potencial para produtos probióticos (DAMACENO, 2018; SANTOS, 2021).

O termo probiótico é usado apenas em produtos que entregam microrganismos vivos com uma contagem viável adequada, conferindo benefícios e bem-estar à saúde do hospedeiro (HILL et al., 2014). Os microrganismos mais frequentemente utilizados como probióticos pertencem ao grupo das bactérias ácido lácticas, destacando-se, entre elas, o gênero *Lactobacillus* spp, e seus gêneros derivados após reclassificação (ZHENG et al., 2020), sendo de particular interesse por seu longo histórico de utilização em alimentos fermentados e queijos (SILVA, 2011).

O leite de cabra possui alto valor nutritivo e qualidade dietética, além de uma composição química constituída de proteínas de alto valor biológico, ácidos graxos essenciais, açúcares, vitaminas e sais minerais. A produção de queijo de leite de cabra no nordeste brasileiro é uma forma rentável de utilização do leite caprino, sendo o queijo de coalho um alimento típico produzido em vários estados daquela região. É um produto de grande valor comercial, devido, principalmente à simplicidade da tecnologia de fabricação e ao elevado rendimento do processo (SANTOS et al., 2011; QUEIROGA et al., 2013; SILVA et al., 2012).

É um produto lácteo que tem um bom potencial para carrear microrganismos probióticos ao intestino humano, devido às suas características físicas e químicas, em comparação com leites fermentados (maior valor de pH e menor acidez titulável, maior teor de gordura, maior disponibilidade de nutrientes, menor teor de oxigênio e textura da matriz mais densa) (FERNANDES GARCIA, 2011; KARIMI; MORTAZAVIAN; CRUZ, 2011).

O queijo caprino por possuir odor e sabor característico faz com que seu consumo seja baixo, portanto é interessante a utilização de condimentos como uma alternativa para melhorar a aceitação do produto, principalmente para aqueles que não estão acostumados com os derivados do leite de cabra. A condimentação do queijo, assim como a maturação e defumação é uma diferenciação do produto contribuindo com a melhoria das características sensoriais (como sabor, aroma e cor), além da adição de propriedades específicas dos condimentos, agregando maior valor nutricional e ação antimicrobiana (ALENCAR, 2016).

A coagulação de leite é a clivagem ou desnaturação das proteínas que resulta na separação de uma fase sólida (coágulo ou coalhada) e uma fase líquida (soro). Esse processo pode ser promovido pela acidificação do meio ou pela ação de proteases com atividade caseinolítica, tais como tripsina e quimosina. Vários estudos têm avaliado preparações contendo proteases obtidas de diversos tecidos de plantas como potenciais agentes coagulantes a serem utilizados na manufatura de queijos (AHMED et al., 2009; CARVALHO, 2013).

Apesar de apresentarem-se como alternativa viável na fabricação de queijos com sabores diferenciados, proteases coagulantes de origem vegetal têm sido pouco utilizadas industrialmente (PEREIRA et al., 2010). Estudos realizados por pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos e colaborador do presente grupo de pesquisa, utilizando extratos de sementes de girassol (*Helianthus annuus*), mostraram que através de testes bioquímicos estes extratos hidrolisam a κ caseína, apresentando potencial para fabricação de queijos (EGITO et al., 2007).

Em sua composição, o girassol apresenta em torno de água, de proteína, de óleos, de carboidratos e de resíduo mineral. As sementes são uma boa fonte de antioxidantes devido aos compostos presentes, como: flavonoides, ácidos fenólicos, oligoelementos e vitaminas. Portanto, esta espécie vegetal, além de fonte de proteases, poderá vir a contribuir com o potencial antioxidante do queijo, seja pelo fornecimento de compostos fenólicos vegetais a esse alimento ou pela liberação de peptídeos bioativos no processo de hidrólise das proteínas lácticas (GUO et al., 2017; PASKO et al., 2009).

Nesse aspecto, a fabricação de queijos de leite de cabra com coagulantes vegetais, em especial, com sementes de girassol pode ser realizada, visto que é uma alternativa viável. Sendo uma tecnologia promissora, principalmente em escala artesanal, onde o agricultor poderia cultivar as sementes e preparar seu próprio coalho. E assim, garantir um alimento funcional com diversas propriedades (PEREIRA et al., 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a atividade coagulante do extrato aquoso de sementes de girassol (*Helianthus annuus*) e a produção de queijos com a utilização do extrato e adição de cepa nativa com potencial probiótico *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007 pertencente à coleção de bactérias lácticas da EMBRAPA, assim como, determinar o potencial antioxidante para o primeiro dia de armazenamento de queijos produzidos.

2.2 Objetivos específicos

Foram objetivos específicos do presente trabalho:

- a) obtenção do coagulante vegetal;
- b) avaliar o desempenho do coagulante vegetal em leite de cabra;
- c) avaliar o rendimento do queijo resultante;
- d) verificar as características físico-químicas e microbiológicas do queijo obtido;
- e) determinar o teor de compostos fenólicos totais dos queijos obtidos;
- f) determinar a capacidade antioxidante total dos queijos através do sequestro de radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH);
- g) avaliar a influência do primeiro dia de armazenamento sobre a concentração de fenólicos totais e a capacidade antioxidante dos queijos;
- h) verificar a influência de uma cultura nativa potencialmente probiótica de *Limosilactobacillus mucosae* sobre os parâmetros de atividade antioxidante dos queijos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Caprinocultura leiteira

A criação de cabras leiteiras está ligada ao sustento de pequenos produtores rurais. Entretanto, o leite produzido em países em desenvolvimento, em sua maior parte, é utilizado para consumo próximo aos locais de produção, não sendo os países com maiores rebanhos os que mais se destacam na indústria e comércio de laticínios de cabra (SILVA, 2014).

O mercado de leite de cabra no Brasil apresentou um crescimento significativo nos últimos anos, devido à demanda dos consumidores dos grandes centros urbanos e das compras governamentais, especialmente na região Nordeste. Nesse contexto, surgem novas exigências relacionadas à qualidade e à necessidade de se produzir alimentos sem riscos à saúde do consumidor (SOUZA; BENEVIDE; 2014).

Segundo o Ministério da Agricultura, Abastecimento e Defesa Agropecuária (2000) há a Instrução Normativa nº 37 que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra, objetivando a necessidade de instituir medidas que normatizam a industrialização de produtos de origem animal, garantindo condições aos produtores e assegurar a qualidade na produção, processamento e comercialização.

A região Nordeste, onde se concentra a principal bacia de leite de cabra do país, têm sua produção destinada basicamente para comercialização do leite in natura. Dentre as várias alternativas de geração de renda para a agricultura familiar nesta região, a caprinocultura leiteira configura-se como um grande trunfo, principalmente face às características ambientais, sociais e culturais das famílias rurais da região (SILVA et al., 2009; SOUZA; BENEVIDE; 2014).

Cardoso et al., (2010), consideram que para o amplo desenvolvimento da caprinocultura leiteira na região, se faz necessária a inserção, aos sistemas de produção, de inovações tecnológicas, pois os produtores rurais preocupam-se em viabilizar economicamente sua atividade através do aumento de eficiência na produção e comercialização do leite e seus derivados.

3.2 Leite de cabra

O leite de cabra é utilizado para o consumo doméstico em todo o mundo e para a fabricação de diferentes produtos. A caprinocultura tem crescido, principalmente devido ao elevado valor nutritivo do leite proveniente das cabras, que apresenta propriedades nutricionais e terapêuticas que o tornam superior ao leite bovino (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010).

O leite de cabra apresenta melhor digestibilidade, alcalinidade, teor de proteínas de alto valor nutritivo, hipoalergenicidade, entre outros, que são motivos de consumo por grupos especiais como alérgicos ao leite de vaca, idosos e crianças. Outro fator marcante está relacionado às características sensoriais, especialmente o sabor e aroma típicos, que são responsáveis pela aceitação ou rejeição dos produtos por parte dos consumidores (RIBEIRO; RIBEIRO, 2010; SILVA, 2015).

Os derivados do leite de cabra são produtos de elevado valor agregado e características de sabor e aroma particulares, essas características têm influência importante nas propriedades tecnológicas na fabricação de leites fermentados e queijos (CENACHI et al., 2011; RODRIGUEZ et al., 2008, VARGAS et al., 2008).

O leite de cabra apresenta um sabor típico, proporcionado parcialmente pela presença de ácidos graxos de cadeia curta (capróico, caprílico e cáprico). As propriedades sensoriais relativas ao sabor e odor do leite de cabra dificultam a aceitação deste produto e de seus derivados. Com tal reputação fica difícil persuadir alguém a provar o leite caprino e desenvolver novos produtos derivados dele (CENACHI et al., 2011; RIBEIRO; RIBEIRO, 2010).

Como um produto com pouca ou nenhuma memória gustativa nos brasileiros e com características sensoriais únicas e marcantes, o leite de cabra necessita ser muito bem preparado e apresentado com clara e indubitável qualidade global para conquistar novos consumidores e ampliar suas possibilidades de mercado. As propriedades nutricionais e funcionais do leite de cabra justificam sua singularidade e demonstram que o leite caprino e seus produtos representam um nicho promissor para diversificar e inovar a indústria láctea (BOMFIM et al., 2013; CENACHI et al., 2011).

3.3 Queijo artesanal

O queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas A e B. É um dos alimentos mais nutritivos que se

conhece, possui uma ampla gama de sabores, texturas, formas e variedades. O consumo de queijo constitui um hábito quase universal (SANTOS et al., 2010).

O Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária classifica os queijos de acordo com os requisitos matéria gorda no extrato seco e conteúdo de umidade e define queijo como:

[...] o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. (BRASIL, 1996).

Quanto ao teor de umidade, as classificações são: queijo de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura): umidade de até 35,9%; de média umidade (massa semidura): umidade entre 36,0 e 45,9%; de alta umidade (geralmente conhecido como de massa branda ou "macios"): umidade entre 46,0 e 54,9%; de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole"): umidade não inferior a 55,0%. De acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, classificam-se em: extra gordo ou duplo creme: quando contenham o mínimo de 60%; gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9%; semi gordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9%; magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9%; desnatados: quando contenham menos de 10,0% (BRASIL, 1996).

As técnicas de produção queijeira podem ser classificadas em dois grandes grupos: a coagulação ácida que dá origem a produtos frescos prontos a consumir; e a coagulação enzimática, utilizada no processo de fabrico da maioria dos queijos, aproximadamente 75%, que implica um período de cura que pode variar entre três semanas a dois anos (DIAS, 2012). A maturação é uma etapa em que o queijo é mantido sob determinadas condições de temperatura e umidade relativa controladas, quando ocorrem numerosas modificações microbiológicas, bioquímicas, físicas e químicas. A consistência tem sido a característica sensorial mais utilizada na classificação dos queijos, variando de acordo com o teor de umidade do alimento (FRUTUOSO, 2014; NETTO, 2011).

A produção artesanal de queijos, na sua amplitude, é considerada, como uma estratégia de reprodução social e econômica sob a responsabilidade dos agricultores e familiares. O queijo de leite de cabra é um tipo de queijo muito raro e nutritivo, de textura

macia e de cor branca, palatável ao paladar e enriquecido com vitaminas (MENEZES, 2011; NIEDERLE; WESZ, 2018).

3.4 Queijo como veículo de microrganismos probióticos

As culturas probióticas têm sido utilizadas no desenvolvimento de produtos funcionais, nos quais os microrganismos probióticos atuam como agentes tecnológicos, melhorando as características do produto tradicional, tal como a redução da pós-acidificação, e como agentes terapêuticos, promovendo efeitos benéficos nos indivíduos que os ingerem. Para isso, o microrganismo utilizado deve apresentar comprovação dos efeitos benéficos e se apresentar em concentração suficiente para sua atuação durante toda a vida de prateleira do produto (EL-GARHI et al., 2018; FUJII, 2016; PAULA, 2019).

Dentre os probióticos, as culturas mais comumente utilizadas são constituídas por microrganismos produtores de ácido lático, em particular lactobacilos e bifidobactérias, que são adicionados a produtos lácteos ou comercializados na forma liofilizada (KOWALESKI, 2018). Os lactobacilos constituem um importante grupo de bactérias, conhecidas, estando amplamente difundidas na natureza. Muitas espécies têm aplicações na indústria de alimentos sendo utilizadas como culturas iniciadoras em leites fermentados, queijos, soro de leite, entre outros (OLIVEIRA, 2013). Várias espécies que eram incluídas dentro do gênero *Lactobacillus* spp. foram reclassificadas como novos gêneros, a exemplo da espécie *Lactobacillus mucosae*, reclassificada como *Limosilactobacillus mucosae* (ZHENG et al., 2020).

Bactérias lácticas (BAL) são um grupo de microrganismos gram-positivos, catalase negativos, não formadores de esporos e que geralmente crescem sob condições microaerófilas ou estritamente anaeróbicas. Os gêneros de BAL mais comumente encontrados em queijos são: *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus* (SANTOS, 2017; SOUZA, 2016).

A família *Lactobacillaceae* pode ser dividida em três grupos baseados no produto final da fermentação. Dentre estes grupos, estão os mesofílicos heterofermentativos facultativos, que utilizam outras fontes de carbono além de hexoses (SOUZA, 2016), sendo capazes de produzir ácidos orgânicos, CO₂, álcool e H₂O₂. Este grupo inclui *Lacticaseibacillus casei* (anteriormente *Lactobacillus casei*), *Lacticaseibacillus paracasei* (anteriormente *Lactobacillus paracasei*) e *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*) que não são comumente encontrados no fermento láctico, mas estão associados à

fermentação secundária, benéfica durante a cura do queijo (PEREZ; MENEZES; ACÂMPORA, 2014; SANTOS, 2017; ZHENG et al., 2020).

Segundo de Moraes et al. (2017), as cepas de *L. mucosae* exibem características relacionadas às propriedades de adesão intestinal, tolerância aos sais biliares e capacidade de sobreviver em condições gastrointestinais simuladas. A espécie *L. mucosae* CNPC 007, em particular, apresentou uma taxa de sobrevivência notavelmente elevada em condições gástricas. Além dos benefícios para saúde dos comensais, bactérias lácticas podem acidificar, conferir aroma, sabor, textura e ainda auxiliar na bioconservação dos alimentos.

Dessa forma, as características das bactérias lácticas contribuem tanto para o desenvolvimento de características sensoriais, tecnológicas e funcionais, resistência aos processos de conservação e armazenamento do queijo como com sua segurança microbiológica, impedindo o desenvolvimento de bactérias patogênicas (FREITAS et al., 2013). Além destas propriedades atribuídas à microbiota autóctone de queijos, BAL podem ainda apresentar muitos benefícios à saúde (BURITI; SAAD, 2007; LEE; SALMINEN, 2009).

3.5 Extrato de semente de girassol (*Helianthus annuus*)

3.5.1 Girassol

Seu nome científico é *Helianthus annuus* - o que explica sua imponência e porte majestoso: a palavra *Helianthus* significa "flor do sol". Além de bonita, a planta é utilíssima, pois do girassol tudo é aproveitado - desde as sementes até as flores e os ramos (MARQUES et al., 2004).

É uma planta oleaginosa originária da América do Norte, cultivada em várias partes do mundo, que contém um dos óleos vegetais de melhor qualidade nutricional e sensorial. No Brasil, foi introduzido em primeiro lugar no sul do país, já que os imigrantes europeus tinham o hábito de consumir suas sementes torradas (FERNANDES et al., 2013; SANTOS et al., 2014).

O fruto do girassol, também chamado aquênio, é constituído pelo pericarpo (casca) e pela semente. A casca é formada por três camadas: externa, média e interna. A semente é constituída pelo tegumento, endosperma e embrião. De modo geral, o fruto ou aquênio é conhecido, vulgarmente, como semente (GAZZOLA et al., 2012).

De acordo com sua utilização, há dois tipos de sementes de girassol: as oleosas e as não oleosas. As sementes não oleosas são maiores, pretas, com listras, e apresentam casca grossa

(40% a 45% do peso da semente), são torradas, embaladas e são consumidas pelo homem como amêndoas, misturas de granolas, bolos e "snacks", ou como ração para pássaros. As sementes oleosas são menores e suas cascas são bem aderidas, representando 20% a 30% do peso da semente. As sementes oleosas são economicamente mais importantes e, a partir delas, são produzidos o farelo de girassol e seus derivados, após a extração do óleo. As proteínas de sementes de girassol possuem propriedades organolépticas e funcionais que as tornam úteis em alimentos processados (CARRÃO-PANIZZI; MANDARINO, 2005; LIMA, 2012).

3.5.2 Coagulante vegetal

As proteases formam um dos grupos mais importantes de enzimas industriais, e uma de suas principais aplicações é a produção de queijo da indústria de laticínios. As proteases são proteínas encontradas na natureza, podendo ser obtidas a partir de animais, vegetais e microrganismos (SOARES et al., 2015). Elas são enzimas capazes de hidrolisar ligações peptídicas e são classificadas em dois grandes grupos: exopeptidases e endopeptidases. As exopeptidases atuam próximo às extremidades das cadeias polipeptídicas, enquanto as endopeptidases atuam nas regiões internas das cadeias polipeptídicas (GONZÁLEZ-RÁBADE et al., 2011).

A utilização das proteases vegetais como coagulante de leite tem despertado grande interesse, uma vez que são enzimas naturais que podem substituir o coalho de origem bovina e a quimosina recombinante (CARVALHO, 2013). O número de enzimas de origem vegetal utilizadas industrialmente ainda é pequeno, apesar dos extratos das plantas serem usados em processos industriais por muito tempo (GONZÁLEZ-RÁBADE et al., 2011).

Queijos elaborados com coagulantes vegetais são encontrados principalmente no Mediterrâneo, países da Europa Ocidental e do Sul Africano, contudo, na Espanha e em Portugal há a maior variedade e produção de queijos utilizando coagulante vegetal (SCHMIDT, 2016).

O interesse científico em proteases vegetais e seu modo de ação em diferentes proteínas dos alimentos pode resultar em melhores produtos e também estimular o desenvolvimento de novas aplicações (MERHEB et al., 2007). O papel da proteólise durante a manufatura e maturação do queijo é essencial para o desenvolvimento de sua textura, sabor e aroma do queijo através da formação de peptídeos e liberação de substratos (aminoácidos) para transformações metabólicas secundárias, tais como transaminação, desaminação,

descarboxilação, desulfuração, catabolismo de aminoácidos aromáticos e reações com outros compostos (ALMEIDA, 2011; PEREIRA, 2014).

Os produtos naturais apresentam-se como fonte de compostos com potencial de atividade biológica, assim, a descoberta de protótipos para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos, como os alimentos. Estudos demonstram que extratos brutos de sementes de girassol pré-purificados hidrolisam a k-caseína bovina no mesmo sítio da quimosina, que é a enzima utilizada na fabricação de queijos (COSTA, 2009; LIMA et al., 2010).

Os lipídios de sementes são conhecidos como fontes de carotenoides, a exemplo dos óleos de soja, canola e girassol (TUBEROSO et al., 2007). Dentre as propriedades bioativas dos carotenoides, diversos efeitos benéficos à saúde são relatados, tais como melhoria da resposta imunológica, proteção da mucosa gástrica. Essas atividades fisiológicas têm sido atribuídas ao seu poder antioxidante, especificamente à capacidade de sequestrar oxigênio e interagir com os radicais livres. Na indústria de alimentos, a presença de pequenas quantidades de carotenoides ajuda na prevenção da rápida oxidação de seus constituintes (FIGUEIRA et al., 2013). A utilização de novas enzimas na produção de novos tipos de queijos a partir da tecnologia artesanal é uma alternativa na geração de novos derivados do leite de cabra tanto para os mercados regionais, nacionais como internacionais (EGITO; LAGUNA, 2006).

Na Península Ibérica, Portugal e nas ilhas Canárias diferentes tipos de queijos são produzidos com coalho de vegetais, que são considerados queijos que são considerados queijos DOP (Denominação de Origem Protegida). O “Queijo de Nisa” é um queijo tradicional português, com rótulo DOP, produzido com leite de ovelha cru, em que o extrato aquoso de flor de cardo (*Cynara cardunculus* L.). Trata-se de um queijo curado, de pasta semi-dura e cor branca amarelada. Possui sabor ligeiramente ácido e aroma intenso (PRODUTOS TRADICIONAIS PORTUGUESES, 2001).

4. METODOLOGIA

4.1 Local da pesquisa

As análises da pesquisa experimental foram realizadas no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos (NUPEA), do Centro de Ciências e Tecnologia – CCT/UEPB e no laboratório de Bioquímica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS/UEPB, localizados no Campus I, no município de Campina Grande, PB.

4.2 Matérias-primas

As sementes de girassol sem cascas a granel foram adquiridas na loja Lauri Temperos e as sementes com casca foram compradas na loja Líder Rações, ambas localizadas na feira central, Campina Grande, Paraíba. As sementes adquiridas embaladas foram beneficiadas e empacotadas pela Campina Rações Ltda (Campina Grande, Paraíba). O coagulante comercial, usado como controle, foi o da marca HA-LA®, a base de quimosina (Chr. Hansen Indústria e Comércio Ltda). A cepa de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007 foi selecionada entre as cepas pertencentes à Coleção de Microrganismos de Interesse para a Indústria de Alimentos da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária)

4.3 Obtenção do extrato vegetal de *H. annuus*

Para preparação do extrato vegetal, sementes de girassol foram sanitizadas, trituradas e colocadas em solução de NaCl a 1% e acondicionadas a 8°C por 24 horas, e por fim filtradas.

4.4 Ensaios pilotos de avaliação das condições de coagulação do leite

Foram realizados testes com o extrato aquoso da semente e com a temperatura do leite mantida a 37 °C, de acordo com a Tabela 1. A partir desses testes, foi escolhida a condição de coagulação em menor tempo, oferecendo o maior benefício para a elaboração do queijo na presença ou ausência da cultura nativa potencialmente probiótica *L. mucosae* CNPC 007.

Tabela 1 – Delineamento dos testes pilotos de avaliação das condições de coagulação do leite.

Itens	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	CV7	CV8	CV9	CC
Sementes	ASC	ASC	ASC	ECC	TSC	TSC	ACC	ACC	ACC	-
Sementes peso (g)	30	30	60	60	30	45	90	80	120	-
NaCl (mL)	1% 75	75	75	150	75	75	150	150	150	-
CV e CC μl/1 mL de Leite	450	400	300	500	100	50	200	100	50	1

Fonte: Dados da pesquisa

Onde: CV - Coagulante vegetal; CC - Coagulante Comercial; TSC - Trituradas sem casca (a granel); ASC – A granel sem casca; ACC - A granel com casca; ECC - Embalada com casca.

4.5 Elaboração do queijo

A partir da condição de coagulação escolhida foram produzidos queijos, na presença e ausência da cultura nativa de *L. mucosae* CNPC 007. O delineamento experimental utilizado no presente projeto está apresentado no Quadro 1.

Quadro 1 – Delineamento experimental dos tratamentos a serem estudados

Tratamento	<i>L. mucosae</i> CNPC 007	Extrato aquoso de <i>H. annuus</i>
T1	-	+
T2	+	+

- = ausente; + = presente

Após o aquecimento do leite na temperatura estabelecida nos ensaios pilotos foi adicionada à cultura *L. mucosae* pré-ativada conforme descrito por Sousa (2016). Posteriormente, para todos os tratamentos foi adicionado o cloreto de cálcio na proporção de 2,5 g para 10 L de leite e 440mL do extrato de *H. annuus*, conforme proporção de extrato para o leite estabelecida nos ensaios pilotos. Após 60 minutos, foram realizados cortes na coalhada

em todos os sentidos, procurando obter grãos (cubos) de massa, de aproximadamente 1,5 cm. A salga da coalhada foi realizada na proporção de 90 g de sal para cada 10 L de leite, sendo o sal dissolvido em aproximadamente 1L de soro adicionado à massa imediatamente após a dessora por um período de 10 min. Após esse período, o queijo foi enformado. Após a enformagem, os queijos foram prensados durante 24h, maturados durante 48h a temperatura de 8 °C e posteriormente embalados à vácuo e armazenados a 8 °C.

4.6 Avaliação do rendimento do processo

O rendimento de cada processo foi calculado através da determinação da massa de queijo obtida para a quantidade de leite empregada na produção de queijo em cada experimento. O rendimento foi expresso em kg queijo/10 L leite.

4.7 Armazenamento (dia 1) e períodos de amostragem

A coleta das amostras de queijo foi realizada 48 horas após a desenformagem (dia 1). Em cada período de amostragem, porções de queijo de aproximadamente 10 g foram congeladas para uso nas análises.

Foi determinado o teor de umidade em estufa a vácuo a 70 °C conforme descrito no método 013/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008). O teor de gordura amostra úmida e extrato seco, conforme descrito no método de Gerber 466/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.8 Avaliação do pH

A determinação do pH foi avaliada em potenciômetro, conforme os procedimentos analíticos descritos no método 017/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.9 Avaliação da acidez titulável

A acidez titulável das amostras foi avaliada segundo os procedimentos analíticos descritos no método 463/IV do Instituto Adolfo Lutz (2008) e expressa em g de ácido láctico/100 g.

4.10 Análise da viabilidade da bactéria láctica

A população de *Lactobacillus* spp. do tratamento T2 adicionado da cultura nativa de *L. mucosae* foi avaliada após multiplicação em meio de Man Rogosa Sharpe acidificado com ácido acético até pH 5,4, segundo a metodologia descrita em Buriti et al. (2014) e Almeida Neta et al. (2018).

4.11 Obtenção dos extratos fenólicos das amostras

Os extratos fenólicos foram preparados a partir das amostras de queijos (no primeiro dia de armazenamento) segundo a metodologia descrita por dos Santos et al. (2017), com algumas modificações. As amostras foram pesadas em balança analítica ($\pm 0,2500\text{g}$) e misturadas a 1 mL de metanol acidificado, preparado na proporção de 100 μL de ácido clorídrico P.A. para cada 100 mL de metanol. As amostras foram agitadas em vórtex e mantidas em repouso mínimo de 12 h, sob refrigeração a 4°C ao abrigo da luz. No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas (centrífuga 5810R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) a $13.500 \times g$ durante 5 min a 4 °C. O resíduo foi lavado com metanol-HCl. O procedimento foi repetido duas vezes, ou até o esgotamento dos compostos fenólicos. Os sobrenadantes obtidos de cada amostra foram utilizados para as análises.

4.12 Análise de fenólicos totais

O teor de fenólicos totais foi determinado de acordo com dos Santos et al. (2017) com algumas modificações. Todos os procedimentos foram realizados no escuro. Em tubos de ensaio de plástico de 15 mL foram adicionados em sequência alíquotas de 60 μL de cada extrato preparado, 2340 μL de água destilada e 150 μL de reagente de Folin-Ciocalteu, os quais foram homogeneizados a seguir. Foi incluída uma prova em branco na qual a amostra foi substituída por metanol acidificado preparado na proporção de 100 mL de metanol para 94 μL de ácido clorídrico P.A, utilizado apenas para o branco.

Após 8 min, 450 μL de solução de Na_2CO_3 foram adicionados aos tubos, novamente misturados e deixados em repouso por 30 min em temperatura ambiente, sob abrigo da luz. A absorbância foi medida a 750 nm em espectrofotômetro e uma curva padrão foi previamente

construída usando ácido gálico. Os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente (mg GAE)/100 g de amostra.

4.13 Determinação da capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante das amostras foi obtida através de ensaio com o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), seguindo uma adaptação do protocolo de Rufino et al. (2007). Foi preparada uma solução mãe de DPPH diluindo-se 0,0020g deste reagente em etanol P.A. para obter um volume final de 50 mL.

Alíquotas diferentes (50 µL, 100 µL e 200 µL) dos extratos de cada amostra (queijos) foram misturadas com alíquotas de 100 µM DPPH (2,95 mL, 2,90 mL e 2,80 mL, respectivamente) para um volume total de 3 mL. A diminuição da absorbância a 517 nm foi medida após 30 e 60 min (em relação ao tempo 0 min) à temperatura ambiente.

Os resultados foram obtidos e expressos como porcentagem da inibição do DPPH (% de sequestro de DPPH), seguindo a equação (1):

$$\text{Sequestro de DPPH(\%)} = \frac{(ABS_C - ABS_A)}{ABS_C} \times 100 \quad (1), \text{ onde: } ABS_C \text{ é a absorbância do}$$

controle (absorbância da solução DPPH sem o extrato da amostra) e ABS_A é a absorbância com o extrato da amostra.

A quantidade de cada amostra dos queijos necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50% (EC50) foi calculada (inicialmente em g de amostra por L de 100 µM de solução DPPH) após a construção da percentagem de inibição pela curva de concentração do extrato. O resultado final da capacidade antioxidante total foi expresso em g de amostra/g DPPH, segundo Rufino et al. (2007) seguindo a Equação (2):

$$\text{Capacidade antioxidante total (g de amostra/g de DPPH)} = \frac{(EC50 \text{ (g/L)})}{\mu M DPPH \times 394,3} \times 10^6 \quad (2),$$

onde: µM DPPH é o DPPH (em µM) consumido pela bebida láctea para diminuir a absorbância em 50% durante o ensaio e 394,3 é a massa molar do DPPH.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio de coagulação

Na Tabela 2, abaixo, é apresentado o tempo para a atividade de coagulação, seguindo os critérios dos itens 4.4 para o processamento da semente para a obtenção dos extratos Tabela 1. É possível observar que os resultados mais satisfatórios foram para as sementes trituradas com casca, em especial, o tratamento CV9. Especificamente para os tratamentos CV1 a CV3 e CV6, pode ter ocorrido perda dos valores nutricionais e, conseqüentemente, do fator de coagulação das sementes previamente descascadas, por estas ficarem mais expostas e suscetíveis a fatores extrínsecos do meio.

Tabela 2 – Coagulação do leite obtida nos testes pilotos

	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5	CV6	CV7	CV8	CV9	CC
Sementes	ASC	ASC	ASC	ECC	TSC	TSC	ACC	ACC	ACC	-
Tempo de atividade	2 h	1 h e 15 m	40 m	1 h e 30 m	1 h e 35 m	1 h e 40 m	1 h e 15 m	1 h e 40 m	1 h	20 m

Fonte: Dados da pesquisa

Onde: CV - Coagulante vegetal; CC - Coagulante Comercial; TSC - Trituradas sem casca (a granel); ASC – A granel sem casca; ACC - A granel com casca; ECC - Embalada com casca.

Quando um potencial substituto de coalho é estudado, é particularmente importante avaliar sua atividade de coagulação do leite. As enzimas proteolíticas de fontes vegetais são bem adequadas para as indústrias farmacêutica e alimentícia, pois atuam em uma ampla temperatura e pH e possuem amplas especificações de substrato alta estabilidade em condições extremas (TRIPATHI; TOMAR; JAGANNADHAM, 2011).

Baseando-se na melhor atividade coagulante do tratamento CV9, este foi escolhido para a elaboração do extrato usado na fabricação dos queijos.

5.2 Avaliação do rendimento e aspectos físico-químicos dos queijos

Os resultados do rendimento e das análises físico-químicas dos queijos com coagulante vegetal na presença e ausência da cultura nativa de *L. mucosae* encontram-se na Tabela 3. A partir desses resultados, estes queijos puderam ser classificados de acordo com seu teor de umidade e gordura no extrato seco, com base na legislação nacional vigente (BRASIL, 1996).

Tabela 3 – Rendimento e aspectos físico-químicos dos queijos (dia 1)

Tratamento	Rendimento (kg/10 L de leite)	pH	Acidez (g de ácido lático/100 mL)	Umidade (g/100g ou %)	Gordura em base úmida (g/100g ou %)	Gordura no extrato seco (g/ 100g ou %)
T1	1,021	6,06	0,545	45,71	25,02	46,08
T2	0,948	6,19	0,746	45,89	29,56	54,62

Fonte: Dados da pesquisa

Onde: T1 - Queijo Controle; T2 - Queijo Probiótico - contendo *L. mucosae*.

De acordo com os dados na Tabela 3, os queijos foram classificados como de média umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa semidura). As faixas de classificação dos queijos quanto ao teor de umidade segundo a referida Portaria são: baixa umidade (até 35,9%), média (36% < umidade < 45,9%), alta umidade (46% < umidade < 55%) e muita alta umidade (> 55%). Diferenças obtidas na composição dos queijos devem-se às diferenças no processamento, pois a manipulação e prensagem da coalhada interferem em sua habilidade de reter gordura e umidade (NASSU et al., 2001; LIMA; LEAL, 2017).

A umidade é um parâmetro muito importante pois interfere na atividade da água, nas ações metabólicas de microrganismos durante a maturação, com possível influência no pH, textura, aroma e sabor, podendo ainda sofrer variações com o tempo de conservação (SOUSA et al., 2014). Ainda, a classificação dos queijos é utilizada para definir os níveis de determinados microrganismos a serem utilizados como indicadores sanitários, de acordo com a legislação referente aos padrões microbiológicos dos alimentos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019).

Os queijos estudados foram classificados como “gordos” conforme a Portaria 146 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1996). Conforme a referida Portaria, de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco (GES), em percentagem, os queijos classificam-se em: extra gordo (contendo 60% de GES), gordos (entre 45,0 e 59,9% de GES), semi gordo (entre 25,0 e 44,9%), magros (entre 10,0 e 24,9%) e desnatados quando contêm menos de 10,0% de GES (BRASIL, 1996). Dessa forma, o teor de gordura do queijo apresenta maior interesse quando analisado em relação ao extrato seco total, impedindo assim, que ocorram variações ocasionadas pela eventual perda de umidade do produto (ALVES, 2013).

A gordura é um dos principais componentes responsáveis pela característica sensorial do queijo e ao longo da maturação, a lipólise representa uma importante reação bioquímica para o aparecimento do aroma e textura desejados ao produto final. No queijo, as lipases podem provir do leite, do coagulante e das bactérias iniciais (CASTRO, 2015).

Dessa forma, a adição da cultura *L. mucosae* no tratamento T2 não interferiu na classificação quanto ao teor de GES e umidade do queijo, uma vez que ambos os queijos elaborados no presente projeto atingiram a mesma classificação.

Sabe-se que o rendimento é um fator muito importante para produtores de queijos. Após avaliação, foi observado que o rendimento final foi de aproximadamente 1 kg de massa para cada 10 litros (10%) de leite utilizado na fabricação do queijo. Queijos de leite caprino avaliados por Silva et al. (2019), tiveram um rendimento entre 5,87 e 7,75%, já em trabalho realizado por Patriota (2011), o rendimento do queijo caprino tipo coalho, foi similar a 10% e está na média descrita por fabricantes de queijo coalho.

No que diz respeito à segurança alimentar e controle de qualidade no processo de fabricação de queijo, o pH também é um atributo que tem influência direta com controle e crescimento de microrganismos patogênicos, pois sabe-se que quando o pH está abaixo de 4,6 quase não há crescimento potencial dos mesmos, desta forma, com valores superiores, faz-se necessário controle ainda mais rigoroso em todas as etapas de produção (PINTO et al., 2016). Na caracterização dos queijos, a determinação do pH é de grande importância, devido sua influência sobre a textura, atividade microbiana, e também na maturação, pois ocorrem reações químicas que são catalisadas pelas enzimas do coalho e da microbiota presente, e ambas dependem do pH (GOMES et al., 2012; SOUSA et al., 2014).

Nesse sentido, os valores médios de pH obtidos na análise dos queijos do presente trabalho (Tabela 3) variaram de 6,06 - 6,19, que podem ser considerados elevados, tornando-os mais suscetíveis à contaminação. Valores semelhantes ou superiores também foram

encontrados em outras pesquisas, como a realizada por Gomes, Medeiros e Silva (2012), que encontraram valores mais altos em queijos coalho artesanal, com variação de 6,54 e 7,00, e a de Sousa et al. (2014), que encontraram valores com variação de 5,18 a 6,23, já Pereira et al. (2010), o pH encontrado foi de 4,6 (dia 1), chegando a 5,2 (dia 30).

Parâmetro associado ao pH, a acidez expressa em ácido láctico dos queijos do presente projeto variou entre 0,545 e 0,746 g/100 g. Sousa et al. (2014) encontraram valores de acidez em queijos com maior variação, de 0,12 a 1,01 g/100 g. A acidez, proveniente da produção do ácido láctico a partir da degradação da lactose pelas bactérias afeta de maneira direta o pH, e expulsão de soro da massa durante a fabricação e início da fase de cura (SOUSA et al., 2014).

5.3 Análise da viabilidade da bactéria láctica

O resultado da viabilidade média de *L. mucosae* no queijo probiótico (T2) no primeiro dia de armazenamento sob refrigeração a 8 °C é mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Análise da viabilidade da bactéria láctica *Limosylactobacillus mucosae* CNPC 007.

Tratamento	Média log UFC/g	Desvio padrão
T2	8,75	0,0526

Fonte: Dados da pesquisa.

Onde: T2 - Queijo Probiótico - contendo *L. mucosae*.

Culturas probióticas com boas propriedades tecnológicas devem ser capazes de crescer bem no leite, promover propriedades sensoriais adequadas no produto, melhorar as características físico-químicas e microbiológicas do produto, sem causar alterações indesejáveis, inibição de microrganismos contaminantes, garantir a manutenção da segurança alimentar do produto ao decorrer de sua vida útil e permanecerem estáveis e viáveis durante o armazenamento. Desta forma, podem ser manipuladas e incorporadas em produtos alimentícios sem perder sua viabilidade e funcionalidade (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; CASTRO et al., 2015). Uma vez que a cultura *L. mucosae* atingiu população superior a 8 log UFC/g no queijo produzido, este microrganismo, portanto, é capaz de sobreviver às condições de processamento aplicadas e de se manter viável na presença dos ingredientes utilizados.

A função de bactérias lácticas está normalmente associada ao processo de fermentação, mas também pode contribuir para a maturação do queijo, pois conferem à textura e outras

características desejáveis nesses produtos. Produz uma grande diversidade de enzimas glicolíticas, lipolíticas e proteolíticas, que estão envolvidas na transformação de nutrientes fundamentais em compostos desejáveis que atribuem aroma e sabor ao queijo (DE SOUZA MOTTA; GOMES, 2015; TODESCATTO, 2014).

Estudos recomendam uma população probiótica mínima variando de 10^8 a 10^9 UFC/porção diária do produto alimentar para obter um efeito benéfico à saúde no intestino (MARTINEZ; BEDANI; SAAD, 2015). Uma vez que a média de células probióticas no queijo foi de 8,75 log UFC/g (Tabela 4), de acordo com Bevilaqua et al. (2020), esse valor é considerado elevado, atendendo aos requisitos exigidos. Ressalta-se que outras bactérias lácticas, além da espécie *L. mucosae* utilizada no queijo T2, podem fazer parte da microbiota natural do leite caprino, composta principalmente pelos microrganismos dos gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus* (HERNANDÉZ-SALDAÑA, 2016).

5.4 Análise de fenólicos totais e capacidade antioxidante

As análises foram efetuadas de forma a favorecer a caracterização de sequestro do radical DPPH, fenólicos totais, EC50 e da capacidade antioxidante total. O resultado do parâmetro de sequestro do radical DPPH registrado durante o armazenamento (dia 1) do queijo controle e do queijo probiótico, com presença de *L. mucosae* CNPC 007, está representado na Tabela 5.

Tabela 5 – Porcentagens de sequestro de DPPH obtidas para as amostras de queijo controle e queijo probiótico durante o armazenamento (dia 1) (média \pm desvio padrão).

Amostra	Volume de extrato no ensaio (mL) sequestro DPPH (%)		
	0,05	0,1	0,2
T1 - dia 1	6,4 \pm 5,84	17,08 \pm 7,99	33,44 \pm 5,60
T2 - dia 1	11,07 \pm 1,42	10,19 \pm 2,75	13,92 \pm 4,09

Fonte: Dados da pesquisa

Onde: T1 - Queijo Controle; T2 - Queijo Probiótico - contendo *L. mucosae*.

Para a amostra T1, pode-se observar que volume 0,05 mL de extrato houve, em torno de duas vezes e meia menor porcentagem de sequestro de radical DPPH em relação ao volume 0,1 mL. Enquanto que, para o volume de 0,1 mL de extrato utilizado, houve porcentagem de sequestro de radical DPPH duas vezes menor em relação ao volume de 0,2 mL de extrato, conforme esperado.

No que diz respeito à amostra T2, o volume 0,05 mL de extrato resultou em um pequeno aumento do sequestro de DPPH em comparação ao volume 0,1 mL, e, um pequeno decréscimo em relação ao volume 0,2 mL em porcentagem de sequestro de radical DPPH. Conforme houve aumento de extrato utilizado, foi possível observar que o volume de 0,2 mL tendeu a aumentar o sequestro de radical DPPH em relação ao volume de 0,1 mL, apesar de não ter sido duas vezes maior, como observado no T1.

A proteólise das proteínas dos alimentos lácteos é geralmente indicada como responsável por aumentar o sequestro do radical DPPH em função de liberar peptídeos com capacidade antioxidante. No entanto, isto não é sempre observado. Pois, independente do grau de hidrólise, a substância resultante ao final do processo pode atuar como doadora de elétrons reagindo com radicais livres, convertendo-os em moléculas mais estáveis e assim terminar a reação (CORRÊA et al., 2011).

Reforça-se que as amostras analisadas foram apenas dos queijos controle (T1) e probiótico (T2), com presença de *L. mucosae*, em um único período de armazenamento. Faz-se necessário, portanto, realizar análise em outros períodos, bem como, do leite e do extrato vegetal, para uma análise individual.

Os parâmetros de fenólicos totais, EC50 e da capacidade antioxidante total durante o armazenamento (dia 1) do queijo controle e do queijo com adição de *L. mucosae* são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Concentração de fenólicos totais e parâmetros de atividade antioxidante do queijo controle e queijo probiótico durante o armazenamento (dia 1) (média \pm desvio padrão).

Amostra	Fenólicos Totais (mg EAG/100 g amostra)	EC50 (g queijo/L)	Capacidade antioxidante total (g queijo/g de DPPH)
T1 - dia 1	106,37 \pm 9,99	5,04 \pm 0,59	267,77 \pm 32,01
T2 - dia 1	235,21 \pm 27,30	12,41 \pm 4,54	508,80 \pm 189,55

Fonte: Dados da pesquisa

Onde: T1 - Queijo Controle; T2 - Queijo Probiótico - contendo *L. mucosae*.

Os resultados mostram que o teor de fenólicos totais teve um aumento significativo para o queijo contendo *L. mucosae*, em relação ao queijo controle, o que sugere que o comportamento da cepa probiótica pode desempenhar um papel importante na atividade dos compostos presentes no coagulante vegetal.

Alguns compostos fenólicos possuem capacidade de melhorar propriedades funcionais do leite e de produtos lácteos, pois interagem com as proteínas do leite, principalmente as proteínas ricas em prolina, como caseínas. Eles podem melhorar a estabilidade microbiológica, capacidade de formar espuma, estabilidade oxidativa e estabilidade ao calor (O'CONNELL; FOX, 2001). Han et al. (2011) relatam maior capacidade de sequestrar radicais e atividade antioxidante em queijos formulados com adição de compostos fenólicos isolados, em relação ao queijo sem compostos fenólicos.

Amakura et al. (2013) avaliaram a atividade antioxidante de compostos fenólicos extraídos de sementes de girassol. De acordo com Guo, Ge e Jom (2017), importantes constituintes das sementes de girassol são os ácidos fenólicos, os flavonoides, os tocoferóis, os fitoesteróis, além de niacina, outras vitaminas do complexo B, vitamina C, pró-vitamina A e minerais como cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, selênio e zinco.

Ainda na tabela 6, os parâmetros de atividade antioxidante determinada pelo ensaio DPPH, estão expressos em EC50, que corresponde à quantidade de extrato necessária para reduzir o radical DPPH em 50%; assim, quanto menor o EC50, melhor é a capacidade antioxidante do extrato, e, capacidade antioxidante total no qual demonstra a quantidade necessária de queijo para capturar 1 g de radical DPPH.

Ambos os queijos apresentaram atividade em sequestrar o radical livre DPPH. O queijo controle apresentou EC50 de $5,04 \pm 0,59$ g de queijo/L de solução de DPPH, seguido do queijo com *L. mucosae* com EC50 de $12,41 \pm 4,54$ g de queijo/L de solução de DPPH. Neste sentido, é possível verificar que, os resultados da capacidade antioxidante total foram diretamente proporcionais aos resultados de EC50, visto que, os dois parâmetros apresentam o mesmo perfil de variação, tendo em vista que o T2 necessitou de $508,80 \pm 189,55$ g da amostra para capturar 1 grama de radical. Esta formulação apresentou desempenho inferior quando comparado ao queijo controle T1, que precisou de 1,9 vezes menos para capturar 1 grama de radical DPPH.

Conforme o conceito de Rufino et al. (2007), quanto menor o valor de capacidade antioxidante total maior será a atividade antioxidante da amostra, de modo semelhante ao anteriormente mencionado para o EC50. Tanto o T1 como também T2 foram capazes de apresentar uma capacidade antioxidante total. No entanto, os resultados obtidos para o queijo controle foram melhores que o queijo com *L. mucosae*. Um estudo realizado por Li et al. (2016), mostra que cepas de lactobacilos podem utilizar componentes presentes nos alimentos, no qual esses microrganismos se encontram, como os compostos fitoquímicos, polissacarídeos e vitaminas, para o seu desenvolvimento. Segundo Hervert-Hernandez et al. (2009), polifenóis com funções antioxidantes têm um efeito estimulador sobre *L. acidophilus*, e uma possível explicação para isso seria que *L. acidophilus* são capazes de usar esses compostos como substratos.

É possível que alguns compostos antioxidantes tenham sido consumidos e consideráveis metabólitos oxigenados tenham sido produzidos simultaneamente à medida que *L. mucosae* crescia no queijo, assim, limitando o sequestro de DPPH e sua capacidade antioxidante. Ainda assim, a adição do extrato aquoso de semente de girassol na formulação, além de contribuir como coagulante vegetal contribuiu para que os queijos estudados obtivessem atividade antioxidante.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, tratando-se das características físico-químicas, foi possível classificar o queijo produzido como gordo e de média umidade, possuindo valores de composição, pH e acidez semelhantes a outros queijos e se enquadrando dentro dos padrões exigidos pelas legislações vigentes.

No que se refere a porcentagem de sequestro de DPPH, percebe-se que esteve diretamente ligada ao maior volume de extrato utilizado tanto para queijo controle como para o queijo probiótico contendo *L. mucosae*, apesar deste último ter mostrado uma pequena alteração entre os volumes de 0,05 e 0,1 mL de extrato utilizado.

No que diz respeito ao teor de fenólicos, o T2 apresentou maior concentração, talvez pela sua complexação com outros componentes do queijo, como por exemplo dos compostos fenólicos, o que, talvez, tenha resultado pela perda da atividade antioxidante quando comparado ao T1.

De toda forma, a utilização de um coagulante vegetal para fabricação de queijo adicionado da cepa de *Limosilactobacillus mucosae* CNPC 007, resultou em um produto com potencial funcional, podendo ser considerada como uma possibilidade para a promoção da saúde, considerando que o leite de cabra e a semente de girassol favoreceu o desenvolvimento da bactéria láctica *L. mucosae*, além de apresentar capacidade de sequestro de radicais livres, com favorável capacidade antioxidante total e EC50.

REFERÊNCIAS

- AHMED, I. A. M.; MORISHIMA, I.; BABIKER, E. E.; MORI, N. Characterisation of partially purified milk-clotting enzyme from *Solanum dubium* Fresen seeds. **Food Chemistry**, v. 116, p. 395-400, 2009.
- ALENCAR, L. A. C. **Desenvolvimento de queijo caprino condimentado defumado**. 2016. 33f. Monografia (Graduação em Tecnologia em Laticínios) – Instituto Federal de Sergipe – IFS, 2016.
- ALMEIDA NETA, M. C.; ROCHA DE QUEIROGA, A. P.; ALMEIDA, R. J.; CAETANO SOARES, A.; MARINHO GONÇALVES, J.; SOARES FERNANDES, S.; DE SOUSA, M. C.; DOS SANTOS, K. M. O.; ALONSO BURITI, F. C.; 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. **Nutrients**, Basel, v. 10, n. 9, p. 1214, 2018.
- ALMEIDA, A. C. **Caracterização de leveduras isoladas de queijos de coalho**. 2011. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.
- ALMEIDA, M. V. S. **Avaliação do potencial probiótico do *Lactobacillus plantarum* CNPC003 e *Lactobacillus mucosae* CNPC007 em modelo de inflamação intestinal em animais**. 2020. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2020.
- ALVES, V. O. **Avaliação higiênico-sanitária de amostras de Queijos Minas Frescal artesanais comercializados em feiras livres da cidade de Volta Redonda-RJ e suscetibilidade antimicrobiana das estirpes patogênicas isoladas**. 2013. Dissertação (Mestrado Profissional em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2013.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução normativa 60 de 23 de dezembro de 2019. Padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 158, n. 249, p. 133-139, 2019.
- AMAKURA, Y.; YOSHIMURA, M.; YAMAKAMI, S.; YOSHIDA, T. Isolation of phenolic constituents and characterization of antioxidant markers from sunflower (*Helianthus annuus*) seed extract. **Phytochemistry Letters**, Amsterdam, V. 6, p. 302–305, 2013.
- BEVILAQUA, G. C.; MENEZES, M. U. F. O.; XIMENES, G. N. C.; NASCIMENTO, I. R. S.; PEREIRA, E. F. S.; CORTEZ, N. M. S. Queijo fresco artesanal de leite caprino com *Lactobacillus acidophilus*: avaliação do crescimento de bactérias lácticas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 4, p. 21214-21231, abr. 2020.
- BOMFIM, M. A. D.; SANTOS, K. M. O. dos; QUEIROGA, R. de C. R. do E.; CORDEIRO, P. C.; OLIVEIRA, L. S. Produção e qualidade do leite de cabra no Brasil. **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Zootecnia**, 2013, Foz do Iguaçu. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013. p. 4711-4718.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Reforma Agrária. Portaria nº 146 de 7 de março de 1996. Regulamento técnico de identidade e qualidade de produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, ano 134, n. 48, p. 3977-3986, 11 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Abastecimento e Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 37, 31 de outubro 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, ano 138, n. 48, p. 103-105, 31 out. 2000.

HERNANDÉZ-SALDAÑA, O. F.; VALENCIA-POSADAS, M.; FUENTE-SALCIDO, N. M.; BIDESHI, D. K.; BORBOZA-CORONA, J. E. Bacteriocinogenic Bacteria Isolated from Raw Goat Milk and Goat Cheese Produced in the Center of México. **Indian Journal of Microbiology**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 301-308, Jul/Sept, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed.1. ed digital. São Paulo, 2008.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; DA CRUZ, A.G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science and Technology**, v.91, p.283-308, 2011.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 3, set. 2008.

KOWALESKI, J. **Iogurte probiótico à base de frutas exóticas de Laranjeiras do sul/PR**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA, Laranjeiras do Sul, PR, 2018.

LEE, Y. K; SALMINEN, S. **Handbook of Probiotics and Prebiotics**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.

LI, S.; MA, C.; GONG, G.; LIU, Z.; CHANG, C.; XU, Z. The impact of onion juice on milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus*. **LWT: Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 65, p.543-548, 2016.

LIMA, M. E. O.; MORAES, I. V. M.; GONDIM, V. I. L.; BASTOS, M. S. R.; EGITO, A. S. Avaliação do armazenamento refrigerado e do congelamento sobre a atividade proteolítica e coagulante de proteases obtidas de semente de girassol. In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador, BA. **Anais do XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2010.

LIMA, D. C. **Influência do ambiente, da embalagem e do período de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de girassol e gergelim**. 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado de Agronomia/Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

LIMA, B. B.; LEAL, M. C. **Parâmetros indicadores de qualidade de queijos artesanais comercializados em Castro-PR**. 2017. 30f. Monografia (Graduação em Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFP, Ponta Grossa, 2017.

MARQUES, S. R.; PEIXOTO, C. A.; MESSIAS, J. B.; ALBUQUERQUE, A. R.; SILVA JUNIOR, V. A. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.3, p.1-13, maio/jun. 2004.

MARTINEZ, R., BEDANI, R., SAAD, S. Evidências científicas para efeitos na saúde atribuídos ao consumo de probióticos e prebióticos: uma atualização para as perspectivas atuais e os desafios futuros. **British Journal of Nutrition**, v. 114, 12. ed. p. 1993 - 2015. December 2015.

MERHEB, C. W., CABRAL, H., GOMES, E., & DA-SILVA, R. Partial characterization of protease from thermophilic fungus *Thermoascus aurantiacus* and its hydrolytic activity on bovine casein. **Food Chemistry**, v. 104, 1. ed. p. 127-131, 2007.

MENEZES, S. de S. M. Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na região Nordeste. **Revista de Geografia**, v. 28, n. 1, p. 40-56, 2011b.

MORAES, G. M. D.; SALLES, H. O.; SANTOS, K. M. O. dos; EGITO, A. S. do. Aptidão tecnológica de 13 cepas de *Lactobacillus plantarum* para fabricação de produtos lácteos. In: ENCONTRO NACIONAL, 20.; CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ANALISTAS DE ALIMENTOS, 6., 2017. Belém. **Segurança e qualidade de alimentos**. Belém, PA: LACEN: UFPA, 2017. 4 f.

NASSU, R.T.; LIMA, J.R; BASTOS, M.S.R.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de coalho e manteiga da terra no estado do Ceará. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.15, n.89, p.28-36, 2001.

NETTO, M. M. **A geografia do queijo minas artesanal**. 2011. 420 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2011.

NIEDERLE, P.A.; WESZ JR., V. **As novas ordens alimentares**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2018.

O'CONNELL, J. E., FOX, P. F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. **International Dairy Journal**, v. 11, 3. ed. p.103-120, 2001.

OLIVEIRA, M. E. G. **Queijo de Coalho Caprino Adicionado de Bactérias Lácticas: elaboração, caracterização e avaliação in vitro de potencial probióticos**, PE. Tese (Doutorado em Nutrição) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013, 154p.

PAULA, P. L. M. **Caracterização tecnológica de *Enterococcus faecium* isolados de queijos artesanais**. 2019. 63 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

PASKO, P.; BARTON, H.; ZAGRODZKI, P.; GORINSTEIN, S.; FOŁTA, M.; ZACHWIEJA, Z. Anocianinas, polifenóis totais e atividade antioxidante no amaranto e sementes e brotos de quinua durante seu crescimento. **Food Chemistry**. v. 115, 3. ed. p. 994-998, August 2009.

PATRIOTA, A. B. A. **Desenvolvimento de um queijo tipo Coalho caprino embutido e defumado**. 2011. Monografia (Curso de Bacharel em Nutrição) – Universidade Federal do Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2011.

PEREIRA, S. C.; SANTOS, K. M. O.; BASTOS, M. S. R.; MORAES, I. V. M.; PAULA, C. M.; EGITO, A. S. Utilização de proteases vegetais na fabricação de queijos coalho com leite de cabra. **Anais II Simpósio em Ciência e Tecnologia de Alimentos e I Congresso do Instituto Nacional de Frutos Tropicais**. Aracaju, Sergipe, 2010.

PEREIRA, E. B. **Avaliação de queijos Colonial e Colonial Imbriago submetidos a diferentes tempos de produção e maturação**. 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2014.

PEREZ, H. J.; MENEZES, M. E.; D'ACÂMPORA, A. J. Microbiota intestinal: estado da arte. **Acta Gastroenterológica Latinoamericana**, Buenos Aires, v. 44, n. 3, p. 265-272, out. 2014.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. de L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PIRES, A. C. dos S.; FONTES, L. B. A.; VARGAS, P. I. R. Segurança alimentar do queijo minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 342-347, out. 2009.

PRODUTOS TRADICIONAIS PORTUGUESES, Lisboa, **DGDR**, 2001. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/pt/referencias/outras-fontes/155-produtos-tradicionais-portugueses-lisboa-dgdr-2001>. Acesso em: 28 de Maio de 2021.

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

RIBEIRO, A. C.; RIBEIRO, S. D. A. Specialty products made from goat milk. **Small Ruminant Research**, v. 89, p. 225-33, 2010.

RODRIGUEZ, V. A.; CRAVERO, B. F.; ALONSO, A. Proceso de elaboración de yogur deslactosado de leche de cabra. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 28, supl., p. 109- 15, 2008.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico, 127).

SANTOS, K. M. O. dos; EGITO, A. S. do; VIEIRA, A. D. da S.; BURITI, F. C. A.; BENEVIDES, S. D.; LAGUNA, L. E. **Processamento de queijo caprino cremoso probiótico**

adicionado de *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus*. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2010. 5 p. (Embrapa Caprinos e Ovinos. Comunicado Técnico, 118).

SANTOS, B. M.; OLIVEIRA, M. E. G.; SOUSA, Y. R. F.; MADUREIRA, A. R. M. F. M.; PINTADO, M. M. E.; GOMES, A. M. P.; SOUZA, E. L.; QUEIROGA, R. C. R. E. Caracterização físico-química e sensorial de queijo de coalho produzido com mistura de leite de cabra e de leite de vaca. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, p.302-10, 2011.

SANTOS, G. L.; DANTAS, K. A.; BEZERRA, L. L.; ARRIEL, N. H. C.; LUCENA, A. M. A. L.; MAIA, J. M. **Cultivo de girassol para a apicultura, forragem e produção de óleo.** Campina Grande: EDUEPB, 2014. (Comunicado Técnico).

SANTOS, C. C. **Contagem de bactérias lácticas em leite fermentado comercializado em diferentes supermercados no município de Cruz das Almas - Bahia.** 2017. 46 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, 2017.

SANTOS, R. M. S. **Petit suisse de búfala potencialmente simbiótico com retenção de soro.** 2021. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Gestão de Recursos Naturais, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, Brasil, 2021.

SCHMIDT, J. T. **Desenvolvimento e caracterização de queijo tipo tofu utilizando coagulantes vegetais.** 2016. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões.

SILVA, L. J. M. 2011. **Isolamento e Caracterização Bioquímica das bactérias do Ácido Láctico do Queijo de São Jorge DOP.** Angra do Heroísmo, Açores: Universidade dos Açores - Departamento de Ciências Agrárias, 2011.

SILVA, R.A.; LIMA, M.S.F.; VIANA, J.B.M.; BEZESSA, V.S.; PIMENTEL, M.C.B.; PORTO, A.L.F.; CAVALCANTI, M.T.H.; LIMA, J.L. Can artisanal “Coalho” cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food. **Food Chemistry**, v.135, p.1533-1538, 2012.

SILVA, L.F.N. **Perfil de produtores da associação de criadores de cabras leiteiras no leste e agreste potiguar.** 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal: Área de Concentração em Produção Animal) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba- RN, UFRS, 2014. 63p.

SILVA, K. C. M. **Elaboração de blends de iogurte de leite de cabra com geleia da casca do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* P.DC.).** 2015. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, Paraíba, Brasil, 2015.

SILVA, J. M. S. S.; SANTOS, A. P. M.; SILVA, E. R.; SILVA, F. J. F.; ALMEIDA, V. V. S. Rendimento de queijo coalho caprino com diferentes pH e adição de doce. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 4. 2019, Toledo. **Anais...** PUCPR: Toledo, 2019.

SOARES, E. F.; SILVA, A. C.; QUEIROZ, A. E. S. F.; GOMES, J. E. G.; HERCULANO, P. N.; MOREIRA, K. A. Potencial do látex da fruta pão (*Artocarpus altilis*) como agente coagulante do leite. **Ciência Rural**, v.45, n.1, p.149-154, 2015.

SOUZA, S. M. O. **Estudo da interferência de substratos orgânicos na ação do ozônio sobre microrganismos deteriorantes, benéficos e patogênicos.** 2016. xvii, 117 f., il. Tese (Doutorado em Ciência Animal)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SOUSA, A.Z.B.; ABRANTES, M.R.; SAKAMOTO, S.M.; SILVA, J.B.A.; LIMA, P.O.; LIMA, R.N.; ROCHA, M.O.C.; PASSOS, Y.D.B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializados em estados do nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 81, n. 1, p. 30-35, 2014.

SOUSA, M. C. **Obtenção de sobremesa de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) com potencial probiótico utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp.** 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

SOUZA, V.; BENEVIDE, S. D. Sistema agropecuário de produção integrada da caprinocultura leiteira no bioma caatinga. **Farmpoint - O ponto de encontro da cadeia de ovinos e caprinos**, 13 jan. 2014.

TODESCATTO, C. **Obtenção de fermento láctico endógeno para produção de queijo típico da mesorregião sudoeste do Paraná.** 2014. 171 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2014.

TRIPATHI, P.; TOMAR, R.; JAGANNADHAM, M. V. Purification and biochemical characterisation of a novel protease streblin. **Food Chemistry**, v. 125, 1005-1012. 2011.

TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**, 1494–1501, 2007.

VARGAS, M.; CHAFER, M.; ALBORS. A.; CHIRALT, A.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurt produced from mixtures of cows' and goats' milk. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 1146-1152, 2008.

VIDAL, A. M.; DIAS, D. O.; MARTINS, E. S. M.; OLIVEIRA, R. S.; NASCIMENTO, R. M. S.; CORREIA, M. G. S. Ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Ciências Biológicas e da Saúde**. Aracaju, v.1, n. 15, p.43-52, 2012.

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., GÄNZLE, 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**, v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 2020.