

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

VANESSA DE OLIVEIRA CADORIN

**POTENCIAL DO LEITE DE CABRA (*Capra aegagrus*)
NA ELABORAÇÃO DE LEITE FERMENTADO
ADICIONADO DE EXTRATO LIOFILIZADO DE ESTÉVIA
(*Stevia rebaudiana* Bertoni)**

FLORIANÓPOLIS-SC

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

VANESSA DE OLIVEIRA CADORIN

**POTENCIAL DO LEITE DE CABRA (*Capra aegagrus*)
NA ELABORAÇÃO DE LEITE FERMENTADO
ADICIONADO DE EXTRATO LIOFILIZADO DE ESTÉVIA
(*Stevia rebaudiana* Bertoni)**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado como exigência para
obtenção do Diploma de Graduação em
Zootecnia da Universidade Federal de
Santa Catarina.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Elane Schwinden
Prudêncio

FLORIANÓPOLIS- SC

2016

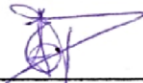
Vanessa de Oliveira Cadorin

**POTENCIAL DO LEITE DE CABRA (*Capra aegagrus*)
NA ELABORAÇÃO DE LEITE FERMENTADO
ADICIONADO DE EXTRATO LIOFILIZADO DE ESTÉVIA
(*Stevia rebaudiana* Bertoni)**

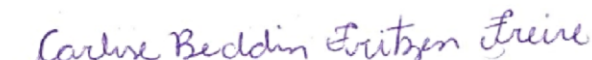
Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada e aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 16 de novembro de 2016.

Banca Examinadora:



Prof^a. Dr^a. Elane Schwinden Prudêncio,
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina


Carlise Beddin Fritzen Freire


Isabella de Bona Muñoz

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Afonso Cadorin e Andreia O. Cadorin pela dedicação, confiança em todos os momentos e principalmente pelo apoio desde o início da faculdade. Mesmo agora sem a presença do meu pai e de minha irmã Andreza O. Cadorin sei que estão sempre me protegendo e me guiando em toda minha caminhada.

Ao meu namorado Mateus Garcia pelo amor, companheirismo, conselhos, paciência em dias de provas e trabalhos, que sempre me motivou e me incentivou em todos os meus caminhos e sonhos, sem seu apoio não teria conseguido chegar até aqui.

À todos os amigos que estiveram junto a mim nessa trajetória e principalmente as minhas amigas Amabile Carine Puel, Ariany do Canto Oliveira, Camila Possamai Della e Nicole Smozinski que estiveram sempre do meu lado em todos os momentos, tenho certeza que devo muito a vocês, pois nossa parceria foi essencial em todo o decorrer da faculdade, conseguimos sempre enfrentar todas as barreiras unidas.

À minha orientadora, Elane Schwinden Prudêncio pela paciência, ajuda e dedicação durante a elaboração do TCC, representando a mim um exemplo profissional.

À todas as meninas do Laboratório de Leite e Derivados, pela dedicação e auxílio durante a elaboração das análises, sempre dispostas a me ajudar na realização deste trabalho.

RESUMO

A utilização da cabra como animal para a produção de leite é uma atividade promissora pela sua capacidade de se adaptar a condições climáticas variáveis, podendo proporcionar as famílias de baixa renda, além da população em geral, uma melhoria da dieta. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi empregar o leite de cabra (*Capra aegagrus*) na obtenção de um leite fermentado adicionado de extrato liofilizado de estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). Na sequência foram determinadas as suas propriedades físicas, químicas e funcionais. Ao final, foi possível verificar que a adição do extrato contribuiu para o aumento do teor de sólidos totais, da luminosidade, da coloração amarela, do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante, do leite fermentado do leite de cabra.

Palavras chaves: Leite fermentado de cabra, extrato de estévia, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composições físico-químicas e valor calórico dos leites de cabra, ovelha e vaca. 12
- Tabela 2:** Resultados médios \pm desvio padrão para o teor de sólidos totais, acidez titulável, pH e índice de sinerese do leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato de estévia (S2). 20
- Tabela 3:** Resultados médios \pm desvio padrão para os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) das amostras de leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato estévia (S2). 21
- Tabela 4:** Resultados médios \pm desvio padrão para o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (FRAP e ABTS) das amostras de leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato estévia (S2). 22

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 8 |
| 2 OBJETIVOS | 10 |
| 2.1 Objetivo geral | 10 |
| 2.2 Objetivos específicos | 10 |
| 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 11 |
| 3.1 A cabra (<i>Capra aegagrus</i>) e o leite de cabra | 11 |
| 3.2 A estévia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) | 13 |
| 3.3 O leite fermentado | 13 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 15 |
| 4.1 Material | 15 |
| 4.2 Elaboração dos leites fermentados do leite de cabra | 15 |
| 4.3 Análise físico-química | 16 |
| 4.4 Índice de sinerese | 16 |
| 4.5 Análise de cor | 17 |
| 4.6 Análise do teor de compostos fenólicos totais | 17 |
| 4.7 Determinação da atividade antioxidante | 18 |
| 4.7.1 ABTS [2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] | 18 |
| 4.7.2 Poder antioxidante de redução de férrico (FRAP). | 19 |
| 4.8 Análise estatística | 19 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 20 |
| 5.1 Análise físico-química | 20 |
| 5.2 Análise de cor | 21 |
| 5.3 Compostos fenólicos e atividade antioxidante | 22 |
| 6 CONCLUSÃO | 24 |
| REFERÊNCIAS | 25 |

1 INTRODUÇÃO

O leite de cabra é um alimento nutritivo e saudável, com elevados teores de vitamina A, cálcio, fósforo, potássio, magnésio e proteínas de alto valor biológico, sendo indicado a consumidores variados (LAGUNA, 2004). A utilização da cabra (*Capra aegagrus*) para leite tem crescido, porque além do seu leite ser considerado um produto de alto valor nutritivo, os caprinos têm a capacidade de se adaptar a condições criatórias variáveis (OESTERWIND et al. 2016), podendo proporcionar as famílias de baixa renda, além da população em geral, uma melhoria da dieta. A literatura relata que a produção do leite de cabra, em certas regiões brasileiras vem acompanhando o próprio crescimento populacional. Este aumento também é creditado ao interesse de conhecedores e especialistas por produtos fermentados, como queijos e leites fermentados, bem como a preocupação dos consumidores por alimentos nutritivos, saudáveis e funcionais. Os alimentos funcionais contribuem ainda mais para o aumento de produtos devido à preocupação dos mesmos com a alimentação e a saúde.

De acordo com Brasil (1999) alimento funcional é todo aquele alimento que além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéfico à saúde. Além da contribuição benéfica para a saúde humana, o desenvolvimento destes produtos pode ser uma importante fonte de agregação de valor ao produto primário, como o leite de cabra. Entretanto, apesar do leite de cabra apresentar características nutricionais que o destacam do leite de outras espécies, sendo um alimento nobre (RIBEIRO; RIBEIRO, 2001), ainda há a necessidade de pesquisas científicas para melhor utilizá-lo principalmente na obtenção de derivados lácteos fermentados, como leites fermentados com propriedades funcionais.

Segundo Brasil (2007) entende-se por leite fermentado o produto obtido por coagulação e diminuição do pH do leite por fermentação láctica mediante ação de micro-organismos protosimbióticos que por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final.

Muniandy, Shori e Baba (2016) indicam que extratos de algumas plantas, ricas em compostos fenólicos, estão sendo utilizados em leites fermentados a fim de obter um alimento funcional. Compostos fenólicos dos extratos apresentam grandes benefícios saúde, quando consumidos regularmente, sendo consideradas potentes fontes de antioxidantes. Assim, é importante estabelecer as diferenças entre os tipos de extratos utilizados e seus efeitos no metabolismo microbiano e as mudanças que podem ser geradas nas propriedades de leites fermentados (MUNIANDY; SHORI; BABA, 2016).

Arriola et al. (2016) relatam que a *Stevia rebaudiana* Bertoni (estévia), erva perene da família *Asteraceae*, nativa das fronteiras do Brasil e do Paraguai, além de serem utilizadas como edulcorantes, devido ao teor de esteviosídeos, estão sendo cada vez mais utilizadas devido ao seu alto teor de compostos fenólicos. Estes autores citam que estes compostos apresentam ação antimicrobiana, propriedades antioxidantes, além de serem associados com os potenciais benefícios à saúde humana. Deste modo, estas descobertas podem ajudar a indústria a melhor utilizar esta planta, através da elaboração de derivado lácteo funcional como o leite fermentado do leite de cabra adicionado de estévia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi empregar o leite de cabra (*Capra aegagrus*) na obtenção de um leite fermentado adicionado de extrato liofilizado de estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni), determinando também as suas propriedades físicas, químicas e funcionais.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- (a) elaborar leite fermentado do leite de cabra adicionado de extrato liofilizado de estévia;
- (b) avaliar as propriedades físico-químicas, o índice de sinerese e as propriedades de cor do leite fermentado elaborado; e
- (c) determinar o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante do leite fermentado.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A cabra (*Capra aegagrus*) e o leite de cabra

No Brasil, a caprinocultura ocupa uma área total de 7.107.613 de hectares. Grande parte desta produção está localizada na região Nordeste, que é caracterizada como uma região semiárida com grande carência de recursos naturais, clima quente e distribuições de chuvas irregulares durante o ano (BRASIL, 2006). Na produção de leite, a caprinocultura apresenta importante papel na geração de renda para pequenos produtores brasileiros (MARTINS et al., 2007). De 1975 a 2006, a produção brasileira de leite caprino cresceu 166,85%, totalizando uma produção de 35.742 mil litros de leite em 2006 (BRASIL, 2006).

As cabras, animais ruminantes da mesma origem dos bovinos, são consideradas a primeira espécie domesticada capaz de produzir alimento para o homem (RIBEIRO, 1997). As cabras apresentam diferenças fisiológicas quando comparadas aos ovinos e bovinos (HAENLEIN, 2004). As raças de cabras mais utilizadas na caprinocultura são classificadas em relação à aptidão destes animais, em produzir carne, pele ou leite (RIBEIRO, 1997). As raças empregadas na produção de leite nas regiões sul e sudeste do Brasil, são de origem europeia, sendo exemplos, a Saanen, a Parda Alpina, a Toggenburg e a Anglo Nubiana, bem como as oriundas do cruzamento destas raças (GONÇALVES et al., 2001).

As propriedades nutricionais e funcionais do leite de cabra são consideradas excelentes, o que permite a esse alimento ser considerado funcional por apresentar proteínas de alto valor biológico sendo consideradas proteínas completas para o organismo. Entende-se como alimento funcional todo produto alimentício ou componente do alimento e suas participações cientificamente conhecidas na manutenção da saúde, redução de riscos de doenças crônicas e modificação das funções fisiológicas (LAGUNA, 2004).

O leite de cabra tende a ser mais valorizado quando utilizado na produção de derivados (PRATA et al., 1998). Os produtos lácteos derivados do

leite de cabra são apresentados como um dos alimentos mais completos para alimentação humana por apresentarem, características nutricionais, metabólicas e terapêuticas de grande interesse. As proteínas presentes neste tipo de leite são de alto valor biológico podendo combater a desnutrição. A fácil digestão do leite de cabra deve-se ao pequeno tamanho dos glóbulos de gordura e pela sua curta cadeia de ácidos graxos que favorecem na rápida absorção da gordura pela mucosa intestinal, suprimindo necessidades de consumidores que apresentam intolerância ao leite bovino, que é ocasionada pela presença de lacto albumina bovina. O elevado teor dos minerais cálcio, fósforo, potássio e magnésio é atributo na prevenção da osteoporose, manutenção de ossos, dentes e funções metabólicas e fisiológicas desde crianças até idosos (LAGUNA, 2004).

Em termos nutritivos, a composição do leite varia de espécie para espécie em quantidades específicas conforme é demonstrado na Tabela 1 (PARK et al., 2007).

Tabela 1: Composições físico-químicas e valor calórico dos leites de cabra, ovelha e vaca.

| COMPONENTES | LEITES | | |
|---------------------------------|--------|--------|------|
| | CABRA | OVELHA | VACA |
| Gordura (g/100g) | 3,8 | 7,9 | 3,6 |
| Sólidos não gordurosos (g/100g) | 8,9 | 12,0 | 9,0 |
| Lactose (g/100g) | 4,1 | 4,9 | 4,7 |
| Sais Minerais (g/100g) | 0,8 | 0,9 | 0,7 |
| Proteína (g/100g) | 3,4 | 6,2 | 3,2 |
| Caseína (g/100g) | 2,4 | 4,2 | 2,6 |
| Valor calórico (Kcal) | 70,0 | 105,0 | 69,0 |

Fonte: Park et al. (2007).

3.2 A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

Stevia rebaudiana Bertoni é um arbusto perene da família *Asteraceae* (*Compositae*), originalmente cultivado na América do Sul, particularmente no Brasil e no Paraguai (PALAZZO et al., 2011). Conhecida vulgarmente como erva doce, as tribos Guarani do Paraguai e Brasil utilizavam a estévia como um adoçante na erva-mate e chás medicinais. Atualmente a estévia foi reconhecida pelo seu alto teor de esteviosídeo presente em seu extrato com poder adoçante 300 vezes maior que a sacarose (GHANTA et al., 2007). Pertencente aos adoçantes não calóricos, a estévia não é carcinogénica (SALVADOR-REYES et al., 2014). Além de apresentar poder adoçante, as folhas de estévia tem seu valor ligado às fibras dietéticas, aos minerais e aos aminoácidos essenciais presentes nas suas folhas (KIM et al., 2011).

O aumento do consumo da estévia está também relacionado às suas propriedades antioxidantes provenientes de seu alto teor de flavonóides e compostos fenólicos (LEMUS et al., 2012; BARBA et al., 2013; BARBA et al., 2015), que são capazes de diminuir algumas doenças crónicas, quando consumidas regularmente (ARRIOLA et al., 2016). Os compostos antioxidantes presentes nas folhas ajudam a neutralizar radicais livres (que são a causa de câncer, doenças cardiovasculares e diabetes) presentes na corrente sanguínea, atuando como absorvedores de oxigênio, sem feitos secundários tóxicos (LEMUS et al., 2012). Kim et al. (2011), também testou o efeito antioxidante de folhas de estévia e verificou que as mesmas contêm altos teores de ácido fólico (52,18 mg/100g) e compostos de pirogalol (951,27 mg/100g) em base seca, observando assim que a estévia é fonte de antioxidantes naturais benéficos à saúde do ser humano.

3.3 O leite fermentado

O leite fermentado é resultado de um processo de fermentação láctica, com a adição ou não de outros produtos não lácteos, que é obtido pela queda do pH resultando na coagulação do leite, empregando geralmente dois micro-

organismos simbióticos que são o *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Este processo de acidificação é utilizado visando à preservação do leite, sendo o iogurte o principal tipo de leite fermentado (BOBBIO; BOBBIO, 1995).

O leite fermentado é reconhecido pela sua rica fonte de proteínas, cálcio, carboidratos, fósforo e vitaminas. O seu consumo proporciona benefícios ao organismo humano, por facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, melhorando a absorção de cálcio, fósforo e ferro, além de ser fonte importante de galactose (FERREIRA et al., 2001).

Normalmente produtos de origem lática apresentam quantidades de lactose que restringem o consumo destes produtos por pessoas que são intolerantes. Entretanto, no leite fermentado a lactose presente é mais facilmente digerível por apresentar 50 % de sua concentração já hidrolisada (BOBBIO; BOBBIO 1995).

Por apresentar alta digestão e ser uma matéria prima de baixo potencial alergênico, o leite de cabra é indicado para a produção de leites fermentados (HAENLEIN, 2004).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Os ingredientes comerciais utilizados na fabricação dos leites fermentados foram os seguintes: leite de cabra UHT (10,75 g/100 mL de sólidos totais, 3,50 g/100 mL de gordura 3,00 g/100 mL de proteína, da Caprilat[®], CCA Laticínios, Rio de Janeiro, Brasil), leite de cabra em pó (8,00 g em 26 g de carboidratos, 7,00 g em 26 g de proteína, 8,4 g de 26 g de gordura) (da Caprilat[®], CCA Laticínios, Rio de Janeiro, Brasil) e cultura composta por *Lactobacillus acidophilus* LA-5[®], *Bifidobacterium* BB-12[®] e *Streptococcus thermophilus* (BioRich[®], Chr. Hansen, Valinhos, SP, Brasil). No leite fermentado foi adicionado extrato liofilizado de estévia apresentando teor de compostos fenólicos totais de $170,95 \pm 1,31$ mg EAG (equivalentes de ácido gálico)/ g e atividades antioxidantes pelo método ABTS (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) e FRAP (Potencial Antioxidante Redutor Férrico) iguais a $1310,67 \pm 322,59$ μ mol Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)/ g e $1874,87 \pm 61,1$ μ mol Trolox/ g, respectivamente. Nas determinações dos compostos fenólicos dos leites fermentados elaborados foram empregados os reagentes Folin-Ciocalteu, ácido gálico e cloreto de cálcio di-hidratado, todos da empresa Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os demais reagentes empregados foram de grau analítico.

4.2 Elaboração dos leites fermentados do leite de cabra

Foram elaboradas duas formulações de leites fermentados, denominadas S1 e S2, seguindo a metodologia proposta por Lucey e Singh (1998), com modificações. A formulação S1 preparada sem adição de extrato liofilizado de estévia e a formulação S2 preparada com a adição de 0,5% de extrato de estévia. O leite de cabra foi aquecido juntamente com 5% de leite de cabra em pó a $42 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 5 minutos, onde a cultura láctea foi adicionada, conforme indicações do fabricante. Na sequência foi fermentado a $42 \pm 2^\circ\text{C}$,

até atingir pH em torno de 4,6 seguido por resfriamento a $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e então batido. As amostras de leites fermentados em seguida foram embaladas em recipientes plásticos de 100 mL e termo seladas (Sulplack SPO-150, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil) com folhas de alumínio de múltiplas camada de polietileno e armazenadas a $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

As amostras de leites fermentados (S1 e S2) foram avaliadas em relação ao teor de sólidos totais, pH, acidez titulável, sinerese, cor, teor de fenólicos totais e atividade antioxidante.

4.3 Análise físico-química

As amostras de leite fermentado (S1 e S2) do leite de cabra foram analisadas quanto ao teor de sólidos totais (g/100 g), através de secagem em estufa a $105 \pm 1^\circ\text{C}$ e acidez titulável (g/100 mL de ácido láctico) de acordo com a AOAC (2005). Os valores de pH obtidos por meio de pH metro (BEL Engenharia, W38 Monza, Itália) pelo método potenciométrico. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.4 Índice de sinerese

O índice de sinerese dos leites fermentados foi determinado utilizando a metodologia descrita por Modler e Kalab (1983), com modificações. Portanto foram utilizadas 50 g de amostra logo drenadas utilizando uma malha de aço inoxidável de 100 mesh colocada sobre um béquer para recolher o líquido. O índice de sinerese foi calculado levando em consideração a quantidade de líquido (g) liberado por 50 g de amostra após 2 horas de drenagem ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). Todas as medições foram realizadas em triplicata.

4.5 Análise de cor

A análise da cor das amostras de leite fermentado foi determinada através de um colorímetro (Minolta Chroma Meter CR-400, Osaka, Japão), ajustado para operar com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°, previamente calibrado. A escala de cor CIELab foi utilizada para calcular os parâmetros L*, a* e b*. O parâmetro L* varia de 0-100, indicando a variação de cor de preto para branco; o eixo a* mostra a variação de vermelho (+a*) para verde (-a*), enquanto que o eixo b* mostra a variação de amarelo (+b*) para azul (-b). A diferença total da cor (ΔE^*) entre os valores observados entre as amostras S1 e S2, foram calculadas segundo Capellas et al. (2001) utilizando a equação 1.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad \text{Equação 1}$$

onde ΔL^* é a diferença da luminosidade entre as amostras; Δa^* representa a intensidade da cor vermelha; e Δb^* a intensidade da cor amarela. Nesta etapa ainda serão calculadas o valor do ângulo Hue (h^*) e Chroma (C^*), segundo as Equações 2 e 3, respectivamente, conforme descrito por González-Martínez et al. (2002).

$$h^* = \tan^{-1}(b^* / a^*) \quad \text{Equação 2}$$

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad \text{Equação 3}$$

4.6 Análise do teor de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos nas amostras de leite fermentado do leite de cabra (S1 e S2) foi determinado como descrito por Karaaslan et al. (2013), mas com modificações. Para o processo de extração, foi utilizado 20 g de leite fermentado misturado a 30 mL de acetona acidificada a 80% (0,01% de HCl) . Em seguida, manteve-se a mistura em banho-maria (Dist DI950M,

Florianópolis SC, Brasil) a $50 \pm 1^\circ\text{C}$ com agitação (180 rpm), durante 60 minutos. Após, as amostras foram centrifugadas (Hermle Z200A, Alemanha) a $3823 \times g$ durante 8 minutos. Os sobrenadantes foram recolhidos e utilizados para a quantificação do teor de fenólicos totais nas amostras de leites fermentados.

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através do método colorimétrico de Folin-Ciocalteu segundo metodologia descrita por Singleton, Joseph e Rossi (1965). Alíquotas de 1 mL de cada amostra foram adicionadas a 4,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. A mistura foi homogeneizada em Vortex (VTX-F Biomi xer, São Paulo, Brasil) durante 1 minuto e em seguida adicionada 4 mL de solução de carbonato de sódio e mantida em repouso durante 1 hora. A leitura da absorbância foi realizada em comprimento de onda de 765 nm medida em espectrofotômetro (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan). A curva de calibração foi construída utilizando o ácido gálico e o teor de compostos fenólicos totais foi expresso em mg de equivalentes de ácido gálico por g de amostra (mg/g).

4.7 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos leites fermentados foi determinada através de dois métodos diferentes, o ABTS, que mede a atividade antioxidante através da captura do radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) e o poder antioxidante de redução férrico (FRAP).

4.7.1 ABTS [2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)]

O método ABTS é baseado na medida da capacidade das amostras de sequestrar o radical ABTS e foi realizado conforme a metodologia proposta por Re et al. (1999). A formação do radical ABTS ocorreu pela reação da solução do ABTS^{•+} com a solução de persulfato de potássio, incubados a 25°C no escuro durante 16 horas. Uma vez formado, o radical foi diluído com etanol P.A até alcançar a absorbância desejada. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan) em comprimento de onda de 734 nm após 6 minutos da adição da amostra, utilizando etanol como

branco. Os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (0,5 – 2 mM; $r^2 = 0,99$) por g de amostra (μM de Trolox/g).

4.7.2 Poder antioxidante de redução de férrico (FRAP).

O poder antioxidante redutor férrico (FRAP) foi determinado de acordo com o método proposto por Benzie e Strain (1996). O método é baseado na medida direta da habilidade dos antioxidantes (redutores) da amostra em reduzirem em meio ácido (pH 3,6) o complexo Fe^{3+} /tripiridiltriazina (TPTZ) para formar Fe^{2+} , de intensa cor azul. Uma alíquota de 100 μL de cada amostra foi adicionada a 100 μL de FeCl_3 (3mM em 5mM de ácido cítrico) e incubada durante 30 minutos a 37 °C. Logo após foi adicionado 1,8 mL de solução 2,4,6-Tripiridil-s-triazina (TPTZ) 1 mM em HCl 50 mM e agitado em vortex. Após 10 minutos, a absorbância foi medida a 593 nm em espectrofotômetro (Hitachi, U-1800, Tokyo, Japan). A curva de calibração foi construída utilizando soluções contendo concentrações conhecidas de Trolox (10 – 400 mM; $r^2 = 0,99$). O resultado foi expresso em micromol de Trolox por g de amostra (μM de Trolox/g).

4.8 Análise estatística

Neste experimento foram realizadas três bateladas de leite fermentado do leite de cabra adicionado de extrato liofilizado de estévia, e cada análise proposta foi realizada em triplicata. Para determinar diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os resultados, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) e a diferença entre as amostras obteve-se pelo teste de Tukey. Toda a análise estatística foi realizada com *STATISTICA 12.0 Software* (StatSoft Inc., Tulsa, EUA). Todos os dados expressados como média \pm desvio padrão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise físico-química

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos para a composição físico-química e índice de sinerese das duas amostras de leites fermentados. O teor de sólidos totais do leite fermentado S2, com adição do extrato de estévia, foi maior ($P < 0,05$) quando comparada a amostra S1, sem adição de estévia. Os resultados para o teor de sólidos totais na amostra S2 está relacionado à adição da estévia. Comportamento similar foi verificado por Cinbas e Yazici (2008) para leites fermentados com adição de mirtilo e 6% de açúcar.

Tabela 2: Resultados médios \pm desvio padrão para o teor de sólidos totais, acidez titulável, pH e índice de sinerese do leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato de estévia (S2).

| | Amostras | |
|------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | S1 | S2 |
| Sólidos totais (g/100 g) | 14,45 \pm 0,03 ^b | 14,72 \pm 0,12 ^a |
| Acidez titulável (% ácido láctico) | 0,83 \pm 0,01 ^a | 0,82 \pm 0,03 ^a |
| pH | 4,70 \pm 0,04 ^a | 4,80 \pm 0,08 ^a |
| Índice de sinerese (g) | 25,46 \pm 7,03 ^a | 38,80 \pm 8,09 ^a |

^{a-b} letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as amostras.

A adição do extrato liofilizado de estévia no leite fermentado não interferiu ($P < 0,05$) no teor de acidez, no valor do pH e no índice de sinerese do leite fermentado do leite de cabra. Vale ressaltar, que a legislação brasileira não estabelece valores para a acidez e o pH de leites fermentados produzidos com leite de cabra. Entretanto, estes valores estão de acordo com os estipulados por Brasil (2007) para leites fermentados elaborados com leite de vaca. Quanto ao índice de sinerese pôde-se verificar que a adição do extrato não gerou uma redução nas interações intermoleculares. Desta forma, segundo Penna et al. (2006) menores forças intermoleculares seriam capaz de resultar

em estruturas abertas, contribuindo para a separação do soro de leites fermentados e, portanto, no aumento da sinerese. Este comportamento está de acordo com o citado por Lee e Lucey (2004) que afirmam que o índice de sinerese é influenciado pelo valor do pH, acidez, entre outros.

5.2 Análise de cor

A Tabela 3 apresenta os parâmetros de cor L^* , a^* e b^* dos leites fermentados do leite de cabra. Foi possível verificar valores altos para a luminosidade (L^*) das amostras, indicando produtos mais claros. Park e Haenlein (2006) relatam que este comportamento pode ser explicado pela ausência de β -caroteno no leite de cabra. De acordo com estes autores esta espécie é capaz de converter o β -caroteno em vitamina A, gerando um leite e derivados mais brancos do que o de vaca. Entretanto, maior valor ($P < 0,05$) para L^* foi verificado para a amostra sem extrato de estévia. Resultados similares foram notados por Preci et al. (2011) na elaboração de iogurte com adição de extrato de erva-mate.

Tabela 3: Resultados médios \pm desvio padrão para os parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*) das amostras de leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato estévia (S2).

| | Amostra | |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | S1 | S2 |
| L^* | 81,98 \pm 0,30 ^a | 77,17 \pm 0,14 ^b |
| a^* | -1,75 \pm 0,03 ^a | -1,73 \pm 0,02 ^a |
| b^* | 6,59 \pm 0,19 ^b | 12,13 \pm 0,08 ^a |
| ΔE^* | 7,33 | |
| h^* | 89,79 | |
| c^* | 5,5 | |

^{a-b} letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as amostras.

Todos os valores para parâmetro a^* dos leites fermentados foram negativos, demonstrando tendência à tonalidade esverdeada. Neste caso não foram observadas diferenças entre as amostras. Diferente de Preci et al. (2011), o qual avaliou o potencial do extrato de erva-mate como antioxidante em iogurte light, o teor de extrato de estévia empregado não contribuiu para aumentar a coloração verde. Para o parâmetro b^* foram encontrados valores positivos, indicando tendência à tonalidade amarelada. No entanto, a amostra com adição de extrato liofilizado de estévia apresentou valor de b^* mais elevado ($P < 0,05$) do que a amostra sem a adição. Segundo Cousens (2011) este maior valor seria decorrente de pigmentos amarelos presentes naturalmente na estévia.

5.3 Compostos fenólicos e atividade antioxidante

O teor de compostos fenólicos totais (CFT) e os valores da atividade antioxidante determinada pelos métodos de FRAP e ABTS das amostras de leite fermentado do leite de cabra estão na Tabela 4.

Tabela 4: Resultados médios \pm desvio padrão para o teor de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (FRAP e ABTS) das amostras de leite fermentado sem adição do extrato de estévia (S1) e com 0,5 % do extrato estévia (S2).

| | Amostra | |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | S1 | S2 |
| CFT (mg EAG/ g) | 0,11 \pm 0,01 ^b | 0,29 \pm 0,01 ^a |
| FRAP (μ mol Trolox/ g) | 0,07 \pm 0,02 ^b | 3,99 \pm 0,4 ^a |
| ABTS (μ mol Trolox/ g) | 0,43 \pm 0,05 ^b | 3,89 \pm 0,12 ^a |

Trolox: 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico; EAG: Equivalente de ácido gálico; FRAP: Potencial antioxidante redutor férrico; e ABTS: 2,2'-azinobis-(3- etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico).

^{a-b} letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as amostras.

Na amostra de leite fermentado com adição do extrato de estévia foi possível verificar aumento nos teores ($P < 0,05$) de CFT e da atividade antioxidante. Najgebauer-Lejko et al. (2011) verificaram comportamento similares para iogurtes adicionados de chá verde. Avaliando a atividade antioxidante de ervas, Carlsen et al. (2010) concluíram que o aumento de CFT e da atividade antioxidante seria devido a incorporação destas em alimentos.

Determinar a atividade antioxidante de alimentos é importante, pois os mesmos são substâncias que retardam a velocidade de oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como a inibição de radicais livres e complexação de metais (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006). Jardini e Mancini Filho (2007) afirmam que a oxidação é uma reação que pode ocorrer nos alimentos provocando a perda do valor nutritivo pela decomposição dos ácidos graxos e a formação de compostos que podem reagir com outros componentes dos alimentos e também serem prejudiciais para o organismo humano. Outra importância em avaliar a atividade antioxidante de um alimento seria também devido à preocupação atual com efeitos adversos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, observa-se assim que o extrato de plantas pode se apresentar como fonte acessível de antioxidantes naturais. Por fim, assim como verificado por Ré e Jorge (2012), adição do extrato liofilizado de estévia pode e pôde evitar a deterioração oxidativa em vários sistemas, além de possível suplemento alimentício.

6 CONCLUSÃO

Foram observadas diferenças quanto ao teor de sólidos totais no leite fermentado do leite de cabra com adição do extrato liofilizado de estévia. Os demais parâmetros físico-químicos avaliados, ou seja, pH, acidez e índice de sinerese não variaram com a adição do extrato. Os leites fermentados demonstraram altos valores para o parâmetro luminosidade, no entanto, maior valor foi encontrado para a amostra com adição do extrato de estévia, que também apresentou coloração mais amarela. O extrato de estévia aumentou o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante do leite fermentado do leite de cabra.

REFERÊNCIAS

ARRIOLA, N. A. et al. Encapsulation of aqueous leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni with sodium alginate and its impact on phenolic content. **Food Bioscience**, v. 13, p. 32-40, 2016.

BARBA, F. J. et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni as a natural antioxidant/antimicrobial for high pressure processed fruit extract: Processing parameter optimization. **Journal of Food Engineering**, v. 148, p.261–267, 2013.

BARBA, F. J. et al. Evaluating the potential of cell disruption technologies for green selective extraction of antioxidant compounds from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves. **Journal of Food Engineering**, v. 149, p. 222–228, 2015.

BENZIE, F. F. I.; STRAIN J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. **Manual de laboratório de química dos alimentos**. p. 129, 1995.

BRASIL, IBGE- Instituto Brasileiro de Geográfica e Estatística. **Censos Agropecuários 1970/2006**. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 22 maio. 2016.

BRASIL. Instrução normativa nº 46, de 23 de outubro de 2007. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e

Qualidade de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, sec.1, p.5, 24 outubro 2007.

BRASIL. Instrução normativa nº. 19, de 30 de abril de 1999. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1999.

BRANDÃO, S. C. C. Tecnologia da fabricação de iogurte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 42, p. 3-8, 1987.

CAPELLAS, M.; MOR-MUR, M.; SENDRA, E.; GUAMIS, B. Effect of highpressure processing on physico-chemical characteristics of fresh goats' milk cheese (Mató). **International Dairy Journal**, v.11, p.165-173, 2001

CARLSEN, M. H. et al. The total antioxidant content of more than 3100 foods, beverages, spices, herbs and supplements used worldwide. **Nutrition Journal**. v. 9, p. 1–11, 2010.

CINBAS, A.; YAZICI, F. Effect of the Addition of Blueberries on Selected Physicochemical and Sensory Properties of Yoghurts. **Food Technol. Biotechnol.** v. 46, p. 434–441, 2008.

COUSENG, G. **There is a cure for diabetes**. 1. ed. São Paulo: Alaúde, 2011.

DUARTE-ALMEIDA et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v. 26, p. 446-452, 2006.

FERREIRA, C. L. L. F. et al. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, p. 152- 158, 2001.

GHANTA S. et al. Oxidative DNA damage preventive activity and antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, a natural sweetener. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 10962–10967, 2007.

GONÇALVES, H. C. et al. Fatores genéticos e de meio na produção de leite de caprinos leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, p.719-729, 2001.

GONZÁLEZ-MARTINEZ, C. et al. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, p. 334–340, 2002.

HAENLEIN, G. F. W.; Goat milk in human nutrition. **Small Ruminants Research**. v. 51, p. 63-155, 2004.

JARDINI A. F.; MANCINI F. J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, 2007.

KARAASLAN, M. et al. Drying kinetics and thermal degradation of phenolic compounds and anthocyanins in pomegranate arils dried under vacuum conditions. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 49, p. 595-605, 2013.

KIM, I. et al. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. **Food Science And Technology**, v. 44, p. 1328–1332, 2011.

LAGUNA, L. E. O Leite de cabra como alimento funcional. **Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2004. Disponível em: <http://www.caprítec.com.br/artigos_embrapa030609a.htm>. Acesso: abril 2016.

LEE, W.J.; LUCEY, J.A. Structure and physical properties of yogurt gels: effect of inoculation rate and incubation temperature. **Journal of Dairy Science**; Savoy, v. 87, p. 3153-3164, 2004.

LEMUS, M. et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: a comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry**, v. 3, p. 1121–1132, 2012.

LUCEY, J. A.; SINGH, H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. **Food Research International**, v. 30, p. 529- 542, 1998.

MARTINS, E. C. et al. O mercado e as potencialidades do leite de cabra na cidade de Sobral: a visão do consumidor. **EMBRAPA**, 2007.

MODLER, H.W.; KALAB, M. Microstructure of yogurt stabilized with milk proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p.430-437, 1983.

MUNIANDY, P.; SHORI, A.; BABA. A. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. **Food Packaging And Shelf Life**, v. 8, p. 1-8, 2016.

NAJGEBAUER-LEJKO, D. et al. The impact of tea supplementation on microflora, pH and antioxidant capacity of yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 21, p. 568-574, 2011.

OESTERWIND, S. et al. Impact of structural and cognitive enrichment on the learning performance, behavior and physiology of dwarf goats (*Capra aegagrus hircus*). **Applied Animal Behaviour Science**. Alemanha, p. 34-41. jan. 2016.

PALAZZO, A. B. et al. Determination of isosweetness concentration of sucralose, rebaudioside and neotame as sucrose substitutes in new diet chocolate formulations using the time-intensity analysis. **Journal of Sensory Studies**, v. 26, p. 291–297, 2011.

PARK, Y. W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminants Research**, v. 68, p. 88-113, 2007.

PARK, Y.W., HAENLEIN, G.F.W. Handbook of milk of non-bovine mammals. **Edition Blackwell**. 2006.

PENNA, A. L. B. et al. Simultaneous effects of total solids content, milk base, heat treatment temperature and sample temperature on the rheological properties of plain stirred yogurt. **Food Technology and Biotechnology**, v. 44, p. 449-570, 2006.

PRATA, L. F. et al. Composição, perfil nitrogenado e características do leite de caprinos (Saanen). Região sudeste, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 4, p. 428 – 432, 1998.

PRECI, et al. Desenvolvimento de iogurte light com extrato de erva mate (*Ilex paraguariensis*) e adição de probióticos. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, p. 27-38, 2011.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RÉ, D.P.V; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, p. 389-399, 2012.

RIBEIRO. E. L. A., RIBEIRO. H. J. S. S. Uso nutricional e terapêutico do leite de cabra. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 22, n.2, p. 229-235, 2001.

RIBEIRO, S. D. **Criação Racional de Caprinos**. São Paulo: Nobel, 1997.

SALVADOR-REYES, R. et al. Estudio de la Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) como edulcorante natural y su uso en beneficio de la salud. **Scientia Agropecuaria**. v. 5, n. 3, p. 157-163, 2014.

SINGLETON, V.L.; JOSEPH, A.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolic with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–149, 1965.