



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

DANIELY RAYANE BEZERRA DE FARIAS

**ANÁLISE PROTEICA DE PRODUTOS LÁCTEOS PROBIÓTICOS CONTENDO
SORO DA FABRICAÇÃO DE QUEIJOS E *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS***

**CAMPINA GRANDE
2018**

DANIELY RAYANE BEZERRA DE FARIAS

**Análise proteica de produtos lácteos probióticos contendo soro da fabricação de queijos
e *Lactobacillus rhamnosus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do Título de Bacharel em Farmácia.

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

CAMPINA GRANDE – PB
2018

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.

F224a Farias, Daniely Rayane Bezerra de.
Análise proteica de produtos lácteos probióticos contendo soro da fabricação de queijos e *Lactobacillus rhamnosus* [manuscrito] : / Daniely Rayane Bezerra de Farias. - 2018.
39 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2018.

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

1. Soro lácteo. 2. Probióticos. 3. Eletroforese.

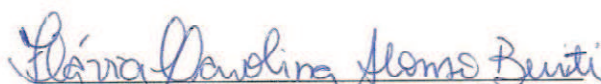
21. ed. CDD 615.34

DANIELY RAYANE BEZERRA DE FARIAS

**Análise proteica de produtos lácteos probióticos contendo soro da fabricação de queijos
e *Lactobacillus rhamnosus***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação em Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba, como
requisito parcial à obtenção do Título de
Bacharel em Farmácia.

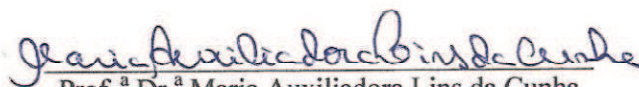
Aprovada em 13/06/2018.



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

UEPB

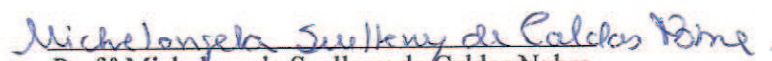
Orientadora



Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora Lins da Cunha

UEPB

Examinadora Interna



Prof.^a Michelângela Suelleny de Caldas Nobre

Faculdades Integradas de Patos

Examinadora Externa

À minha família, por toda compreensão e
companheirismo, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me fortaleceu e esteve ao meu lado ao longo dessa jornada.

Aos meus pais, Romério Ferreira e Edenir de Azevedo, por todo amor, companheirismo e paciência. Aos meus irmãos Ruan Gabriel, Sávio Yan, Yasmim Ketly e Mateus Barbosa, pelos momentos de distração em que precisei nas horas de aflição.

À minha família, que sempre esteve ao meu lado, torcendo por mim, pela compreensão por minha ausência nas reuniões familiares. Aos primos que sempre me incentivaram e motivaram para chegar até aqui. Aos meus avôs José Guedes (*in memoriam*) e Laliér Inácio (*in memoriam*), embora não estejam mais presentes aqui na Terra, estarão sempre no meu coração, levarei os conselhos e incentivos de cada um.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Flávia Carolina Alonso Buriti, por ser prestativa, pelos ensinamentos e dedicação ao longo das pesquisas.

À banca examinadora composta pela Prof.^a Me. Michelangela Suelleny de Caldas Nobre e pela Prof.^a Dr.^a Maria Auxiliadora Lins da Cunha, por aceitarem o convite para avaliar e contribuir para a melhoria do meu trabalho.

À minha querida turma 2013.1, especialmente a Blenda Queiroz, Alisson Sousa, Mariana Dantas, Geovana Guedes, Pablo Rayff, Joyceana Correia, Messias Gomes, Lucas Linhares, Luiz Martins, Raiff Dantas, Rafael Macedo, pelo companheirismo, carinho e apoio. Às minhas amigas de adolescência (Thamirys e Kamila) e de ensino médio (Daiane, Andreza, Tais e Kélvia), que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todos os momentos.

Aos companheiros de trabalho, pelas trocas de ensinamentos e horas de trabalho. À Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral - CE), pelo fornecimento do soro caprino e à Empresa DuPont/Danisco Ltda pelas culturas utilizadas na pesquisa. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa de Incentivo à Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba (PROPESQ/UEPB) pelo apoio financeiro ao projeto.

Aos funcionários do Núcleo de Pesquisa em Alimentos NUPEA, Farmácia Escola e LAC, especialmente aos técnicos Thiago dos Santos, Adna Bandeira, Adriana Arruda, Elaine Pereira, Isanna Menezes, pelos ensinamentos e por ter me dado forças. À Coordenação do curso de Farmácia, principalmente a Ronald, e a todos os professores pela atenção, profissionalismo e amizades ali realizadas.

RESUMO

A produção de queijo resulta em um grande volume de descarte, sem nenhum tratamento, do resíduo gerado em seu processamento, o soro lácteo, o que implica na poluição do meio ambiente. Diante dessa demanda disponível de soro, pesquisas vêm investindo em agregar valores nutricionais e funcionais maiores que os já apresentados por este subproduto, garantindo menor impacto ambiental e benefícios à saúde humana. Uma estratégia para esse fim é o desenvolvimento de produtos probióticos. O soro caprino, bem como o bovino apresentam propriedades nutricionais e uma diversidade de atividades biológicas. Tanto puro quanto associado a cepas bacterianas e fermentado, o soro gera peptídeos, que podem se tornar bioativos ao serem liberados durante a digestão. No presente estudo, o objetivo foi avaliar frações proteicas de produtos e bebidas lácteas com o uso de soro de leite de cabra ou de vaca todos contendo a cultura potencialmente probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32 e a cultura *starter* de *Streptococcus thermophilus* TA40. Especificamente nas bebidas de soro de leite de vaca, houve a adição de leite em pó desnatado e de jambolão (*Syzygium cumini*). Foram analisadas amostras de: soro fluido caprino *in natura* (GSF); soro caprino reconstituído sem a adição das culturas (GSR); soro caprino reconstituído com a adição das culturas antes do início da fermentação (GTI), ao final da fermentação (GTF), e após 1 e 7 dias 4 °C (GD1 e GD7, respectivamente); base láctea de vaca antes do início da fermentação (CTI) e ao final da fermentação (CTF); bebida láctea de vaca e jambolão após 1, 7, 14, 21 dias de armazenamento a 4° C (CD1, CD7, CD14, CD21 respectivamente). Foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) para avaliar o perfil proteico dos produtos lácteos. Foram identificadas as proteínas α -lactalbumina (α -La), β -lactoglobulina (β -Lg) imunoglobulina G (IgG), soroalbumina (SA) e lactoferrina (LF) em todas amostras, além das frações da caseína (β -CN, α_{s1} -CN e α_{s2} -CN) na bebida láctea de jambolão, pela adição do leite em pó. Ao confrontar os géis dos produtos lácteos, foi observado que a atividade proteolítica ocorreu durante o armazenamento dos produtos, gerando peptídeos de peso molecular inferior à α -La (< 14,2 kDa) durante tal período, particularmente em GD7, CD14 e CD21. No entanto, só foi possível observar melhor as frações menores liberadas, tanto durante a fabricação do queijo, como pelo efeito do tempo de armazenamento dos produtos, de pela técnica do nitrato de prata. Por outro lado, a coloração por Coomassie Blue foi suficiente para identificar as caseínas na bebida láctea com polpa de jambolão.

Palavras-Chave: Soro lácteo. Probióticos. Eletroforese.

ABSTRACT

Cheese production results in a large amount of waste produced in its process, the whey, without a treatment, which results in environmental pollution. Due to the available whey demand, studies have been investing in upgrade the whey value through higher nutritional and functional value than those it already presents, assuring a lower environmental impact and benefits to human health. One strategy for this goal is the development of probiotic products. Goat as well cow whey present nutritional properties and a variety of biological activities. Either pure or associated to bacterial strains, as in fermented products, whey produces peptides, which can become bioactive while released during digestion. In this study, the objective was to evaluate protein fractions of products and dairy drinks combined with goat or cow whey having a potentially probiotic culture of *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32 and a starter culture of *Streptococcus thermophilus* TA40. Specifically in cow whey drinks, there was an addition of skimmed milk powder and jambolan (*Syzygium cumini*). It was analyzed samples of: *in natura* goat whey (GSF), reconstituted goat whey without culture addition (GSR); reconstituted goat whey with culture addition before (GTI) and after (GTF) fermentation, and also after 1 and 7 days at 4 °C (GD1 and GD7, respectively); cow dairy base before (CTI) and after (CTF) fermentation; cow dairy drink and jambolan after 1, 7, 14, 21 days of storage at 4 °C (CD1, CD7, CD14, CD21 respectively). Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) was used to evaluate the protein profile of the dairy products. It was identified the proteins α -lactalbumin (α -La), β -lactoglobulin (β -Lg) immunoglobulin G (IgG), serum albumin (SA) and lactoferrin (LF) in all samples, besides casein fractions (β -CN, α_{s1} -CN and α_{s2} -CN) in jambolan dairy drink, due the milk powder addition. Confronting the gels of the different products, it was observed that proteolytic activity occurred throughout the products' storage, releasing peptides with lower molecular weight than α -La (< 14,2 kDa) during this period, particularly in GD7, CD14 and CD21. However, only by the silver nitrate technique it was possible to observe properly the smaller fractions released, either during cheese production or through the products' storage. On the other hand, coloration by Coomassie Blue was enough to identify caseins in dairy drink with milk powder and jambolan pulp.

Keywords: Whey. Probiotics. Electrophoresis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1– Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 17,5% nas amostras de soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2, GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7) corado por nitrato de prata..... 23
- Figura 2– Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE, presentes no gel 17,5% corado por nitrato de prata, das amostras de soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2, GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7)..... 25
- Figura 3– Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% nas amostras da bebida láctea com jambolão adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em Coomassie Blue..... 26
- Figura 4– Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% , nas amostras da bebida láctea bovino com jambolão adicionada de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em Coomassie Blue..... 27
- Figura 5– Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% nas amostras da bebida láctea com jambolão adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em nitrato de prata..... 28
- Figura 6– Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% , nas amostras da bebida láctea bovino com jambolão adicionada de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em nitrato de prata..... 29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	09
2	OBJETIVOS	12
2.1	Objetivo geral	12
2.2	Objetivos específicos	12
3	REFERENCIAL TEÓRICO	13
3.1	Alimento funcional	13
3.2	Alimento probiótico	14
3.3	Peptídeos bioativos	15
3.4	Bebida láctea adicionadas de frutas	15
3.5	Eletroforese em gel SDS-PAGE	17
3.6	Coloração por Coomassie Brilliant Blue e prata	18
4	METODOLOGIA	19
4.1	Matérias-primas	19
4.2	Preparo do produto lácteo de soro em pó de queijo de cabra	19
4.2.1	<i>Obtenção das amostras de soro atomizado em pó</i>	19
4.2.2	<i>Preparo do soro reconstituído para a elaboração do produto lácteo caprino</i>	19
4.2.3	<i>Etapas de fermentação e adição das culturas</i>	19
4.3	Preparo da bebida láctea com jambolão	20
4.3.1	<i>Obtenção dos frutos de jambolão</i>	20
4.3.2	<i>Obtenção do soro de queijo para a elaboração da bebida láctea com jambolão</i>	20
4.3.3	<i>Preparo da base láctea para bebida láctea com jambolão</i>	20
4.3.4	<i>Etapas de fermentação e adição das culturas</i>	20
4.4	Períodos de amostragem	21
4.5	Análise proteolítica	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.1	Determinação da atividade proteolítica do produto lácteo caprino	23
5.2	Determinação da atividade proteolítica da bebida láctea com jambolão ..	26
6	CONCLUSÃO	31
	REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

Na produção de laticínios, o leite de cabra possui algumas propriedades particulares que conferem vantagens tecnológicas em comparação ao leite de vaca: o menor tamanho dos glóbulos de gordura que proporciona uma textura mais suave em produtos derivados; quantidades menores da fração α_{s1} -caseína que, do mesmo modo, resulta em um coágulo mais suave, com maior capacidade de retenção de água e menor viscosidade. A menor alergenicidade em comparação ao leite bovino também levou a um aumento do interesse no leite caprino como alimento funcional (HASSAN et al., 2014). Além disso, apresenta maior digestibilidade, podendo ser indicado como substituto do leite bovino na alimentação de crianças desnutridas e no tratamento de diabéticos (ANAETO et al., 2010). Porém, a aceitação do leite caprino ainda traz receio, devido ao odor característico que o mesmo apresenta (CORREIA et al., 2008).

No Brasil, grande quantidade produzida de leite é destinada a fabricação de queijos, em que o processamento destes gera, como subproduto, o soro em grande quantidade. Sendo assim, o descarte do soro tem sido realizado de modo inadequado, no que acarreta danos ao meio ambiente (SPADOTI et al., 2006).

O soro também apresenta elevado valor nutricional, uma vez que retém cerca de 55% dos nutrientes do leite (LEITE et al., 2012). É rico em proteínas, vitaminas hidrossolúveis, sais minerais e lactose. As proteínas do soro são complexas misturas de numerosas moléculas, cujas principais são: β -lactoglobulina (β -Lg), α -lactalbumina (α -La), imunoglobulinas (Ig) e albumina sérica (também conhecida por albumina do soro ou soroalbumina, SA), as quais representam aproximadamente 2,7 g/L, 1,2 g/L, 0,65 g/L e 0,25 g/L, respectivamente. As proteínas do soro do leite apresentam uma série de atividades biológicas que influenciam na digestão, nas respostas metabólicas aos nutrientes absorvidos, além do crescimento e desenvolvimento de órgãos específicos e resistência a doenças (NOBRE, 2015). Em vista do aproveitamento dessa matéria-prima, têm-se investido na fabricação de novos produtos lácteos com interesse nutricional e funcional.

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA):

“[...] bebida láctea é o produto lácteo resultante da mistura do leite (*in natura*, pasteurizado, esterilizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado e em pó) adicionado ou não de produto(s) ou substância(s) alimentícia(s), gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea

representa pelo menos 51% (cinquenta e um por cento) massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 2005)”.

Associado aos benefícios do leite e do soro, a adição da polpa de frutas pode agregar valor nutricional a produtos lácteos, devido ao seu alto teor de compostos fenólicos e seu poder antioxidante (BORGES, 2011).

O jambolão (*Syzygium cumini*, *Syzygium jambolanum*) é uma fruta em que sua semente fica envolvida por uma polpa carnosa, comestível, doce e agradável ao paladar, apesar de adstringente (VIZZOTTO; ROSA FETTER, 2009). Dentre os compostos já identificados nos frutos, podemos citar a presença de ácidos fenólicos, como o ácido elágico, os flavonoides, como a quercetina, a rutina e as antocianinas (LIMA et al., 2007; REYNERTSON et al., 2008; SOARES, 2015; VEIGAS et al., 2007). Ao analisar o jambolão, Veigas et al. (2007) afirmam que este fruto pode ser considerado potencialmente antioxidante sobretudo pela presença de antocianinas. Estas são também consideradas corantes naturais, destacando-se nesse fruto compostos como a delphinidina-3-glicosídeo, a petunidina-3-glicosídeo e a malvidina-3-glicosídeo (LIMA et al., 2007; REYNERTSON et al., 2008; SOARES, 2015; VEIGAS et al., 2007).

Considerando a aplicação do soro de queijo na elaboração das bebidas lácteas, com ou sem polpas de frutas, as proteínas do soro podem sofrer modificações ao longo do processamento do produto. As proteínas do leite, assim como um grande número de outras proteínas alimentares, contêm sequências de aminoácidos que, geram peptídeos por hidrólise enzimática ou fermentação (ZAVAREZE, et al., 2009).

“Quando liberados, os peptídeos derivados das proteínas lácteas podem resultar em efeito fisiológico benéfico” (GOBBA et al., 2014). Uma vez ativos, os peptídeos podem exercer efeitos anti-hipertensivo, antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, entre outros. As proteínas do soro de leite ainda podem exercer vários efeitos benéficos sobre o sistema cardiovascular graças às suas propriedades redutoras (por exemplo, a cisteína estimulando a síntese de glutathione) e sequestrantes de radicais livres (glutathione, lactoferrina, lactoperoxidase), que são também inibidores da lipoxidação das lipoproteínas e artérias. Os peptídeos derivados da lactoferrina mostraram atividade anticoagulante, inibindo a agregação de plaquetas (DOSSIÊ..., 2017).

Dessa forma, tanto o soro lácteo caprino quanto o bovino apresentam valor nutricional que conferem atividades benéficas ao hospedeiro. Igualmente, os microrganismos que exercem efeito fisiológico, conhecidos como probióticos, podem ser utilizados para obter

como produto final, bebidas lácteas com potencial funcional e nutricional (NOGUEIRA, GONÇALVES, 2011).

O objetivo do estudo em questão é avaliar diferentes produtos lácteos em função da atividade proteolítica, bem como apresentar a técnica mais adequada para identificação das frações proteicas, a depender do peso molecular destas ao serem estudadas. Para fins de avaliação do efeito da fermentação sobre as proteínas lácteas, estas frações são comumente determinadas através de eletroforese em gel de poliacrilamida-dodecilsulfato de sódio-SDS-PAGE (DONKOR et al., 2007).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o perfil proteico de bebidas lácteas, uma produzida apenas com soro em pó de queijo caprino e outra com soro lácteo, leite em pó e polpa de jambolão (*Syzygium cumini*), ambas adicionadas de *Lactobacillus rhamnosus*.

2.1 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- a) comparar a atividade proteolítica da cultura probiótica nos diferentes produtos lácteos durante a fermentação e ao longo do armazenamento;
- b) avaliar a influência dos diferentes ingredientes utilizados;
- c) comparar as técnicas de coloração por Coomassie Brilliant Blue e nitrato de prata nos géis contendo as amostras do tratamento com soro, leite e jambolão.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Alimento funcional

Os alimentos funcionais vêm tomando a frente do mercado nos últimos anos como medida de prevenção de doenças e buscando conscientizar a população para uma alimentação mais saudável. O alimento funcional pode ser definido como alimentos e/ou parte deles que oferecem benefícios na prevenção de doenças, além de influenciar nos parâmetros metabólicos de doenças crônicas, como as cardiovasculares, e por estas razões, vem sendo alvo crescente no mercado mundial (GIANEZINE et al., 2012; MANTHOU et al., 2014; PEREIRA, 2016).

O leite se destaca como um alimento rico em nutrientes, sendo o “único alimento que satisfaz às necessidades nutricionais e metabólicas do recém-nascido de cada espécie” (DOSSIÊ..., 2017). Uma vez comparado o leite bovino com o caprino, cerca de 40% de pacientes sensíveis as proteínas do leite de vaca toleram a proteína do leite de cabra. O conteúdo mineral, especialmente de ferro é superior, podendo ajudar na prevenção da anemia ferropriva. A expressiva produção de leite e a aceitação do consumidor por grande número de produtos lácteos, possibilitam o desenvolvimento de diversos tipos de queijo, os quais geram como subproduto o soro, que corresponde entre 85% e 95% do volume total de leite. Esse soro também é obtido a partir da fabricação de caseína ou produtos lácteos similares (DRAGONE et al., 2009; BARBOSA et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2013).

A composição proteica do leite é formada por caseínas e proteínas do soro. A caseína tem característica anfipática. É formada por micelas que contém subunidades α_{s1} , α_{s2} e β , além de nanopartículas de fosfato de cálcio coloidal. Também contém κ -caseína que está localizada preferencialmente na superfície da micela. Sendo assim, a caseína confere estabilidade térmica ao leite (BRASIL et al., 2015; DALGLEISH, 2011). Quando há a produção de queijo, ocorre a precipitação das micelas de caseína por ação das endopeptidases que hidrolisam a ligação peptídica entre a fenilalanina (105) e a metionina (106) da cadeia peptídica da κ -caseína. Dessa forma, a capacidade estabilizante é eliminada e são gerados como produtos uma porção hidrofóbica, a p - κ -caseína, e uma hidrofílica, o glicomacropéptido ou caseínomacropéptido. Os dois tipos de coagulação resultam na separação da fração insolúvel do leite da porção solúvel. Esta última contém as proteínas do soro que são encontradas em menor concentração no leite (POPPI, et al., 2010).

O soro lácteo é considerado um alimento rico nutricionalmente, em virtude de seu excelente perfil de aminoácidos essenciais que caracteriza suas proteínas como de alto valor biológico. Além disso, essas proteínas podem gerar peptídeos bioativos (exorfinas, imunopeptídeos e fosfopeptídeos) que conferem diferentes propriedades funcionais (HARAGUCHI et al., 2006). As principais proteínas do soro de leite são β -Lg, α -La, imunoglobulina G (IgG), SA e a lactoferrina (LF). No caso do soro de queijo de coagulação enzimática, o caseinomacropeptídeo (CMP) ou glicomacropeptídeo (GMP) também está presente (OLIVEIRA, et al., 2009).

Uma das propriedades funcionais fisiológicas mais estudadas e importantes das proteínas do soro do leite se relaciona com o seu poder imunomodulador. As imunoglobulinas do leite permanecem quase que integralmente no soro e continuam a desempenhar uma função importante, não somente no sistema gastrointestinal, mas sistemicamente em todo o organismo (DOSSIÊ..., 2017). Por apresentar esses componentes, o aproveitamento desse resíduo líquido é uma alternativa para obtenção de novos produtos lácteos.

3.2 Alimento probiótico

Com o passar dos anos, a alimentação humana está se tornando cada vez mais deficiente dos elementos essenciais que o organismo necessita para suprir suas atividades. O que corrobora em grande parte para este fato é o consumo de *fast food*, devido à sua praticidade de seu preparo. Uma vez que esse tipo de alimentação tem sido feita frequentemente, a população vai se tornando cada vez mais susceptível às doenças. Com o intuito de amenizar esse quadro de enfermidades, uma alternativa é a utilização de probióticos em produtos lácteos, em que tratam-se microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde humana. Segundo informações da literatura, para um produto probiótico poder exercer efeito fisiológico, “a quantidade mínima viável da cultura deve estar entre 10^8 a 10^9 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por porção do produto.” (PEREIRA et al., 2017).

Há uma diversidade de probióticos utilizados para produção de alimentos funcionais, entre os probióticos mais comumente usados são as espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. O gênero *Lactobacillus* destaca-se no grupo de microrganismos denominado de bactérias lácticas. Tais microrganismos foram utilizados para a conservação de alimentos mediante fermentação durante milhares de anos; podem exercer uma função dupla, atuando como agentes fermentadores de alimentos, podendo também gerar efeitos benéficos à saúde.

No estudo de Varga (2014), foi avaliada a viabilidade de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* e *Streptococcus thermophilus* em produtos lácteos durante o armazenamento, verificando que uma vez essas cepas associadas à bebida láctea proporcionam efeitos fisiológicos. Efeitos estes que estão ligados diretamente com a microbiota intestinal, os probióticos têm a capacidade de aderir à mucosa intestinal, se multiplicam e colonizam, ao menos temporariamente, o trato gastrointestinal humano, a capacidade de produzir compostos antimicrobianos e de exercer atividade metabólica no intestino (CASAROTTI; PENNA, 2015; RAIZEL et al., 2011; RANADHEERA et al., 2014).

3.3 Peptídeos bioativos

O soro lácteo trata-se de um derivado do leite que atua como veículo para formação de peptídeos bioativos; tanto nele puro, quanto associado a cepas bacterianas ou fermentado, existem uma variedade de peptídeos bioativos que se encontram inseridos na sequência daquelas proteínas. Para produção de peptídeos bioativos a partir do soro de queijo, faz-se necessário que as proteínas do soro sejam concentradas e hidrolisadas. Os hidrolisados obtidos devem ser conservados sem desnaturação (SPADOTI et al, 2006). A hidrólise controlada da proteína precursora leva à liberação destes peptídeos bioativos, que têm um papel importante em diversas áreas (SANCHES, 2015). Estes peptídeos podem atuar como agentes antimicrobianos, anti-hipertensivos, reguladores da função imune, assim como fatores de crescimento (DOSSIÊ..., 2017).

Embora a maioria dos peptídeos de soro com atividade biológica sejam liberados por hidrólise enzimática, a fermentação microbiana também pode ser usada para essa finalidade. O aumento da disponibilidade de concentrados proteicos de soro no mercado e a generalização da tecnologia de fermentação tem ajudado a promover o interesse pela produção de peptídeos bioativos por fermentação microbiana como uma alternativa às rotas enzimáticas (MADUREIRA et al., 2010).

3.4 Bebida láctea adicionadas de frutas

Diante das vantagens que os probióticos desenvolvem para obtenção de produtos lácteos, uma estratégia para agregar valor nutricional, bem como melhorar as características do produto final é o uso de polpa de frutas. Desse modo, as frutas têm sido estudadas por sua composição de minerais, carboidratos, vitaminas, fibras e atividade antioxidante. Além disso,

o Brasil apresenta uma grande variedade de espécies frutíferas que podem ser exploradas para estes recursos.

As frutas por conterem antioxidantes naturais na sua composição, quando adicionada em alimentos controlam o excesso de radicais livres e aumentam a capacidade antioxidante e, além disso, podem substituir os antioxidantes sintéticos, como o butil hidroxitolueno (BHT), 3,5-di-terc-butil-4-hidroxitolueno, e o butil hidroxianisol (BHA), o qual é uma mistura dos isômeros 2-terc-butil-4-hidroxianisol e 3-terc-butil-4-hidroxianisol, que agem como sequestradores de radicais livres, e são bastante utilizados na indústria alimentícia (RAMALHO; JORGE, 2006).

Guedes et al. (2013) avaliaram a viabilidade de frutas e hortaliças em bebidas lácteas e concluíram que a bebida com graviola apresentou baixo teor lipídico, além de apresentar maior teor de proteínas e minerais. Já Rocha et al. (2016) verificaram que a polpa de coquinho azedo aumentou o valor nutritivo e as características sensoriais do produto lácteo. Araújo e Barbosa (2015) utilizaram a polpa de umbu e observaram que o produto obteve boa aceitação sensorial e intenção de compra após 25 dias de armazenamento.

Ainda há frutas que passam despercebidas pela população por falta de conhecimento nutricional e por isso não são valorizadas. No Nordeste brasileiro, o umbu (*Spondias tuberosa* Arruda) apresenta excelente capacidade produtiva e características nutricionais relevantes, especialmente como fonte de ácido ascórbico, além de substâncias biologicamente ativas, como clorofila, carotenoides e flavonoides (OLIVEIRA et al., 2013). O mesmo se aplica para o jambolão (*Syzygium cumini*), uma fruta apreciável por conter compostos fenólicos e vitamina C (COSTA et al., 2013), além de sua capacidade antioxidante e quantidade considerável de antocianinas (ARAÚJO, 2014; BANERJEE et al., 2005; FARIA, et al., 2011; RUFINO et al., 2010; VEIGAS et al., 2007).

Especificamente, o jambolão é uma fruta da família Myrtaceae, oriunda da Ásia tropical, mais precisamente da Índia, que se adaptou ao clima brasileiro, onde é conhecida popularmente como azeitona preta, jamelão, jambú, entre outros nomes (VIZZOTO; PEREIRA, 2008). É uma fonte importante de ácidos fenólicos (como o ácido elágico) e flavonoides (como a quercetina, rutina e antocianinas, os últimos sendo corantes naturais). Dentre as antocianinas, destacam-se a delfinidina-3-glicosídeo, a petunidina-3-glicosídeo e a malvidina-3-glicosídeo (LIMA et al., 2007; MIGLIATO et al., 2007; REYNERTSON et al., 2008). Segundo Araújo (2014) e Shaib et al. (2013), esta fruta é considerada uma fonte de alto rendimento, pois é 80% comestível, podendo ser ingerida e processada junto com a casca.

Neste estudo, foi utilizado o fruto do jambolão para a obtenção de uma bebida láctea como forma de agregar valor nutricional e valorização do fruto da região do Nordeste, uma vez que este pode ser mais bem aproveitado, sem desperdícios em sua safra, além de ser melhor apreciado pela população.

3.5 Eletroforese em gel SDS-PAGE

Eletroforese é uma técnica que faz com que moléculas migrem através de um gel ou um campo elétrico, em que estas se separam formando bandas de acordo com seu peso molecular. Usualmente, as moléculas aplicadas a esse procedimento são ácidos nucleicos, proteínas e plasmídeos (BONATTO, 2000).

A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida é um processo em que é aplicado um campo elétrico sobre a malha do gel, fazendo com que as proteínas separem-se de acordo com seu peso molecular através no gel de poliacrilamida, na presença de dodecil-sulfato de sódio (SDS-PAGE). Segundo Davis (2012), o gel é uma matriz constituída de polímeros de acrilamida com ligações cruzadas de N-N-metilbisacrilamida. O sistema é formado por dois géis: o gel de empilhamento, no qual as proteínas ficam concentradas em bandas de modo compacto e o gel de separação, em que ocorre a separação das proteínas de acordo com o peso molecular. A porosidade dos géis é realizada de acordo como a amostra se adequa para ser separada. As porcentagens usuais são 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15% e 17,5%, de modo que quanto maior a concentração de acrilamida, menores serão os poros do gel resultante.

O persulfato de amônio é utilizado para gerar radicais livres, e o TEMED (tetrametiletilenodiamina) é o catalisador que auxilia na transferência do elétron do radical livre. O uso do dodecil-sulfato de sódio (SDS) é feito para que a separação dependa apenas da massa molecular da proteína, e não de sua forma e carga nativa. Como o SDS é um detergente aniônico que interage com as cadeias peptídicas das proteínas, ocorre a desnaturação das proteínas e a formação de um complexo de SDS-proteína, carregado negativamente. Ao aplicar a corrente elétrica, todas as proteínas, então com a mesma carga, migram em direção ao eletrodo positivo e são separadas somente pelas diferenças entre as suas massas molares. As proteínas menores migram mais rapidamente enquanto as maiores têm mais dificuldade de atravessar a malha do gel e, portanto, movem-se mais lentamente (DAVIS, 2012).

3.6 Coloração por Coomassie Brilliant Blue e nitrato de prata

Após realização da corrida do gel de eletroforese, para as frações protéicas serem detectadas é necessário aplicar uma coloração. Diversos métodos de coloração de géis podem ser usados para visualizar as proteínas separadas. Após uma etapa inicial de fixação das proteínas no gel, geralmente usando uma mistura de etanol e ácido acético, as proteínas são coradas. Os métodos mais utilizados são a coloração por Coomassie Brilliant Blue, por prata e por fluorescência (DAVIS, 2012).

Segundo Patton (2002), durante a coloração, há um equilíbrio entre as partículas coloidais e o corante livremente disperso, em que o corante penetra na matriz do gel e de preferência mancha-o. A coloração por Coomassie é o método menos sensível em relação aos últimos citados, detectando proteínas na faixa de 30-100 ng. Diferentemente do Coomassie, a coloração por prata apresenta maior sensibilidade na faixa de 0,1 ng de proteína por ponto proteico. O gel que foi aplicado a coloração de Coomassie pode ainda ser corado com prata, a fim de obter uma revelação mais nítida do componente proteico.

4 METODOLOGIA

4.1 Matérias-primas

Soro de queijo, leite em pó desnatado (Molico, Nestlé), soro de queijo de cabra em pó fornecido pela Embrapa Caprinos e Ovinos (Sobral), β -galactosidase, açúcar, jambolão, cultura iniciadora de *Streptococcus thermophilus* (TA 40, DuPont) e cultura probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* (Lr-32, DuPont).

4.2 Preparo do produto lácteo de soro em pó de queijo de cabra

4.2.1 Obtenção das amostras de soro atomizado em pó

O soro utilizado na fabricação dos produtos foi fornecido pela Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada na cidade de Sobral-CE. O soro utilizado para a secagem foi obtido a partir do processamento de queijo tipo coalho de cabra. O soro passou por secagem através do mini atomizador Büchi, modelo B-290, empregando-se temperatura de entrada de 160 °C, temperatura de saída de 90-92 °C, fluxo de ar em condições normais de temperatura e pressão igual a 667 L/h e velocidade de bombeamento igual a 25 ml/min.

4.2.2 Preparo do soro reconstituído para a elaboração do produto lácteo caprino

O soro de queijo de cabra tipo coalho em pó foi reconstituído em água destilada (20 %, m/m). Em seguida, foi tratado termicamente a 85°C por um período de 30 minutos e resfriado até 45°C para adição das culturas lácticas (ORDÓÑEZ-PEREDA et al., 2005). As culturas utilizadas para as formulações foram: *Streptococcus thermophilus* (TA 40) e *Lactobacillus rhamnosus* (Lr-32, DuPont).

4.2.3 Etapas de fermentação e adição das culturas

O soro reconstituído foi adicionado da cultura de *Streptococcus thermophilus* TA 40 na proporção de 0,003 g/100 g e da cultura probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32 na proporção de 0,02 g/100 g. Depois de adicionadas as culturas lácticas, o soro reconstituído foi

incubado a 45 °C em estufa microprocessada até atingir acidez entre 0,5 a 0,6 g de ácido láctico/100 g. Após a fermentação, os produtos foram armazenados sob refrigeração a 4 °C por 7 dias.

4.3 Preparo da bebida láctea com jambolão

4.3.1 Obtenção dos frutos de jambolão

Os frutos de jambolão foram coletados no estado da Paraíba no período de sua safra. Estes frutos foram selecionados, lavados e higienizados com hipoclorito de sódio a 200 mg/L. Após trituração e pasteurização, foram imediatamente congelados a -18 °C.

4.3.2 Obtenção do soro de queijo para a elaboração da bebida láctea com jambolão

O soro lácteo foi obtido a partir do processamento de queijo de Minas frescal, no Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos da Universidade Estadual da Paraíba. O soro coletado foi tratado termicamente e armazenado a -18 ± 3 °C até o momento do seu uso para o preparo da base láctea.

4.3.3 Preparo da base láctea para bebida láctea com jambolão

O soro, após seu descongelamento sob refrigeração a 4 ± 1 °C, foi transferido para frascos de vidro de borosilicato e aquecido a 85 °C por 5 min para inativação das enzimas do coagulante utilizado na fabricação de queijos. Após isso, foi adicionado leite em pó desnatado (Molico, Nestlé) e açúcar granulado (Estrela, Biosev), ambos na proporção de 8 g/100 g. A mistura foi agitada até a completa dissolução dos ingredientes e tratada termicamente a 85 °C por 30 min. Em seguida, resfriou a base láctea em temperatura de 45 °C para adicionar a enzima β -galactosidase na proporção de 0,05 g/100g mantida sob incubação (45 °C) por 24h.

4.3.4 Etapas de fermentação e adição das culturas

Após 24h com a enzima, a base láctea foi adicionada da cultura de *Streptococcus thermophilus* TA 40 na proporção de 0,003 g/100 g e da cultura probiótica de *Lactobacillus rhamnosus* Lr-32 na proporção de 0,02 g/100 g. A base láctea foi fermentada a 43 ± 2 °C ao

atingir acidez superior a 0,7 g de ácido láctico/100 g, sendo imediatamente adicionada da polpa de fruta (jambolão) na proporção de 15 g/100 g de produto final.

4.4 Períodos de amostragem

A amostra de soro reconstituído de cabra foi coletada para os seguintes tratamentos: soro fluido *in natura* (GSF1, GSF2 e GSF3), antes da adição das culturas (GSR), após a adição das culturas antes do início da fermentação (GTI), ao final da fermentação (GTF), e após 1 e 7 dias de armazenamento a 4°C (GD1 e GD7, respectivamente), em que “G” está relacionado com *goat* (cabra). Todas as análises foram realizadas a partir de amostras previamente congeladas a -18°C nos períodos de amostragem mencionados.

Para a bebida com jambolão os períodos de amostragem foram avaliados nos produtos congelados a -18°C em CTI e CTF e ao longo do armazenamento em CD1, CD7, CD14 e CD21, em que “C” está relacionado com *cow* (vaca).

4.5 Análise proteolítica

Para a análise eletroforética foi utilizado o sistema PAGE-SDS-2β-mercaptoetanol descrito por Laemmli (1970) e Donkor (2007), adaptado para o uso de géis de separação em placas (10,5 × 10 × 0,4 cm) (Hoefler SE250).

No produto de soro de queijo caprino, a análise eletroforética realizou-se nos seguintes tempos: soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2 e GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* e *L. rhamnosus* antes da fermentação, após a fermentação e após 1 e 7 dias de armazenamento (GTI, GTF, GD1 e GD7, respectivamente). O gel de aplicação contendo 6% de poliacrilamida e foi montado em tampão Tris-HCl 0,6 M, pH 6,8 e o gel de separação, com gradiente de 17,5% de poliacrilamida, será montado em tampão Tris-HCl 3,77 M, pH 8,9.

No produto com jambolão, a análise eletroforética foi realizada na amostra adicionada de *S. thermophilus* e *L. rhamnosus* nos tempos iniciais e finais de fermentação (CTI e CTF, respectivamente) e após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento (CD1, CD7, CD14 e CD21, respectivamente). O gel de aplicação contendo 5% de poliacrilamida e ser montado em tampão Tris-HCl 0,6 M, pH 6,8, e o gel de separação, com gradiente de 15% de poliacrilamida, será montado em tampão Tris-HCl 3,77 M, pH 8,9.

As amostras de ambos os produtos submetidas à eletroforese foram suspensas em tampão amostra composto de 5 ml de glicerol, 2,5 ml de Tris-HCl 0,6 M (pH 6,8), 2,5mg de azul de bromofenol, 0,3 ml de 2- β -mercaptoeptanol, 5ml de solução de SDS a 10%, completando o volume para 25 ml com água deionizada. As amostras, foram preparadas de tal forma que apresentem de 2 a 4 mg de proteína/ml de tampão da amostra. Posteriormente, foram tratadas a 100 °C por 10 min e centrifugadas em centrífuga Parsec (modelo CT 0603) a 3.000 rpm por 2 min. O sobrenadante foi separado e alíquotas de 10 μ l foram aplicadas nos poços do gel.

Para avaliar o peso molecular das unidades proteicas separadas, o gel contendo a bebida láctea caprina foi calibrado com marcador proteico contendo 12 proteínas de pesos moleculares 200; 116; 97; 66; 55; 45; 36; 29; 24; 20; 14,2 e 6,5 kDa (SigmaMarker Wide Range 6.500-200.000 Da, Sigma-Aldrich). Foi reconstituído com 100 μ l com água ultrapura e solubilizado no vórtex, em seguida foi subdividido em alíquotas de 10 μ l em eppendorfs.

Enquanto que para bebida láctea com jambolão, o padrão foi preparado utilizando as proteínas IgG (IgG from Goat Serum I9140, Sigma, 0,025 mg/10 μ L), α -La (α -Lactalbumin from bovine milk L5385, Sigma, 0,025 mg/10 μ L), β -Lg (β -Lactoglobulin from bovine milk L3908, Sigma, 0,025 mg/10 μ L) e SA (Bovine Serum Albumin A2153, Sigma, 0,025 mg/10 μ L), seguindo-se o tratamento com o tampão para desnaturar as proteínas. Foram utilizados 10 μ L de proteína padrão por poço.

Para o produto lácteo de soro em pó de queijo de cabra, a corrida eletroforética foi realizada em tensão constante de 200 V e 60 mA, considerando dois géis, sendo 30 mA para cada gel. Já para a bebida láctea com jambolão e as respectivas bases lácteas, a corrida eletroforética também foi realizada em dois géis, tensão constante de 600 V e 50 mA, sendo 25 mA para cada gel a 4 °C utilizando sistema de circulação de água sob refrigeração (Hoefler RCB20-Plus).

A corrida foi encerrada quando a linha do corante azul de bromofenol atingiu a distância de aproximadamente 1 cm do término do gel. Após a eletroforese, os géis foram corados em azul de Coomassie R-250 a 0,1% por uma noite, preparado em metanol, ácido acético e água (4:1:5, v/v/v), e descorado com metanol, ácido acético e água (4:1:5, v/v/v). Depois desse tratamento, os géis foram corados também com nitrato de prata e revelados com solução reveladora composta de 6g de carbonato de sódio, 50 μ l de formaldeído, 2 ml de tiossulfato de sódio a 20%. Para parar a revelação, foi utilizado ácido acético 13%.

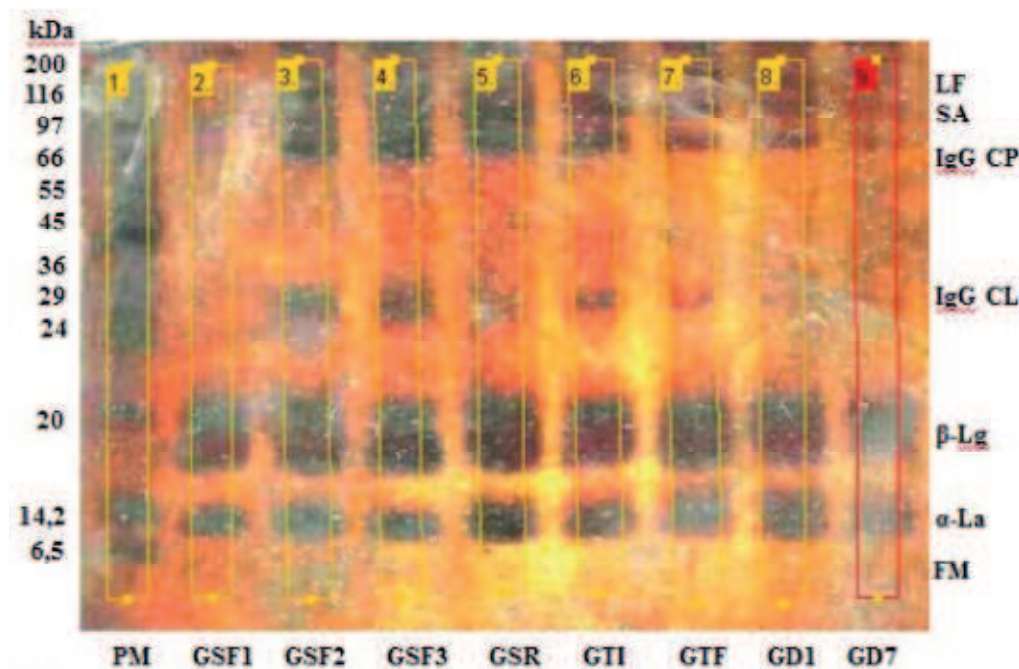
Os géis corados foram fotografados em *scanner* e as imagens obtidas foram processadas através do programa GelAnalyzer.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinação da atividade proteolítica do produto lácteo caprino

A análise eletroforética em sistema SDS-PAGE, gel 17,5%, das proteínas presentes no soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2 e GSF3), soro em pó caprino reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7), juntamente com o padrão de peso molecular Sigma - S8445 (PM) é apresentada na Figura 1.

Figura 1 – Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 17,5% nas amostras de soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2 e GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7) corado por nitrato de prata.



Fonte: dados da pesquisa. IgG CP(cadeia pesada); IgG CL (cadeia leve); FM(frações menores).

Na Figura 1 é apresentado o gel, no qual foram identificadas as bandas das proteínas LF, SA, IgG, β-Lg, α-La nas regiões de, aproximadamente, 86,1 kDa, 67 kDa, 52 kDa, 18,4 kDa e 14,3 kDa, respectivamente (CASPER et al., 1998; SGARBIERI, 2005). Outras frações proteicas também foram identificadas. A banda referente à região de aproximadamente 24

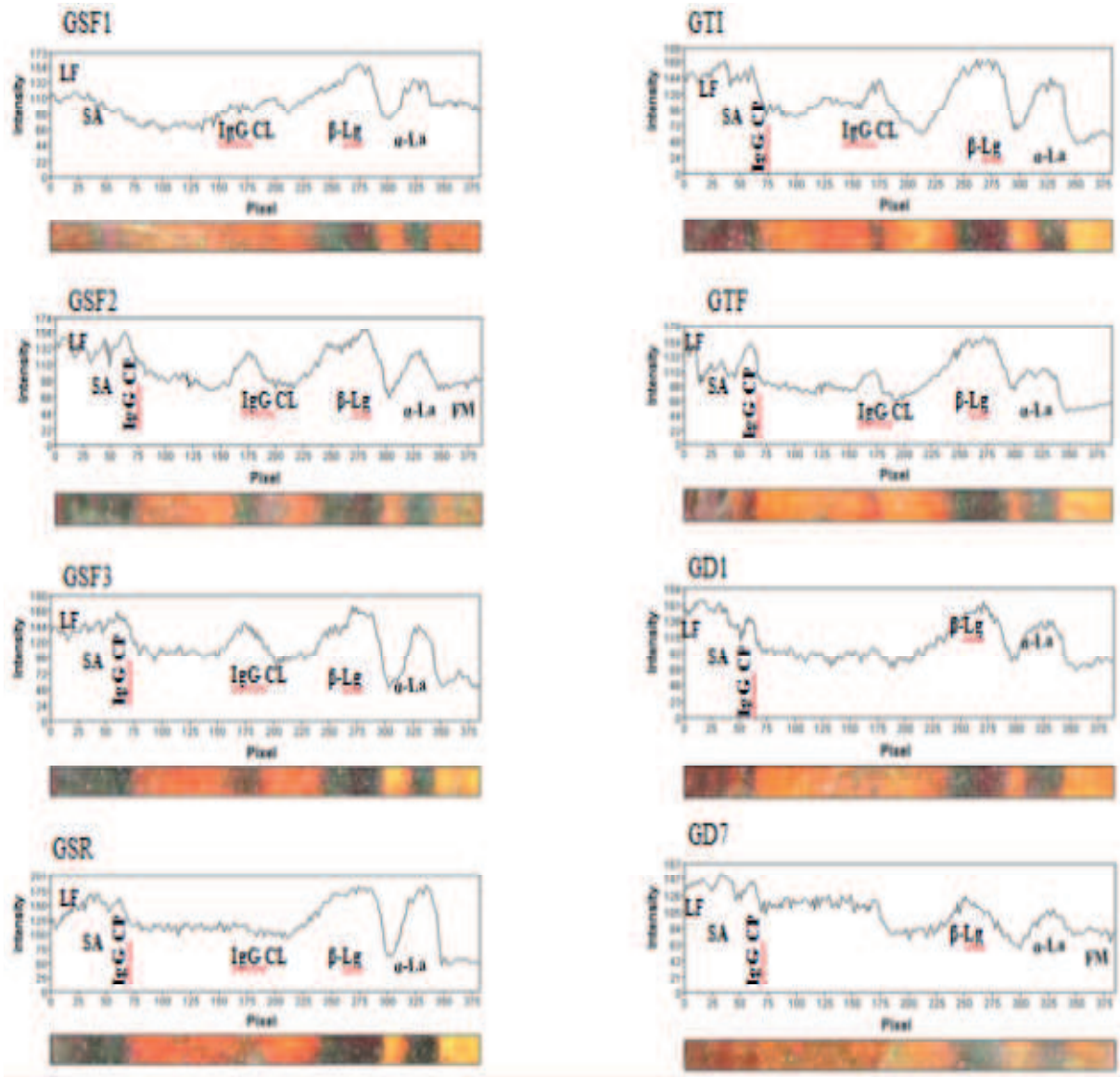
kDa, possivelmente à fração de cadeia leve da imunoglobulina G (IgG), apresentou diminuição na intensidade da cor a partir do tempo inicial de fermentação (GTI), que tornou-se quase que inexistente no último dia de armazenamento (D7), como resultado da degradação proteica no produto fermentado, provavelmente pela ação das bactérias lácticas utilizadas. Nobre (2015) avaliou a atividade da co-cultura de *Lactobacillus casei* BGP93 com *S. thermophilus* TA40 sobre as proteínas do soro em gel 17,5%. De modo similar ao presente estudo, foram encontradas pela autora naquela análise as bandas equivalentes às proteínas LF, SA, IgG de cadeia pesada, IgG de cadeia leve, β -Lg e α -La.

No presente estudo, comparando as diferentes amostras de soro fluido *in natura* da bebida caprina (GSF1, GSF2, GSF3), pode-se observar que algumas frações proteicas sofreram alterações, possivelmente devido ao processamento utilizado e ao tratamento térmico, uma vez que o queijo tipo coalho caprino utilizado para a obtenção do soro é um queijo de massa semi-cozida (DANTAS, 2012). Pode ter ocorrido variação térmica durante o cozimento da coalhada, o qual resultaria em uma degradação das proteínas muito sensíveis às temperaturas empregadas. Segundo Nobre (2015), a temperatura de processamento pode resultar em modificação do perfil proteico em produtos lácteos.

Nas amostras GSF2 e GD7 verifica-se um aumento da intensidade de cor na região de massa molar menor que 14,3 kDa (frações menores= FM). Para GSF2, os peptídeos observados podem ter sido originados do caseínomacropéptido (CMP), proveniente do processo de coagulação do leite, uma vez que este se trata de um componente específico do soro (MARQUES et al., 2011). Em GD7, o aumento da quantidade de peptídeos pode ter ocorrido em função do metabolismo das bactérias lácticas utilizadas sobre as proteínas do soro durante o armazenamento refrigerado. Em relação ao pico correspondente à região de aproximadamente 24 kDa, observa-se que houve alteração entre o início e o término da fermentação (GTI e GTF, respectivamente) e ao longo do armazenamento (GD1 e GD7), provavelmente devido à ação do metabolismo das bactérias lácticas utilizadas, podendo ser visto na imagem do gel (Figura 1).

A análise densitométrica, gerada pelo programa Gel Analyzer, das proteínas presentes nas amostras de soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2 e GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7), analisadas por SDS-PAGE, estão apresentadas na Figura 2.

Figura 2 – Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE, presentes no gel 17,5% corado por nitrato de prata, das amostras de soro fluido *in natura* de queijo de cabra tipo coalho (GSF1, GSF2, GSF3), soro em pó reconstituído sem microrganismos (GSR) e adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (GTI), após a fermentação (GTF) e após 1 (GD1) e 7 dias de armazenamento (GD7).



Fonte: dados da pesquisa. . IgG CP(cadeia pesada); IgG CL (cadeia leve); FM(frações menores).

Na análise densitométrica houve formação de picos de acordo com o peso molecular que cada fração proteica apresenta, em que cada pico equivale a uma banda revelada no gel. Os densitogramas são utilizados para observar as alterações ocorridas de acordo com o processamento aplicado às amostras (NOBRE, 2015).

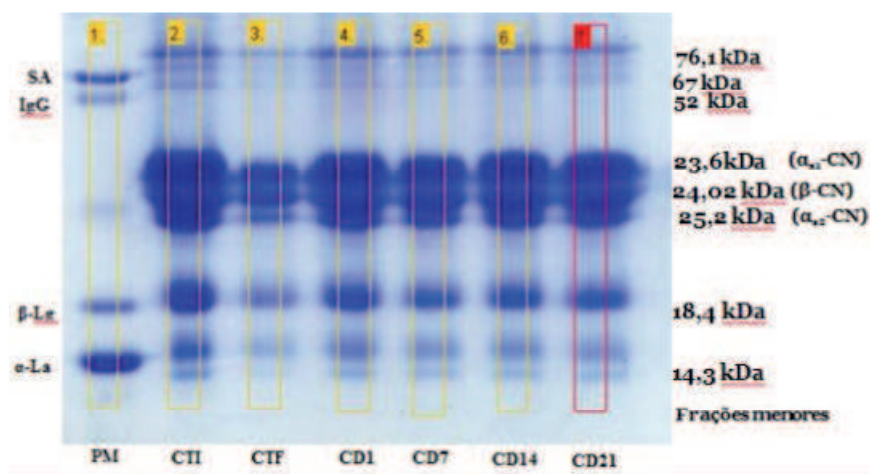
No densitograma apresentado na Figura 2, no período entre o início (GTI) e o término (GTF) da fermentação observa-se que houve leve modificação nos picos referentes às frações de β -Lg e α -La, entre a região próxima de 18 kDa e 14,2 kDa, respectivamente, havendo diminuição do pico da α -La. Tal comportamento perdurou durante o armazenamento até o último dia (GD7).

Dessa forma, observa-se que a degradação proteica observada nas diferentes amostras de origem caprina pode ter sido decorrente tanto dos processos térmicos (como ocorrido nos soros fluidos *in natura*), como fermentativo (entre GTI e GTF) e de armazenamento (entre GD1 e GD7).

5.2 Determinação da atividade proteolítica da bebida láctea com jambolão

As análises eletroforéticas em sistema SDS-PAGE, gel 15%, das proteínas presentes na base láctea sem lactose adicionada de *S. thermophilus* TA40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI) e após a fermentação (CTF), bem como nas bebidas lácteas sem lactose com jambolão após 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento (CD1, CD7, CD14 e CD21), juntamente com o padrão proteico com α -La, β -Lg, IgG e SA (Sigma), são apresentadas nas Figuras 3 e 4, respectivamente, para as colorações por Coomassie Blue e nitrato de prata.

Figura 3 – Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% nas amostras da bebida láctea com jambolão adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1), 7 (CD7), 14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em Coomassie Blue.

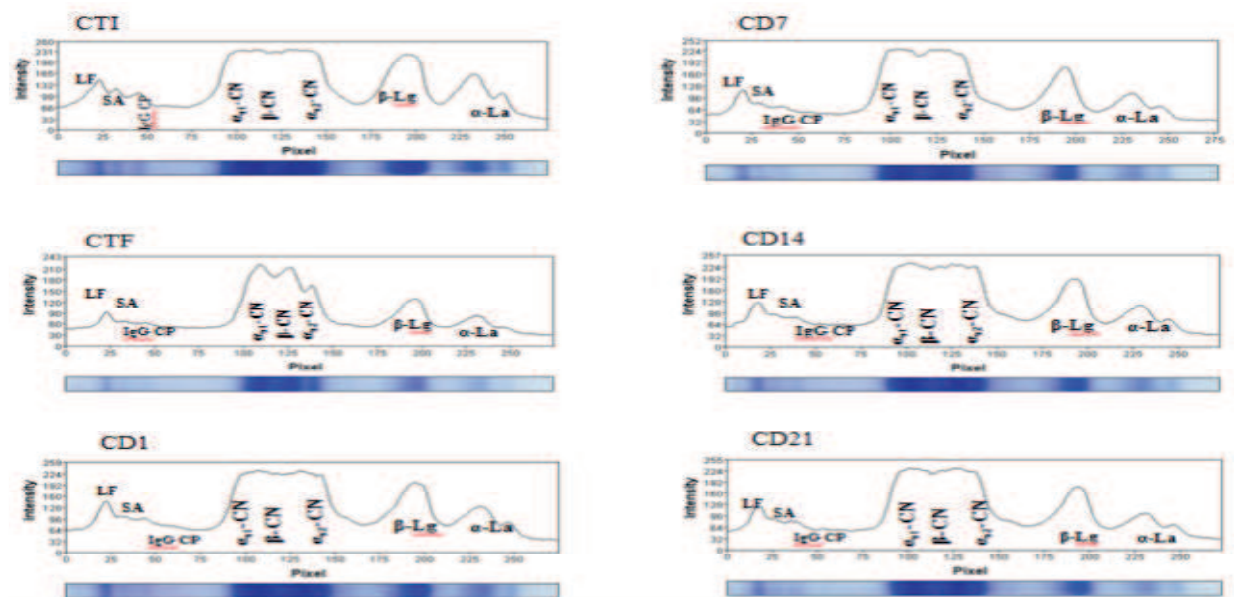


Fonte: dados da pesquisa.

De modo geral, todas as amostras apresentaram perfis proteicos similares revelados por Coomassie Blue (Figura 3). O gel nesta coloração revelou bandas relacionadas às proteínas do soro SA, IgG, β -Lg e α -La. Embora não tenha sido utilizado o padrão proteico para a LF, esta também foi revelada no gel uma vez que para produtos de leite de vaca esta proteína é revelada na região de 76,1 kDa (FARRELL et al., 2004). Ainda considerando a Figura 3, verifica-se no gel que as amostras apresentaram a proteína α -La subdividida; este comportamento também foi observado em outros estudos (CONWAY; GAUTHIER;POULIOT, 2010).

Além das proteínas do soro, também foram reveladas as frações de β -caseína (β -CN), α_{s1} (α_{s1} -CN) e α_{s2} -caseína (α_{s2} -CN) em todas as amostras de base láctea e de bebida láctea com polpa de jambolão, as quais podem ser observadas nitidamente. Embora não foram utilizadas caseínas como marcadores de peso molecular neste estudo, sabe-se que as frações β -CN, α_{s1} -CN e α_{s2} -CN são reveladas nas regiões de 24,02 kDa., 23,6 kDa e 25,2 kDa, respectivamente (FARRELL, 2004). Todavia, nos densitogramas gerados a partir deste gel (Figura 4), as frações de caseína apresentaram-se na forma de um pico intenso, o que pode ser caracterizado pela proximidade dos pesos moleculares das mesmas.

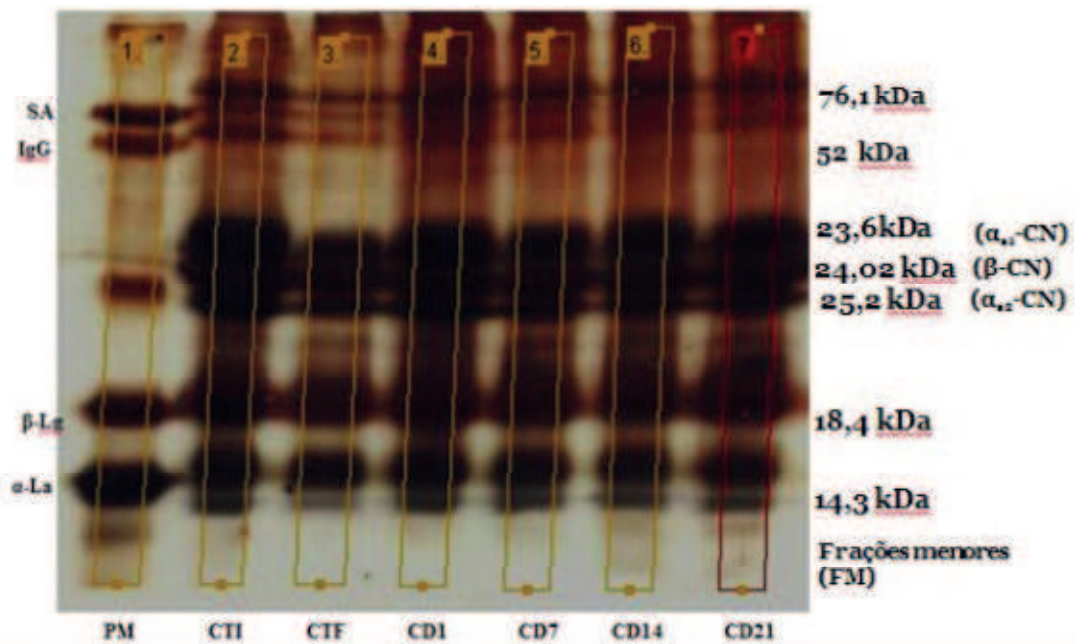
Figura 4 – Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% , nas amostras da bebida láctea bovino com jambolão adicionada de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em Coomassie Blue.



Fonte: dados da pesquisa. IgG CP (cadeia pesada).

De acordo com estudos, a coloração por Coomassie é um método menos sensível, detectando proteínas na faixa de 30-100 ng. Entretanto, apresenta como vantagem a praticidade e o tempo menor de realização da coloração por ser uma técnica simples (DAVIS, 2012; PATTON, 2002). Como forma de observar melhor outras modificações proteicas, o gel corado por Coomassie foi submetido à outra coloração, por nitrato de prata, a fim de obter uma revelação mais nítida de outros componentes (Figura 5).

Figura 5 – Análise eletroforética das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% nas amostras da bebida láctea com jambolão adicionado de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1), 7 (CD7), 14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em nitrato de prata.

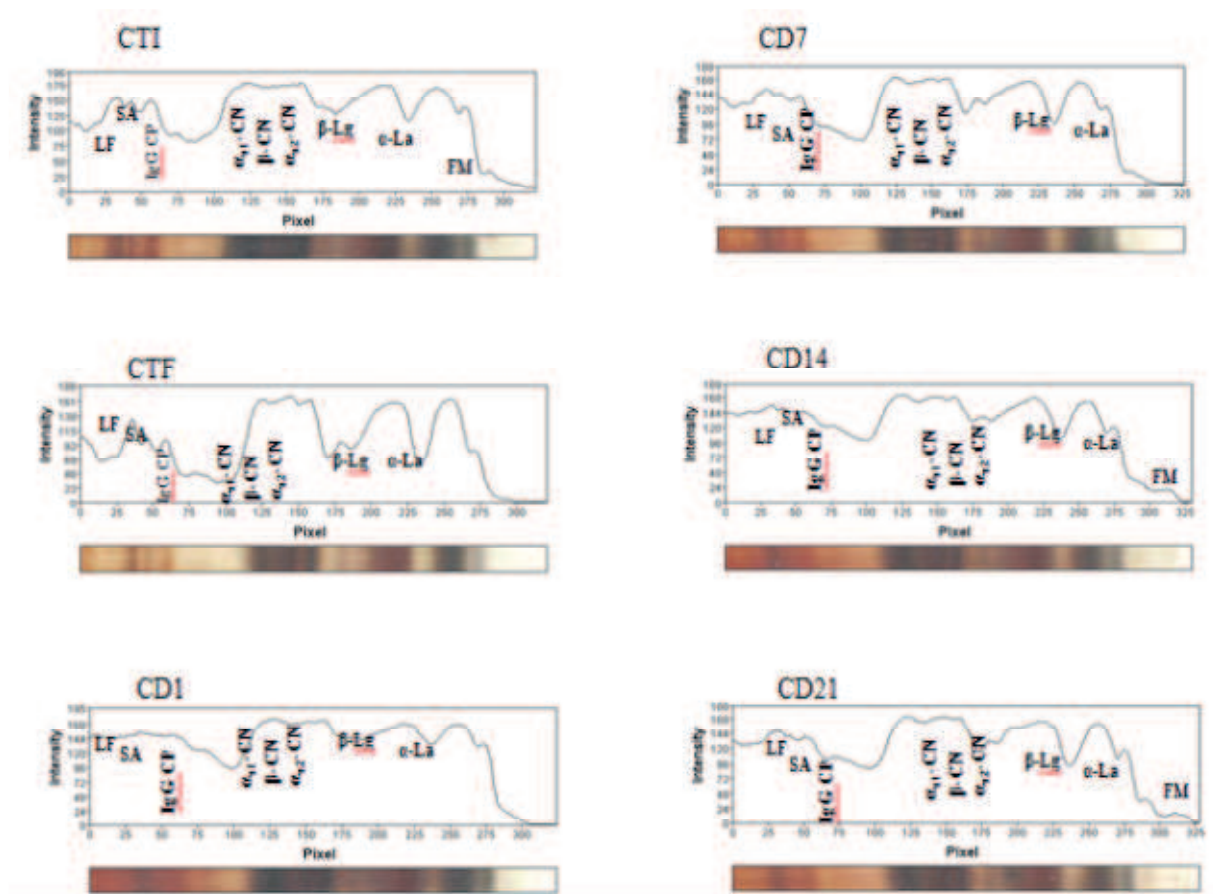


Fonte: dados da pesquisa.

Na Figura 5, referente ao gel com nitrato de prata, verifica-se que algumas amostras apresentaram peptídeos de peso molecular menor que 14,3 kDa. Na base láctea antes da fermentação (CTI), estes peptídeos são provavelmente oriundos do caseínomacropéptido (CMP) provenientes do processo de coagulação do leite (MARQUES, et al., 2011), do mesmo modo que o observado para a amostra GSF2, de soro caprino. Para CD14 e CD21 também foi possível verificar as bandas de pesos moleculares menores (peptídeos < 14,2 kDa), gerados, neste caso, a partir do metabolismo das bactérias lácticas, assim como o observado para a amostra GD7 de origem caprina. Sanches (2015) também observou a evolução do perfil

polipeptídico das frações proteicas com massas moleculares compreendidas entre 3 e 10 kDa durante a fermentação do soro de leite de vaca. Na Figura 5 também podem ser vistas nitidamente as subunidades β -CN, α_{s1} -CN e α_{s2} -CN. A análise densitométrica deste gel está apresentada na Figura 6.

Figura 6 – Análise densitométrica das bandas das proteínas obtidas por SDS-PAGE presentes no gel 15% , nas amostras da bebida láctea bovino com jambolão adicionada de *S. thermophilus* TA 40 e *L. rhamnosus* Lr-32, antes da fermentação (CTI), após a fermentação (CTF) e após 1 (CD1) , 7 (CD7),14 (CD14) e 21 (CD21) dias de armazenamento coradas em nitrato de prata.



Fonte: dados da pesquisa. IgG CP (cadeia pesada); FM (frações menores).

Nos densitogramas, as frações de maiores pesos moleculares referentes à LF e SA, após o processo de fermentação (CTF), apresentaram sobreposição destas bandas, enquanto que as demais foram reveladas de modo semelhante ao ocorrido com a coloração por Coomassie. Embora a coloração de prata seja mais sensível, com capacidade de detectar

proteínas na faixa de 0,1 ng de proteína por ponto proteico (DAVIS, 2012), há possibilidade de gerar coloração negativa em regiões saturadas de proteínas do gel, o que pode ter ocorrido na amostra em estudo. Nesse caso, foi verificado que a coloração por Coomassie é mais indicada para a detecção de frações proteicas de peso moleculares maiores, enquanto que a coloração de nitrato de prata é o método mais adequado para revelar o conteúdo proteico de menor peso molecular.

6 CONCLUSÃO

Com base no estudo realizado, através da técnica de eletroforese SDS-PAGE, foi possível observar o perfil proteico dos produtos lácteos caprino e bovino, bem como o efeito da presença apenas de soro e da ausência do leite (caseína). Ambos apresentaram as proteínas LF, SA, IgG, β -Lg e α -La, porém na bebida láctea com jambolão, por adição do leite em pó, foram identificadas as frações β -CN, α_{s1} -CN e α_{s2} -CN. Em algumas amostras também foram observadas proteínas de menores frações, provavelmente oriundas da liberação de peptídeos durante a coagulação enzimática, bem como pelo metabolismo resultante da associação dos microrganismos *S. thermophilus* e *L. rhamnosus* sobre as proteínas do soro. Vale ressaltar que adição do jambolão não influenciou no comportamento proteico da bebida láctea bovina.

Confrontando as bebidas lácteas, foi observado que os produtos lácteos caprino e bovino apresentaram modificações proteicas semelhantes durante a fermentação, porém o produto caprino sofreu maiores alterações ao longo de seu armazenamento, já identificada aos 7 dias, propiciando a formação de peptídeos, conforme as informações obtidas pela coloração por nitrato de prata. Portanto, evidencia-se que a coloração por nitrato de prata foi o melhor método para identificação de frações proteicas com massa molar reduzida.

REFERÊNCIAS

ALENISAN, M. A.; ALQATTAN, H. H.; TOLBAH, L. S.; SHORI, A. B. Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: a review. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 101-106, 2017.

ARAÚJO, N. G.; BARBOSA, F. F. Bebida láctea com leite caprino e soro caprino é alternativa para aproveitamento da polpa de umbu. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 2, p. 85-92, 2015.

ARAÚJO, A. L. M. **Polpa de jambolão (*Syzygium cumini*) desidratada por liofilização e secagem em leite de jorro**: caracterização físico-química e funcional e impacto da secagem. 2014, 111 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

ANAETO, M.; ADEYEYE, J. A.; CHIOMA, G. O.; OLARINMOYE, A.O.; TAYO, G. O. Goat products: meeting the challenges of human health and nutrition. **Agriculture and Biology Journal of North America**, v. 1, n. 6, p. 1231-1236, 2010. Disponível em: <<http://scihub.org/ABJNA/PDF/2010/6/ABJNA-1-6-1231-1236.pdf>> Acesso em : 05 jun. 2018.

BARBOSA, A.S.; FLORENTINO, E. R.; FLORÊNCIO, I. M. Utilização do soro como substrato para produção de aguardente: estudo cinético da produção de etanol. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 5, n. 1, p. 7-25, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.16, de 23 de agosto de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade bebida láctea. **Diário Oficial da União**, Brasília, 24 ago. 2005. Seção 1, p. 7.

BONATTO, A. C. **Clonagem, supeexpressão e purificação de uma proteína mutante de *Herbaspirillum seropedicae***. 2000. 57 f. Tese (Bacharel em Ciências Biológicas)– Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

BANERJEE, A.; DASGUPTA, N.; DE, B. In vitro study of antioxidante activy of *Syzygium cumini* fruit. **Food Chemistry**, New York, v. 90, n. 4, p. 727-733, 2005.

BORGES, K. C. **Estudo das características físico-químicas e funcionalidade de bagaços de frutas tropicais desidratadas em leite de jorro**. 2011. 156 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)– Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

CALDEIRA, L. A.; FERRÃO, S. P. B.; FERNANDES, S. A. A.; MAGNAVITA, A. P. A.; SANTOS, T. D. R. Desenvolvimento de bebida láctea sabor morango utilizando diferentes níveis de iogurte e soro lácteo obtidos com leite de búfala. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.10, p.2193-2198, 2010.

CANDIDO, L. M. B.; CAMPOS, A. M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 193-203, 2005.

CARVALHO, L. C. S. A. **Efeitos da suplementação com néctar de jamelão (*Syzygium cumini*) no estresse oxidativo, dano muscular e desempenho de atletas de handebol**. 2017. 119f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e nutrição)—Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

CASAROTTI, S. N.; PENNA, A. L. B.; Incorporation of fruit flours into fermented milk: acidification profile, viability of probiotics and gastrointestinal tolerance. **International Dairy Journal**, New York, v. 41, p. 1-6, 2015.

CASPER, J. L.; WENDORFF, W. L.; THOMAS, D. L. Seasonal changes in protein composition of whey from commercial manufacture of caprine and ovine specialty cheeses. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 81, n. 12, p. 3117-3122, 1998.

CORREIA, R. T. P.; MAGALHÃES, M. M. A.; PEDRINI, M. R. S.; CRUZ, A. V. F.; CLEMENTINO, I. Sorvetes elaborados com leite caprino e bovino: composição química e propriedades de derretimento. **Revista Ciências Agrônômicas** (Universidade Federal do Ceará), Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 251-256, 2008.

COSTA, P.; GARDIA-DIAS, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. I. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 5, n. 2, p. 539-549, 2013.

CONWAY, V.; GAUTHIER, S. F.; POULIOT, Y. Effect of cream pasteurization, microfiltration and enzymatic proteolysis on in vitro cholesterol-lowering activity of buttermilk solids. **Dairy Science & Technology**, France, v. 90, n. 4, 2010

DALGLEISH, D. G. On the structural models of bovine casein micelles: review and possible improvements. **Soft Matter**, [Cambridge], v. 7, n. 6, p. 2265–2272, 2011.

DANTAS, D, S. **Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, PB**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)—Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2012.

DAVIS, R. A. H. **Aspectos proteômicos e determinação de elementos-traço em bÍlis de peixe: potencial marcador biolÓgico de exposiÇão ambiental?** 2012. 131 f. Tese (Doutorado em QuÍmica)–Pontifícia Universidade CatÓlica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

DONKOR, O. N. Influence of probiotic organisms on release of bioactive compounds in yoghurt and soy yoghurt. 2007. 253f. Thesis of Doctor. **Victoria University**, [Melbourne], 2007.

DOSSIÊ proteínas do soro do leite: proteínas do soro do leite. **Revista Food Ingredients Brasil**, São Paulo, v. 19, n. 41, p. 26-30. Disponível em: <<http://revista-fi.com.br/artigos/proteinas-de-soro-de-leite/proteinas-de-soro-de-leite>> Acesso em: 09 abr. 2018.

DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; OLIVEIRA, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Characterization of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. **Food Chemistry**, New York, v.112, p.929-935, 2009.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidante capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, New York, v. 126, n. 4, p. 1571-1578,2011.

FARRELL JR, H. M.; JIMENEZ-FLORES, R.; BLECK, G. T.; BROWN. E. M.; BUTLER, J. E.; CREAMER, L. K.;HICKS, C. L.;HOLLAR, C. M.;NGKWAI-HANG,K. F.; SWAISGOOD, H. E. Nomenclature of the proteins of cow's milk: sixth Revision. **Journal of Dairy Science**, New York, v. 87, n. 6, p. 1641-1674, 2004.

GIANEZINI, M.; ALVES, A. B.; TECEMAYER, C. A.; REVILLION, J. P. P. DiferenciaÇão do produto e inovaÇão da indÚstria agroalimentar: a inserÇão de alimentos funcionais no brasil. **Revista de AdministraÇão, Contabilidade e Economia**, São Paulo, v. 11, n. 1, p. 9-26, 2012.

GOBBA, C.D.; ESPEJO-CARPIO, F. J.; SKIBSTED, L. H.; OTTE, J.. Antioxidant peptides from goat milk protein fraction hydrolysed by two comercial proteases. **International Dairy Journal**, [Amsterdam], v.39, n.1,p.28-40, 2014.

GUEDES, A. F. L. M.; MACHADO, E. C. L.; FONSECA, M. C.; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. L. M. Aproveitamento de soro lácteo na formulaÇão de bebidas com frutas e hortaliÇas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 4, p. 1231-1238, 2013

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 19, n. 4, p. 479-488, 2006.

HASSAN, A. M.; ABBAS, H. M.; ABD EL-GAWAD A.M. M.; ENAB, K.A. Goats dairy products as a potentially functional food. **Life Science Journal**, New York, v.11, n.9, p.648-657, 2014.

INTOLERÂNCIA à lactose. **Aditivos & Ingredientes**, São Paulo, n. 120, p. 12-37, jul. 2015. Disponível em: <http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201601/2016010849525001453484508.pdf> Acesso em: 07 abr. 2018.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage t4. **Nature**, London, v.227, n. 5259, p.689-695, 1970.

LEITE, M. T.; BARROZO, M. A. S.; RIBEIRO, E. J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus*. **International Journal of Chemical Engineering**, Amsterdam, v. 2012, n. 35, p.1-9, 2012.

LIMA, L. A.; SIANI, A. C.; BRITO, F. A.; SAMPAIO, A. L. F.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RIEHL, C. A. S. Correlation of anti-inflammatory activity with phenolic content in the leaves of *Syzygium cumini* (L.) skeels (Myrtaceae). **Quimica Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p.860-864, 2007.

MARQUES, F. M.; SÁ, J. F. O.; SANTOS, M. C.; MARTINS, M. F.; FURTADO, M. A. M. Caracterização de leite em pó, soro de leite em pó e suas misturas por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 473-479, 2011.

MADUREIRA, A. R.; TAVARES, T.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Invited review: physiological properties of bioactive peptides obtained from whey protein. **Journal of Dairy Science**, New York, v.93, n.2, 437-455, 2010.

MAGALHÃES, K. T.; DRAGONE, G.; PEREIRA, G. V. M.; OLIVEIRA, J. M.; DOMINGUES, L.; TEXEIRA, J. A.; SILVA, J. A.; SCHWAN, R. F. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. **Food Chemistry**, New York, v.126, p. 249-253, 2011.

MANTHOU, E.; KANAKI, M.; GEORGAKOULI, K.; DELI, C. K.; KOURETAS, D.; KOUTEDAKIS, Y.; JAMURTAS, A. Z. Glycemic response of a carbohydrate-protein bar with ewe-goat whey. **Nutrients**, Basileia, v. 6, p.1340-1349,2014.

MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORREA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Controle de qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L). Skeels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, v. 17, n. 1, p. 94-101, 2007.

MOREIRA, R. W. M.; MADRONA, G. S.; BRANCO, I. G.; BERGAMASCO, R.; PEREIRA, N. C. Avaliação sensorial e reológica de uma bebida achocolatada elaborada a partir de extrato hidrossolúvel de soja e soro de queijo. **Acta Scientiarum**, Paraná, v. 32, n. 4, p. 435-438, 2010.

NOBRE, M. S M. S. C. **Influência da adição de diferentes culturas de lactobacilos sobre as características de soro de queijo de cabra tipo coalho atomizado (pó) reconstituído fermentado**. 2015. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)– Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probióticos–Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 487-492, 2011.

OLIVEIRA, G. B.; GATTI, M. D. S.; VALADÃO, R. C.; MARTINS, J. F. P.; LUCHESE, R. H. Detecção da adição fraudulenta de soro de queijo em leite: interferência da atividade de proteases bacterianas. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juíz de Fora, v. 64, n. 368, p. 56-65, 2009.

OLIVEIRA, S. P. Alimentos Funcionais: aspectos relacionados ao consumo. **Revista Food Ingredients**, São Paulo, n. 20, 2002.

PATTON, W. F. Detection technologies in proteome analysis. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 1-2, n. 771, p. 4-27, 2002.

PEREIRA, A. M. S.; **Avaliação do potencial de bebida láctea de soro em pó de queijo de cabra**. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2016.

PEREIRA, M. C. S.; BRUMANO, L. P.; KAMIYAMA, C. M.; PEREIRA, J. P. F.; RODARTE, M. P.; PINTO, M. A. O. Lácteos com baixo teor de lactose: uma necessidade para portadores de má digestão da lactose e um nicho de mercado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juíz de Fora, v. 67, n. 389, p. 57-65, 2012.

PEREIRA, A. M. S.; FARIAS, D. R. B.; QUEIROZ, B. B.; NOBRE, M. S. C.; CAVALCANTI, M. T.; SALLES, H. O.; 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, 10 p. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9362-y>> Acesso em: 30 mai. 2018.

POPPI, F. A.; COSTA, M. R.; RENSIS, C. M. V. B.; SIVIERI, K. Soro de leite e suas proteínas: composição e atividade funcional. **UNOPAR Científica: Ciências Biológicas e da Saúde**. Iporã, v. 12, n. 2, p.31-37, 2010.

RAIMONDO, R. F. S.; BRANDESPIM, F. B.; PRINA, A. P. M.; MIYASHIRO, S. I.; SAUT, J. P. F.; MORI, C. S.; POGLIANI, F. C.; BIRGEL JR, E. H. Dynamic in the concentration of whey proteins in the mammary secretion of goats during the dry period. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v.113, p. 239-246, 2013.

RAIZEL, R.; SANTINI, E.; KOPPER, A.M.; FILHO, A. D. R. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

RAMALHO, V.C.; JORGE N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p.755-760, 2006.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K.; Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 8, p. 18-25, 2014.

REDDY, R. S.; RAMACHANDRA, C. T.; HIREGOUDAR, S.; NIDONI, U.; RAM, J.; KAMMAR, M. Influence of processing conditions on functional and reconstitution properties of milk powder made from Osmanabadi goat milk by spray drying. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 119, p. 130-137, 2014.

REYNERTSON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, Oxford, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

ROCHA, A. C. S.; LOPES, J. P. A.; SILVA, F. N.; FONSECA, H. C.; DURÃES, C. A. F.; BRANDI, I. V. Aproveitamento de soro de leite na elaboração de bebida láctea fermentada adicionada de coquinho azedo (*Butia capitata*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E DA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25. 2016, Gramado. **Anais...** [Porto

Alegre]: SBCTA-RS, 2016. 6 p. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/sbetars-eventos/xxvcbcta/anais/files/640.pdf>>. Acesso em: 06 jun. 2018.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURACALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, Oxford, v. 121, p. 996-1002, 2010.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. São Paulo, v. 42, n. 1, 2006.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal Food Technology**. [Campinas], v.8, n.1, p. 43-56, 2005

SHAJIB, M. T. I. ; KAWSER, M.; MIAH, M. N. ; BEGUM, P. BHATTACHARJEE, L.; HOSSAIN, A.; FOMSGAARD, I. S.; ISLAM, S. N. Nutritional composition of minor indigenous fruits: cheapest nutritional source for the rural people of Bangladesh. **Food Chemistry**, Oxford, v. 140, p.466-470, 2013.

SILVA, F. V. G.; SILVA, S. M.; SILVA, G. S. ; MENDONÇA, R. M. N.; ALVES, R. E.; DANTAS, G. C. Bioactive compounds and antioxidant activity in fruits of clone and ungrafted genotypes of yellow mombin tree. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.32, n.4, p. 685-691, 2012.

SIQUEIRA, A. M. O.; MACHADO, E. C. L.; STAMFORD, T. L. M. Bebidas lácteas com soro de queijo e frutas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.9, p. 1693-1700, 2013.

SOUZA, P. H. M.; NETO, M. A. S.; MAIA, G. A. Componentes Funcionais nos Alimentos. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 37, 2003.

SPADOTI, L. M.; MORENO, I. ;ALVES, A. T. S.; ZACARCHENCO, P. B.; GALLINA, D. A. Peptídeos bioativos obtidos de proteínas do soro de queijo: potenciais ingredientes de alimentos promotores de saúde. **Revista Indústria de Laticínios** , São Paulo, v.42, n.1,p.80-83,2006.

VARGA, L.; SÜLE, J.; NAGYT, P. Survival of the characteristic microbiota in probiotic fermented camel, cow, goat, and sheep milks during refrigerated storage. **Journal of Dairy Science**, Porto v. 97, n.4, p. 2039-2044, 2014.

VEIGAS, J. M.; NARAYAN, M. S.; LAXMAN, P. M.; NEELWARNE, B. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. **Food Chemistry**, Oxford, v. 105, n. 2, p. 619-627, 2007.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. **Caracterização das propriedades funcionais do jambolão**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 79)

VIZZOTTO, M.; FETTER, R. **Jambolão: o poderoso antioxidante**. 2009. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPACT-2010/12299/1/jambolao-Marcia.pdf>> . Acesso em: 06 abr. 2018.

ZAVAREZE, E. R.; SILVA, C. M.; SALAS-MELLADO, M.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. Funcionalidade de hidrolisados proteicos de cabrinha (*Prionotus punctatus*) obtidos a partir de diferentes proteases microbianas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 7, p.1739-1743, 2009.

YANGILAR, F. As a potentially functional food: goats' milk and products. **Journal of Food and Nutrition Research**, Newark, v. 1, n. 4, p. 68-81, 2013.