

MANOELA MACIEL DOS SANTOS DIAS

**LEITE DE CABRA FERMENTADO ADICIONADO DE
PREBIÓTICO, PROBIÓTICOS E COMPOSTOS
BIOATIVOS DESTINADO A IDOSOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

D541L
2009

Dias, Manoela Maciel dos Santos, 1983-

Leite de cabra fermentado adicionado de prebiótico,
probióticos e compostos bioativos destinado a idosos
/ Manoela Maciel dos Santos Dias. – Viçosa, MG, 2009.
xvi, 123f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Paulo César Stringheta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Leite de cabra. 2. Leite fermentado - Análise.
3. Caratenóides. 4. Polifenóis. 5. Antioxidantes. 6. Pro-
bióticos. 7. Prebióticos. 8. Idoso - Alimentação. 9. Leite -
Avaliação sensorial. I. Universidade Federal de Viçosa.
II. Título.

CDD 22.ed. 637.1

MANOELA MACIEL DOS SANTOS DIAS

**LEITE DE CABRA FERMENTADO ADICIONADO DE
PREBIÓTICO, PROBIÓTICOS E COMPOSTOS
BIOATIVOS DESTINADO A IDOSOS**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia de Alimentos,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 27 de março de 2009.

Prof. Antônio Fernandes de Carvalho
(Co-Orientador)

Prof^a Valéria P. Rodrigues Minim
(Co-Orientadora)

Prof. Paulo Roberto Cecon

Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues

Prof. Paulo César Stringheta
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

Ao orientador Prof. Paulo César Stringheta, pelas diretrizes, pelo incentivo, pelos ensinamentos e pela amizade.

À DSM Nutritional Products, pelo fornecimento das amostras de luteína e resveratrol.

À Goody, pelo fornecimento da polpa de fruta.

À Chr. Hansen, pelo fornecimento do corante cúrcuma+urucum e pela realização das análises microbiológicas.

Ao Prof. Paulo Roberto Cecon, pela valiosa contribuição nas análises estatísticas e sugestões apresentadas.

Aos Professores Antônio Fernandes de Carvalho e Valéria Paula Rodrigues Minim, pela co-orientação e amizade.

Ao Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues, pelo fornecimento do leite de cabra utilizado neste trabalho, pela disponibilidade e pelas valiosas discussões.

Ao Prof. Frederico José Vieira Passos, pela amizade, pelos conselhos e pelo apoio técnico.

Aos amigos do Laboratório de Corantes Naturais, Valério Poletto, Igor, Fernanda, Fabíola e Mayra, pelo ótimo convívio e colaboração; em especial, às amigas Gabriela, Beatriz, Larissa, Eliza, Ingrid e Carla e ao amigo Guilherme, meus queridos estagiários, pela dedicação e participação ativa durante a execução deste trabalho.

À Marísia e ao Samuel, pela colaboração nas análises laboratoriais.

Às amigas Márcia Vidigal e Roberta Leone, pela disposição em ajudar.

Aos funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, em especial, Vânia, Eliane, Geralda, Lúcia, Nivaldo (Bilico), Juarez, Adão, Tomás (Perereca), Manoel (Tineca) e Marcos, que nunca mediram esforços para ajudar.

Ao Aristides, pelo amor, pelo companheirismo, pela paciência e pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus pais Maurinho e Heloisa, pelo exemplo, amor e incentivo.

Às minhas irmãs, tias e tios, pelo carinho e pela força.

A todos aqueles que, de alguma maneira, auxiliaram na execução deste trabalho e contribuíram para minha formação humana e acadêmica.

BIOGRAFIA

MANOELA MACIEL DOS SANTOS DIAS, filha de Maurinho Luiz dos Santos e Heloisa Maciel de Souza Santos, nasceu em Ponte Nova, Minas Gerais, em 8 de outubro de 1983.

Em 2001, iniciou o curso de Engenharia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Em setembro de 2004, foi contemplada com a bolsa CAPES/BRAFITEC para a realização de um ano de estudos na École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires - Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, França. Em outubro de 2006, graduou-se em Engenharia de Alimentos pela UFV.

Em março de 2007, iniciou o Programa de Pós-Graduação, em nível de mestrado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa da dissertação em março de 2009.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XV
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Perfil da Terceira Idade.....	4
2.2. Alimentos Funcionais.....	6
2.2.1. Luteína e Zeaxantina.....	7
2.2.2. Resveratrol	12
2.2.3. Prebióticos	15
2.2.4. Probióticos	17
2.2.5. Mercado de Alimentos Funcionais	19
2.3. Atividade Antioxidante e o Método do Cátion Radical ABTS.....	22
2.4. Aspectos Gerais da Caprinocultura e Produção de Leite	23
2.4.1. Caprinocultura	24
2.4.2. Caracterização do Leite de Cabra.....	25
2.5. Cor em Alimentos	29
2.6. Análise Sensorial	32
3. O PROBLEMA E SUA IMPORTÂNCIA.....	35
4. REFERÊNCIAS	38
5. OBJETIVOS	54
5.1. Objetivo Geral.....	54
5.2. Objetivos Especificos	54

**CAPÍTULO 1 – LEITE DE CABRA FERMENTADO: FORMULAÇÃO E
QUANTIFICAÇÃO DE LUTEÍNA 55**

RESUMO.....	55
1. INTRODUÇÃO	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1. Amostras Avaliadas	58
2.2. Desenvolvimento do produto	58
2.3. Extração da luteína.....	62
2.4. Quantificação da luteína	62
2.5. Análise Estatística	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1. Padronização da metodologia de extração da luteína adicionada em leite de cabra fermentado	64
3.2. Quantificação de luteína por espectrofotometria UV-VIS.....	71
3.3. Quantificação de luteína por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	74
3.4. Correlação entre as concentrações de luteína determinadas por espectrofotometria (CVIS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE).....	79
4. CONCLUSÃO.....	80
5. REFERÊNCIAS	80

**CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA LUTEÍNA
ADICIONADA AO LEITE DE CABRA FERMENTADO 83**

RESUMO.....	83
1. INTRODUÇÃO	84
2. MATERIAL E MÉTODOS	85
2.1. Amostras avaliadas	85
2.2. Avaliação da Estabilidade das Formulações	85
2.2.1. Avaliação da atividade antioxidante	85
2.2.2. Avaliação de cor e pH	87
2.3. Análise Estatística	87
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88

3.1. Determinação da atividade antioxidante em função do tempo de reação com o cátion radical ABTS e do período de armazenamento do produto	88
3.2. Determinação do pH e da cor do produto durante o período de armazenamento (dias)	98
3.3. Correlação entre concentração de luteína determinada por espectrofotometria e atividade antioxidante	99
4. CONCLUSÃO	101
5. REFERÊNCIAS	101
CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE FORMULAÇÕES DE LEITE DE CABRA FERMENTADO	103
RESUMO	103
1. INTRODUÇÃO	104
2. MATERIAL E MÉTODOS	106
2.1. Formulações avaliadas	106
2.2. Desenvolvimento do Produto	106
2.3. Caracterização do Produto	107
2.3.1. Análises Físico-químicas	107
2.3.2. Análise Microbiológica	110
2.4. Avaliação Sensorial	111
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	113
3.1. Caracterização do Produto	113
3.2. Avaliação Sensorial	116
4. CONCLUSÃO	119
5. REFERÊNCIAS	119
6. CONCLUSÃO GERAL	123

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA..... 4

Tabela 1 - Mercado de produtos lácteos funcionais/fortificados no ano de 200620

Tabela 2 - Composição média de ácidos graxos^a (g/100g de leite) na gordura dos leites de cabra e vaca27

Tabela 3 - Composição média dos nutrientes básicos dos leites de cabra, de vaca e humano.....29

CAPÍTULO 1 – LEITE DE CABRA FERMENTADO: FORMULAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE LUTEÍNA 55

Tabela 1 - Procedimentos (P) de extração da luteína presente no produto comercial (5%)..... 66

Tabela 2 - Absorvância dos radicais ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) em função do tempo (minutos) de contato com as amostras de luteína obtidas pelos diferentes processos de extração..... 68

Tabela 3 - Valores médios da concentração de luteína (CVIS) presente no leite de cabra fermentado (mg/L) em função dos dias de armazenamento do produto 72

Tabela 4 - Resumo da análise de variância da concentração de luteína presente no leite fermentado (FCLVIS), determinada espectrofotometricamente, em função dos dias de armazenamento do produto (D)..... 73

Tabela 5 - Valores médios da concentração de luteína do produto comercial (LPCVIS) (mg/L) em função dos dias de armazenamento do produto 73

Tabela 6 - Valores médios observados da concentração de luteína (CCLAE) presente no leite de cabra fermentado (mg/L), em função dos dias de armazenamento do produto 77

Tabela 7 - Resumo da análise de variância da concentração de luteína presente no leite fermentado (FCL), determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em função dos dias (D) de armazenamento do produto..... 77

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA LUTEÍNA ADICIONADA AO LEITE DE CABRA FERMENTADO 83

Tabela 1 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) da luteína presente no leite fermentado (FCL) em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)	91
Tabela 2 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox –TEAC (mM) da luteína presente no leite fermentado (FCL) ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	92
Tabela 3 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)	92
Tabela 4 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox – TEAC (mM) da luteína presente na amostra comercial (LPC), ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)	92
Tabela 5 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	93
Tabela 6 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox – TEAC (mM) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	93
Tabela 7 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	94
Tabela 8 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	94
Tabela 9 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) do leite fermentado natural (FSB), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M).....	95

Tabela 10 - Equações de regressão ajustadas das variáveis PI e TEAC em função do tempo de reação em minutos (M) para as amostras de leite fermentado com adição de luteína (FCL) e de luteína do produto comercial (LPC) e de leite fermentado sem adição de composto bioativo (FSB), bem como os respectivos coeficientes de determinação.....	95
Tabela 11 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de cor e para o pH do leite fermentado com adição de luteína, em função do período de armazenamento em dias (D).....	98
Tabela 12 - Equações ajustadas para as variáveis L*, a*, b*, c*, h* e pH ...	99
Tabela 13 - Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis porcentagem de inibição (PI), capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) no tempo de 40 minutos e concentração da luteína presente no leite fermentado (FCL) determinada por espectrofotometria (CVIS).	100
Tabela 14 - Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis porcentagem de inibição (PI), capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) no tempo de 40 minutos e concentração da luteína presente na solução comercial (LPC), determinada por espectrofotometria (CVIS)	100

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE FORMULAÇÕES DE LEITE DE CABRA FERMENTADO..... 103

Tabela 1 - Procedimentos para realização e cálculos para análise do teor de lactose dos leites fermentados.....	110
Tabela 2 - Valores médios e desvios-padrão da caracterização físico-química do leite de cabra	113
Tabela 3 - Valores médios e desvios-padrão da caracterização físico-química das formulações de leite de cabra fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) e com adição de resveratrol (FCR) e luteína de consistência líquida (FCL) e gelatinosa (GCL).....	114
Tabela 4 - Contagem microbiana (UFC/g) das amostras de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), com adição de luteína (FCL) e com adição de resveratrol (FCR) após 30 dias de estocagem.....	115
Tabela 5 - Resumo da análise de variância para os escores hedônicos do teste de aceitação de amostras de leite fermentado	116
Tabela 6 - Média dos escores de aceitação para as amostras de leite fermentado	117

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA.....	4
Figura 1 - Estrutura química da luteína e da zeaxantina.....	8
Figura 2 - Estrutura química dos isômeros trans-resveratrol e cis-resveratrol.	12
Figura 3 - Sistema de coordenadas de cores CIELAB.....	31
CAPÍTULO 1 – LEITE DE CABRA FERMENTADO: FORMULAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE LUTEÍNA	55
Figura 1 - Fluxograma geral do processo de fabricação do leite fermentado	61
Figura 2 - Fluxograma do processo de centrifugação e extração (P5) utilizado para as amostras de leite fermentado com adição de luteína e sem adição de composto bioativo.....	71
Figura 3 - Espectro de absorção da luteína extraída do produto comercial e do leite fermentado, obtido no espectrofotômetro Shimadzu UV-Visível 1601PC.....	72
Figura 4 - Estimativa da concentração de luteína (mg/L) presente no leite fermentado, determinada por espectrofotometria (<i>FCLVIS</i>), em função dos dias de armazenamento do produto.	74
Figura 5 - Curva de calibração de luteína determinada por CLAE.....	75
Figura 6 - Cromatograma, obtido por CLAE, da luteína presente no leite fermentado. Coluna polimérica C ₃₀ (250 x 4,6 mm, 5 µm), fase móvel: metanol (0,1% de trietilamina): terc-butil-metil-éter (TBME) (95:5 v/v), modo isocrático e fluxo de 1 mL. min ⁻¹	76
Figura 7 - Estimativa da concentração de luteína (mg/L) presente no leite fermentado, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE), em função dos dias de armazenamento do produto (D).	78

**CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA LUTEÍNA
ADICIONADA AO LEITE DE CABRA FERMENTADO 83**

Figura 1 - Estabilização do radical ABTS⁺ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio..... 86

Figura 2 - Leituras da absorvância resultante da reação do cátion radical ABTS com o etanol absoluto (controle), com as amostras extraídas do leite fermentado sem compostos bioativos (FSB), do leite fermentado com adição de luteína (FCL) e do produto comercial de luteína (LPC)..... 89

Figura 3 - Curva de calibração do Trolox na presença do cátion radical ABTS..... 90

Figura 4 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de reação (min). 96

Figura 5 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de reação (min)..... 96

Figura 6 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de reação (min). 96

Figura 7 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de reação (min)..... 96

Figura 8 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de reação (min)..... 97

Figura 9 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de reação (min). 97

**CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO E ACEITABILIDADE SENSORIAL
DE FORMULAÇÕES DE LEITE DE CABRA FERMENTADO..... 103**

Figura 1 - Modelo de ficha hedônica de nove pontos. 112

Figura 2 - Mapa de Preferência Interno para as amostras de leite fermentado. 118

RESUMO

DIAS, Manoela Maciel dos Santos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2009. **Leite de cabra fermentado adicionado de prebiótico, probióticos e compostos bioativos destinado a idosos**. Orientador: Paulo César Stringheta. Co-Orientadores: Antônio Fernandes de Carvalho e Valéria Paula Rodrigues Minim.

O aumento na expectativa de vida da população tem despertado interesse por parte das indústrias de alimentos em desenvolver produtos com apelo funcional destinados a idosos. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações de leite de cabra fermentado, simbiótico, com baixo teor de lactose e adição dos compostos bioativos luteína e resveratrol. Foram feitas a extração, a quantificação e a avaliação da atividade antioxidante da luteína adicionada ao leite fermentado, bem como análises de cor e de pH do produto. Adicionalmente, foi realizada a avaliação sensorial das formulações, que diferiam entre si em relação à presença ou ausência de luteína, adição de resveratrol e consistência do produto: líquida ou gelatinosa. A quantificação da luteína foi realizada por espectrofotometria no visível (UV-VIS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A atividade antioxidante das amostras de luteína foi avaliada pela técnica do cátion radical ABTS. A aceitabilidade das formulações de leite fermentado foi avaliada utilizando a escala hedônica de nove pontos e a técnica do Mapa de Preferência Interno. Com base na análise de regressão dos resultados obtidos por UV-VIS e CLAE, observou-se efeito significativo ($p < 0,01$) do período de armazenamento do produto (dias) nas concentrações de luteína (mg/L). Ao mesmo tempo, de acordo com a técnica da Metodologia da Superfície de Resposta e o critério de Stepwise para seleção de variável, o período de armazenamento do produto (dias) não afetou de forma significativa ($p > 0,05$) a atividade antioxidante das amostras. Verificou-se correlação positiva entre a concentração de luteína determinada por espectrofotometria e sua respectiva atividade antioxidante, expressa em porcentagem de inibição (PI) ($r = 0,5461$; $p < 0,01$) e em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) ($r = 0,2826$; $p < 0,05$). Constatou-se

que, para as amostras de leite de cabra fermentado sem adição de compostos bioativos e com adição de luteína, tanto a porcentagem de inibição (PI) como a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) somente foram influenciadas pelo tempo de reação em minutos ($p < 0,05$). Ao se realizar a análise de regressão para avaliar o pH e os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , c^* e h^* do leite fermentado com adição de luteína, verificou-se que não houve efeito significativo ($p > 0,05$) do período de armazenamento do produto. De acordo com o teste de Tukey, a média de aceitação de todas as formulações de leite fermentado se situou entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”, indicando que foram bem aceitas. Pela técnica do Mapa de Preferência Interno, a amostra de leite de cabra fermentado com adição de luteína, de consistência gelatinosa foi a mais aceita pelos consumidores com faixa etária acima de 50 anos. Os dados mostram que as formulações apresentaram características sensoriais favoráveis e que a luteína mostrou estabilidade satisfatória ao longo do período de armazenamento do produto. O uso de ingredientes como o leite de cabra, a inulina, os probióticos, a luteína e o resveratrol nas formulações desenvolvidas contribuiu para a disponibilização de produtos com características funcionais adequadas a indivíduos acima de 50 anos.

ABSTRACT

DIAS, Manoela Maciel dos Santos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa; March of 2009. **Fermented goat milk with added prebiotic, probiotics and bioactive compounds for seniors.** Advisor: Paulo César Stringheta. Co-Advisors: Antônio Fernandes de Carvalho and Valéria Paula Rodrigues Minim.

The increase in the population's life expectancy has piqued the interest of the food industry in developing products with a functional appeal destined for seniors. The objective of this work was to develop fermented, symbiotic goat milk formulas with a low lactose content and an addition of the bioactive compounds lutein and resveratrol. The extraction, quantification and evaluation of the antioxidant activity of the lutein added to the fermented milk, color analysis and pH of the product were performed. Additionally, the sensory evaluation of the formulas was carried out, which differed from each other in regards to the presence or absence of lutein, the addition of resveratrol, and in the consistency of the product: liquid or gelatinous. The quantification of the lutein was accomplished by visible spectrophotometry (UV-VIS) and by high performance liquid chromatography (HPLC). The antioxidant activity of the lutein samples was evaluated by the radical cation ABTS technique. The acceptability of the fermented milk formulas was evaluated using the nine point hedonic scale and the Internal Preference Mapping technique. Using the regression analysis as a base for the UV-VIS and CLAE results, a significant effect ($p < 0.01$) of the product storage period (days) in lutein concentrations (mg/L) was observed. At the same time, in agreement with the Surface Answer Methodology and the Stepwise criterion for variable selection, the product storage period (days) didn't affect the antioxidant activity of the samples in a significant way ($p > 0.05$). It was possible to verify a positive correlation among the concentration of lutein determined by the spectrophotometry and its respective antioxidant activity, expressed in inhibition percentage (IP) ($r = 0.5461$; $p < 0.01$) and in Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) ($r = 0.2826$; $p < 0.05$). It was verified that for the samples of fermented goat milk without added bioactive

compounds and with added lutein, the inhibition percentage (IP) as well as Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) were only influenced by the reaction time in minutes ($p < 0.05$). While performing the regression analysis to evaluate the pH and the color parameters L^* , a^* , b^* , c^* , h^* of the fermented milk with the lutein addition, it was verified that there was not a significant effect ($p > 0.05$) on the product storage period. In agreement with the Tukey Test, the average acceptance of all the fermented milk formulas were located among the hedonic terms “I liked it moderately” and “I liked it a lot”, showing that they were well accepted. For the Internal Preference Mapping technique, the sample of fermented goat milk with added lutein, with a gelatinous consistency (GCL) was the most accepted by consumers over the age of 50. The data shows that the formulas presented favorable sensorial characteristics and that lutein showed satisfactory stability during the product storage period. The use of ingredients such as goat milk, inulin, probiotics, lutein and resveratrol in the developed formulas contributed to the availability of products with appropriate functional characteristics for individuals over the age of 50.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O processo de envelhecimento populacional é um fenômeno mundial que tem provocado profundas modificações na estrutura da sociedade, despertando especial interesse por parte do governo, das instituições de pesquisa e da indústria.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o idoso não deve ser visto como um problema para o País. Ações devem ser realizadas no intuito de otimizar as oportunidades de saúde (bem-estar físico, mental e social), a participação e a segurança, com a finalidade de melhorar a qualidade de vida das pessoas, proporcionando-lhes um “envelhecimento ativo” (WHO, 2005).

A qualidade de vida está intimamente ligada à qualidade da dieta que se consome, assim como ao estilo de vida do indivíduo, pois é o alimento que fornece todos os elementos necessários para o homem, tanto para o seu desenvolvimento físico quanto para as suas atividades intelectuais e sociais (MOURA, 2005; CRUZ et al., 2007).

Nos últimos anos, tem-se observado uma preocupação mais acentuada da população brasileira com relação à saúde e ao bem-estar. As pessoas têm buscado uma alimentação saudável, assim como a prática de atividade física. Dessa maneira, o surgimento do conceito de alimentos com alegações de propriedades funcionais, ou seja, alimentos que exercem funções fisiológicas benéficas ao organismo além da função de nutrir, tem tornado mais próxima a relação entre a ciência da nutrição e a medicina (STRINGHETA, 2007).

Alguns ingredientes têm se destacado por conferir funcionalidade aos alimentos: os prébióticos, os probióticos e os compostos bioativos. Os microrganismos probióticos, principalmente *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* sp., têm sido muito utilizados na indústria de laticínios por exercerem efeitos benéficos à saúde (ANTUNES, 2001). A adição de substâncias prebióticas, como a inulina, favorece o crescimento de bifidobactérias do cólon e melhora o equilíbrio da microbiota intestinal

(GIBSON, 1999). Entre os compostos bioativos, podem-se destacar a luteína e o resveratrol, potentes antioxidantes que atuam protegendo os tecidos dos ataques dos radicais livres, estando diretamente relacionados à redução do risco de doenças, sobretudo oculares (DELCOURT et al., 2006) e cardiovasculares (WU et al., 2001), respectivamente.

Alguns alimentos industrializados com alegações de propriedades funcionais estão disponíveis no mercado, como margarinas adicionadas de fitosteróis, que reduzem a absorção do colesterol; leites fermentados, iogurtes e bebidas, adicionados de pré e probióticos, que auxiliam o funcionamento do intestino; e produtos à base de soja, que ajudam a reduzir o risco de osteoporose (SEPPANEN-LAAKSO et al., 1992; MÜLLER et al., 1998; CHIECHI et al., 2002; BRANDÃO, 2002; ANONYMOUS, 2005).

Dentro do contexto de alimentos saudáveis, um novo mercado a ser explorado é o de derivados lácteos de caprinos, devido aos vários benefícios que eles podem proporcionar à saúde humana. O leite de cabra possui características de melhor alcalinidade, digestibilidade e capacidade tamponante se comparado ao leite de vaca, bem como reduzido teor de caseína α -s1, que é uma das principais proteínas causadoras de intolerância ao leite de vaca em muitas crianças e até mesmo em adultos (HAENLEIN; CACCESE, 1984; PARK, 1994; JANDAL, 1996; HAENLEIN, [1997]; WAL, 1998; ALFÉREZ et al., 2001; BARRIONUEVO et al., 2002).

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de obter novas estratégias de enriquecimento de alimentos, a fim de promover benefícios à saúde humana. A existência de alimentos com componentes fisiologicamente ativos tem incentivado a realização de estudos para a comprovação da atuação dos compostos bioativos na redução de riscos de certas doenças. A comprovação desses efeitos benéficos tem estimulado a indústria alimentícia a desenvolver novos produtos com apelo funcional (THAMER; PENNA, 2006).

A popularização das informações acerca dos alimentos funcionais tem despertado o interesse dos consumidores – cada vez mais preocupados com a saúde e qualidade de vida – por esses alimentos. Diante dos novos anseios dos consumidores, os prebióticos, probióticos e componentes bioativos surgem como ingredientes potenciais para o desenvolvimento de

produtos com alegação de propriedades funcionais; e o leite de cabra se torna uma alternativa alimentar para idosos e indivíduos que desenvolvem intolerância e reações alérgicas ao consumo de leite de vaca.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver produtos lácteos fermentados à base de leite de cabra, destinados a idosos, simbióticos, adicionados de compostos bioativos, avaliando-se a estabilidade e a aceitação pelos consumidores em potencial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Perfil da Terceira Idade

O envelhecimento populacional tem ocorrido de forma intensa não só nos países desenvolvidos, como também naqueles em desenvolvimento.

O crescimento mundial do número de idosos (população acima de 60 anos) resulta principalmente do aumento da expectativa de vida e da redução da taxa de fecundidade. A redução do índice de mortalidade é proporcionada por melhorias nas condições de vida e avanços na ciência médica (PHILLIPS, 2003).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o número de idosos no Brasil passará de 14,5 milhões, valor estimado no ano de 2000, para 19,3 milhões no ano de 2010, uma elevação de 33,1%. Ao mesmo tempo, a quantidade de brasileiros aumentará 15,9%, passando de 169,8 milhões para 196,8 milhões (IBGE, 2006).

O estado de saúde dos idosos está relacionado com o seu estilo de vida e também com fatores ambientais, sendo a dieta e a prática de exercícios físicos os de importância primordial (McCOOL et al., 2001).

Os idosos geralmente apresentam maiores riscos de deficiências nutricionais do que os adultos mais jovens. Eles mostram mudanças naturais associadas ao envelhecimento (redução da massa corporal magra, redução da água total do corpo, redução da densidade óssea e aumento da proporção da gordura corporal total), bem como desafios fisiológicos associados às doenças crônicas e agudas. Além dessas mudanças, a prescrição de medicamentos, o *status* financeiro e social e o declínio da capacidade funcional podem interferir na ingestão de uma dieta adequada. Entre os fatores fisiológicos, podem-se destacar distúrbios digestivos, alterações na percepção sensorial, doenças e uso de medicamentos, problemas de dentição, redução do fluxo salivar, boca seca e redução da sensação de sede (PHILLIPS, 2003; CHERNOFF, 2005).

O comprometimento da saúde oral – como as doenças e limitações na cavidade oral – pode afetar a habilidade de ingestão, mastigação e movimentação de comidas e fluidos, afetando potencialmente o estado de nutrição global e a saúde sistêmica (CHERNOFF, 2005; TOUGER-DECKER, 2005).

As percepções sensoriais de aroma, sabor, aparência e textura do indivíduo em relação ao alimento diminuem com o aumento da idade. Entre as mudanças sensoriais, o olfato e a gustação interferem mais diretamente na ingestão de alimentos. A visão prejudicada também pode influenciar negativamente o consumo de alimentos, em decorrência da diminuição do reconhecimento do produto e da habilidade de alimentar-se (CAMPOS, 2000).

As necessidades de energia também diminuem com a idade. Isso ocorre porque a prática reduzida de atividade física leva a uma perda acelerada do músculo, e o resultante declínio da força e massa muscular conduz a uma redução da taxa metabólica basal, que é um dos principais componentes responsáveis pelo gasto de energia (PHILLIPS, 2003).

Pessoas idosas têm exigência aumentada de vitamina D, que é necessária para absorção de cálcio e importante para a saúde óssea; necessidade de vitaminas B6, B12 e folato, devido às desordens que afetam a absorção; exigência de fontes antioxidantes, como, por exemplo, as vitaminas C e E, pois estas atuam sobre os radicais livres, retardando o risco de algumas doenças crônico-degenerativas; e necessidade de minerais como ferro, cálcio, zinco e fitato, e também de macronutrientes, como as proteínas (PHILLIPS, 2003).

Além dos nutrientes essenciais, outros componentes do alimento, em particular os fitoquímicos, que são alimentos derivados de plantas, têm papel importante na manutenção da saúde. Esses compostos podem produzir efeitos hormonais, anti-inflamatório ou antioxidante (PHILLIPS, 2003).

Vários estudos têm relacionado os alimentos funcionais, que possuem compostos bioativos não nutrientes, com a redução do risco de uma série de doenças adquiridas com o envelhecimento. Assim, uma alimentação adequada às necessidades do indivíduo idoso pode exercer papel

fundamental na promoção, manutenção e recuperação da saúde (CHERNOFF, 2005).

2.2. Alimentos Funcionais

Nos anos 80 surgiu no Japão o termo Alimentos Funcionais, principalmente em razão de uma população sempre crescente de idosos e da preocupação, tanto da população em geral como do governo, com a prevenção das doenças crônicas e degenerativas (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

Alimento funcional pode ser definido como semelhante em aparência ao alimento convencional, consumido como parte da dieta usual, capaz de produzir demonstrados efeitos metabólicos ou fisiológicos úteis na manutenção de uma boa saúde física e mental, podendo auxiliar na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, além das suas funções nutricionais básicas. Nessa definição podem ser incluídos os alimentos ou bebidas com alegação de algum benefício à saúde, com base em evidências científicas, aprovadas por autoridade competente (LAJOLO, 2006). Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os alimentos funcionais, além de atenderem às exigências para comprovação da funcionalidade, devem ser seguros para o consumo sem supervisão médica (BRASIL, 1999).

É importante considerar que o fato de o alimento conter substâncias fisiologicamente ativas não é suficiente para se considerá-lo funcional. Essas substâncias devem estar presentes nos alimentos funcionais em quantidade suficiente e adequada para produzir o efeito fisiológico desejado (SGARBIERI; PACHECO, 1999).

Algumas substâncias, como a luteína e a zeaxantina, o resveratrol, os prebióticos e os microrganismos probióticos, se destacam por apresentarem funções fisiológicas importantes na saúde humana.

2.2.1. Luteína e Zeaxantina

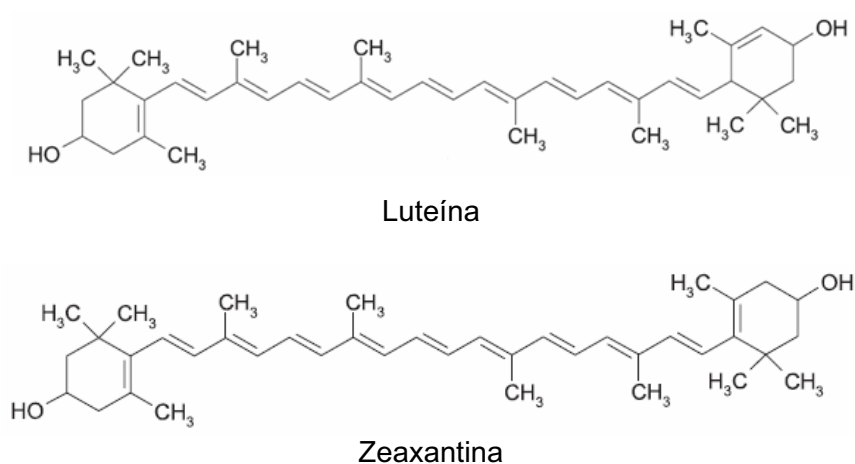
A luteína e a zeaxantina são carotenoides lipossolúveis, pertencentes à família das xantofilas. Os carotenoides são corantes naturais, geralmente tetraterpenóides de 40 átomos de carbono, que possuem um sistema de duplas conjugadas, que são responsáveis por sua suscetibilidade à isomerização e à oxidação, mas também por suas funções biológicas. A isomerização da forma *trans*, sua configuração usual, na forma *cis* pode ocorrer na presença de ácidos, luz e calor (BRITTON, 1992; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

A oxidação enzimática e não-enzimática é a principal causa de perda de carotenoides durante o processamento e estocagem dos alimentos. A ocorrência da oxidação depende da presença de oxigênio e é acelerada por metais, enzimas, luz, altas temperaturas e por cooxidação com lipídeos hidroperóxidos. A degradação dos carotenoides pode ser influenciada também pela severidade e duração do processamento do alimento, pelo material da embalagem e pelas condições de estocagem (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001, 2003).

Os carotenoides na forma pura, normalmente, são estabilizados por suspensão ou solução de óleos vegetais, especialmente na presença de antioxidantes, como o α -tocoferol (BRITTON, 1992). Em organismos vivos, os carotenoides podem ser estabilizados por proteínas. Os carotenoides *in vivo* são mais estáveis do que quando isolados em solventes orgânicos; eles se associam à fração hidrofóbica da proteína ou aos componentes lipídicos das lipoproteínas. Isso permite que o carotenoide seja transportado e exerça função no meio aquoso. A interação com proteína pode alterar as propriedades físicas ou químicas dos carotenoides (BRITTON, 1995).

A luteína e a zeaxantina são estereoisômeros di-hidroxiados, com nove duplas ligações na cadeia poliênica e diferem entre si na posição da dupla ligação em um dos anéis ionona (Figura 1). A presença de grupos hidroxilas confere maior polaridade à zeaxantina e luteína, quando comparados com os carotenos análogos, alfa e betacaroteno, respectivamente (KRINSKY et al., 2003; ALVES-RODRIGUES; SHAO,

2004). A luteína e a zeaxantina não podem ser sintetizadas pelo organismo humano; logo, devem ser adquiridas na dieta. Esses dois carotenoides acumulam-se na retina dos olhos, sobretudo na região conhecida como mácula lútea, à qual conferem uma coloração amarelada (SNODDERLY, 1995). Na dieta, são encontrados principalmente em vegetais folhosos de coloração verde-escura, como espinafre, couve, brócolis; contudo, podem ser encontrados também em gema de ovo, milho, laranja, melão, kiwi e pimentão-amarelo (THANE; REDDY, 1997; SOMMEMBURG et al., 1998; HOLDEN et al., 1999).



Fonte: Cerqueira et al. (2007).

Figura 1- Estrutura química da luteína e da zeaxantina.

A luteína e a zeaxantina são mais solúveis em solventes não-polares, como hexano, benzeno, éteres, cloreto de metileno e clorofórmio. Entretanto, são também solúveis em álcoois em geral (KRINSKY et al., 2003). Em estudo realizado por Craft e Jr. (1992), foi observado que a luteína possuía a mais alta solubilidade em tetraidrofurano, enquanto a menor solubilidade foi observada em hexano.

A biodisponibilidade da luteína e zeaxantina pode ser afetada por fatores relacionados à dieta, como o tipo de carotenoide, a matriz do alimento, a interação com outros carotenoides, interação com gordura (VAN HET HOF et al., 2000; YEUM; RUSSELL, 2002), e por fatores relacionados

ao indivíduo, como idade, sexo, consumo de álcool, tabagismo e as disfunções hepáticas e renais (BRADY et al., 1996; ALBANES et al., 1997).

A luteína e a zeaxantina possuem papel crítico na manutenção da função visual normal. Absorvem a luz visível e são importantes na transferência e sequestro de oxigênio singlete, bem como no sequestro de radicais peroxil e radicais tocoferol, podendo ainda inibir a peroxidação lipídica. A proteção contra a foto-oxidação está relacionada ao número de ligações duplas conjugadas (STAHL; SIES, 2003; KRINSKY; JOHNSON, 2005).

Estudos têm mostrado que a suplementação com alimentos ricos em carotenoides, especialmente a luteína, tem a capacidade de aumentar a concentração e a densidade do pigmento macular (HAMMOND et al., 1997), resultando numa relação inversa entre consumo de luteína na dieta e o risco de doenças oculares (DAVIES; MORLAND, 2004). Entretanto, o incremento desses carotenoides na dieta não implica retorno à visão normal, e sim diminuição ou estabilização da perda progressiva da visão em indivíduos propensos a essa enfermidade.

A degeneração macular é uma lesão que afeta a mácula, provocando embaçamento da visão central. É considerada a maior causa de cegueira irreversível em indivíduos idosos (LIANG; GODLEY, 2003). A catarata normalmente é causada por oxidação fotoinduzida de proteína e subsequente precipitação dessas proteínas danificadas, provocando opacificação no cristalino dos olhos (VITALE et al., 1993; BRON et al., 2000). Assim, o efeito protetor da luteína e zeaxantina nos olhos pode se dar pela ação antioxidante e pela absorção de comprimentos de onda da luz azul, evitando a formação de espécies reativas de oxigênio, que poderiam causar danos nas células fotorreceptoras, limitando assim o estresse oxidativo da retina resultante da atividade metabólica e da ação direta da luz (KHACHIK et al., 1997; KRINSKY et al., 2003).

Khachik et al. (1997), ao caracterizarem os carotenoides e os metabólitos presentes em 58 pares de retina humana, verificaram a presença de produtos de oxidação direta da luteína e 3'-epiluteína (metabólito da luteína e zeaxantina), o que indica que os carotenoides luteína e zeaxantina podem atuar como antioxidantes, protegendo a mácula

contra os comprimentos de onda da luz visível. A via de oxidorredução proposta para a luteína e zeaxantina na retina humana pode também ter papel importante na redução do risco de degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e catarata.

Em um estudo de caso controlado realizado por Seddon (1994), observou-se que as pessoas que consumiram vegetais folhosos de coloração verde, contendo alta concentração de luteína (aproximadamente 6 mg/dia), tiveram redução de 43% do risco de degeneração macular exsudativa, quando comparadas aos indivíduos que consumiram uma menor dose.

Em estudos realizados por Delcourt et al. (2006) com 899 pessoas, observou-se que altos níveis de luteína e zeaxantina no plasma estavam relacionados com o reduzido risco de maculopatia relacionada à idade e de catarata nuclear. Estudo reportado pelo grupo de pesquisa de doenças oculares relacionadas à idade (AREDS), com 4.519 participantes com idade entre 60 e 80 anos, também mostrou que o alto consumo de luteína e zeaxantina estava associado à redução da degeneração macular neovascular relacionada à idade (SANGIOVANNI et al., 2007).

Segundo Bone et al. (2003), a concentração plasmática de luteína pode aumentar mediante suplementação alimentar. Resultados semelhantes foram obtidos por Koh et al. (2004), os quais demonstraram que a suplementação com 10 mg/dia de luteína aumentava a concentração de luteína no plasma em torno de quatro a cinco vezes em quatro semanas, tanto para pacientes com a doença macular como para aqueles que não a possuíam.

Em estudo realizado por Hammond et al. (1997), oito pessoas apresentaram aumento de luteína no soro e aumento da densidade do pigmento macular após modificarem a dieta diária, adicionando 60 g/dia de espinafre (contendo 10,8 mg de luteína e 0,3 mg de zeaxantina) por 15 semanas.

Landrum et al. (1997) observaram que a administração de 30 mg/dia de luteína provocou aumento de 39% e 21% nos níveis de luteína presentes na mácula de dois indivíduos estudados. Esses pesquisadores estimaram que a suplementação de luteína poderia ter produzido uma redução de 30 a

40% na luz azul que atingia os fotorreceptores, a membrana Brunch e o epitélio do pigmento retinal.

Omedilla et al. (2003), ao realizarem um estudo randomizado, duplo cego, com 17 pacientes com catarata relacionada à idade, observaram aumento da concentração de luteína no soro e aumento do desempenho visual em indivíduos que receberam suplementação de 15 mg de luteína três vezes por semana, durante dois anos.

Vários estudos sugerem que a luteína e a zeaxantina podem atuar não só na região ocular, reduzindo os riscos de catarata e degeneração macular relacionada à idade, como também reduzindo o risco de aterosclerose e os danos causados pela radiação ultravioleta na pele (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

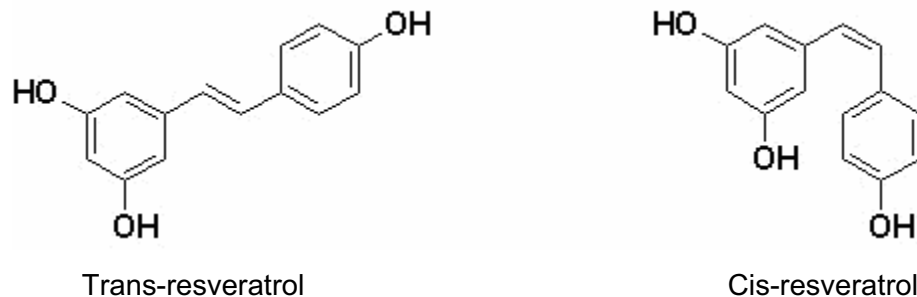
Em estudos realizados por Dwyer et al. (2001) com camundongos, observou-se que a suplementação da dieta com luteína diminuiu em 43% as lesões ateroscleróticas e inibiu a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) de maneira dose-dependente.

Palombo et al. (2007) realizaram um estudo clínico randomizado (placebo controlado) com 40 mulheres saudáveis durante 12 semanas. A administração oral de 5 mg luteína e 0,3 mg de zeaxantina e a aplicação tópica de 50 ppm de luteína e 3 ppm de zeaxantina sobre a pele humana, duas vezes por dia, apesar de proporcionarem significativa atividade na pele, quando administradas simultaneamente, proporcionaram maior grau de proteção antioxidante. Além da proteção da pele contra o efeito deletério induzido pela luz ultravioleta e da redução da peroxidação lipídica observada, a luteína e a zeaxantina proporcionaram aumento da superfície lipídica, hidratação e elasticidade da pele.

A ausência de efeitos adversos claros nas publicações disponíveis com dados clínicos em humanos e animais fornece um elevado nível de confiança no que diz respeito ao uso da luteína em suplementos dietéticos. Evidências de ensaios clínicos bem controlados e randomizados indicam que o nível máximo para suplementação é de 38 mg por dia de luteína *all-trans* (SHAO; HATHCOCK, 2006).

2.2.2. Resveratrol

O resveratrol é um polifenol pertencente à classe dos estilbenos – um grupo de compostos que consistem em dois anéis aromáticos ligados por uma ponte metileno. É encontrado em diversas plantas, como eucalipto, amendoim, amora, cacau, Kojo-kon (*Polygonum cuspidatum*), Kashuwu (*Polygonum multiflorum*) e, em especial, nas uvas (*Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*) (SOLEAS, 1997; DONG, 2003; KING et al., 2006). Ocorre também em chás, frutas, várias plantas medicinais e em vinhos, especialmente os tintos (DAVID et al., 2007). Quimicamente, apresenta-se sob duas formas isoméricas (Figura 1): trans-resveratrol (trans-3, 5, 4'-triidroxiestilbeno) e cis-resveratrol (cis-3, 5, 4'-triidroxiestilbeno); a forma trans é a mais comum e a que possui melhor atividade biológica (KING et al., 2006). Sua estrutura molecular é similar à do estrogênio sintético, o dietilestilbestrol. Portanto, tem propriedades farmacológicas similares às do estradiol, principal estrogênio natural humano (BRADAMANTE et al., 2004).



Fonte: Filip et al. (2003).

Figura 2 - Estrutura química dos isômeros trans-resveratrol e cis-resveratrol.

O resveratrol é considerado um metabólito secundário biologicamente ativo pertencente a um conjunto de compostos denominados fitoalexinas (uma classe de compostos produzida como parte do sistema de defesa da planta contra doenças), que se caracterizam pelo baixo peso molecular e presença de atividade microbiana inibitória (LANGCAKE et al., 1979).

De acordo com os estudos de Trela e Waterhouse (1996), o trans-resveratrol é estável por meses quando protegido da luz, exceto em tampões de alto pH. Já o isômero cis-resveratrol é estável somente em pH próximo do neutro e quando completamente protegido da luz. O pH baixo causa isomerização do isômero cis-resveratrol no isômero trans, uma forma estericamente mais estável.

Segundo Sun et al. (2008), a solubilidade do trans-resveratrol aumenta com a temperatura, porém reduz com o aumento do número de carbono em solventes alcoólicos. Esses autores observaram ainda que a solubilidade do trans-resveratrol em tetraidrofurano e em acetona era maior quando comparada com a de outros solventes alcoólicos. Filip et al. (2003) observaram que a solubilidade do resveratrol, apesar de ser baixa em água a 20 °C, pode ser aumentada quando esta é misturada com etanol em concentração superior a 20% v/v.

O resveratrol é um composto fenólico presente no vinho, principalmente tinto, que tem atraído atenção especial nas últimas décadas devido ao fenômeno conhecido como “Paradoxo Francês”, o qual mostra que os franceses, apesar de possuírem uma dieta rica em gorduras de origem animal, possuem taxa de mortalidade relativa a doenças cardiovasculares correspondente a um terço da mesma taxa observada nos Estados Unidos e incidência de infarto do coração cerca de 40% menor do que no resto da Europa. Segundo especialistas, essa diferença é decorrente do hábito de consumo de vinho tinto pelos franceses em suas refeições (RENAUD; LORGERIL, 1992).

Alguns estudos têm mostrado que o resveratrol protege o sistema cardiovascular, protegendo contra aterosclerose por inibição da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade - LDL (JEFREMOV et al., 2007) e por supressão da agregação plaquetária (PACE-ASCIK et al., 1996; WU et al., 2007).

A inibição da agregação plaquetária pelo resveratrol foi avaliada em diferentes concentrações *in vitro* no plasma de voluntários sadios. Numa concentração de 3,56 µg/L, o resveratrol inibiu em 50,3% a agregação plaquetária. Em concentrações de 1,2 µg/L, a inibição foi da ordem de 41,9% (BERTELLI et al., 1995).

O trans-resveratrol atua como um potente antagonista ativo do estrogênio nas concentrações de 10-1.000 $\mu\text{mol/kg}$, e sua administração concomitante pode reduzir os níveis de estrogênio administrados após a menopausa, diminuindo os riscos de câncer (RATNA; SIMONELLI, 2002).

Estudos recentes mostram que o resveratrol pode afetar os processos das três etapas da carcinogênese: o início do tumor, a promoção e a progressão. Também tem sido mostrado que reduz a angiogênese e metástase, e estudos com cultivo de células humanas indicam que o resveratrol modula múltiplos caminhos envolvidos em crescimento de células, apoptose e inflamação (ATHAR et al., 2007). A atividade anticancerígena do resveratrol parece estar ligada a suas propriedades anti-inflamatórias, que permitiriam ao organismo bloquear a produção de certas substâncias químicas, conhecidas como prostaglandinas, que têm sido relacionadas a transformações de lesões pré-cancerosas em lesões malignas (PENNA; HECKTHEUER, 2004). Vários estudos mostram que o resveratrol pode ter um efeito protetor no sistema nervoso, pela diminuição do estresse oxidativo de células neuronais (MILOSO et al., 1999).

O resveratrol atua como um antagonista competitivo da dioxina e de outros ligantes dos receptores aril hidrocarbonetos (AhR), que podem causar muitos efeitos indesejados sobre a saúde, como imunossupressão, carcinogênese e danos nas células endoteliais (CASPER et al., 1999).

A maioria dos estudos sobre a toxicidade do resveratrol mostra a ausência de efeitos adversos desses compostos, a menos que sejam administrados em doses extremamente altas. Em um estudo realizado por Crowell et al. (2004), objetivou-se avaliar o potencial de toxicidade do resveratrol em ratos. Para isso, foram administrados por gavagem 0, 300, 1.000 e 3.000 mg de trans-resveratrol por quilograma de peso corporal por um período de quatro semanas. De acordo com os resultados, a maioria dos eventos adversos ocorreu quando foram administrados 3.000 mg de resveratrol, e os principais sintomas foram: redução do peso corpóreo final, redução do consumo de alimento, elevação dos níveis de creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, bilirrubina total e albumina, bem como redução nos níveis de hemoglobina, hematócrito e contagem de células vermelhas e aumento de células brancas. Foi observado também

aumento da incidência nefropatológica. Nenhum efeito adverso foi observado quando foram administradas concentrações abaixo de 300 mg por quilograma de peso corporal.

O resveratrol pode ser encontrado naturalmente em mais de 70 espécies de vegetais e possui aplicação em fitoterápicos, fármacos e alimentos, em razão de suas propriedades nutracêuticas (LATRUFFE et al., 2002).

2.2.3. Prebióticos

O termo prebiótico foi introduzido por Gibson e Roberfroid (1995) e definido como “um componente presente nos alimentos resistente à digestão pelas enzimas endógenas do trato gastrintestinal, que afeta beneficemente o hospedeiro através da estimulação seletiva do crescimento e/ou da atividade de uma ou de um limitado número de bactérias no cólon, proporcionando, desta forma, um estado de saúde para o hospedeiro”. Assim, a fermentação bacteriana passa a ter significado clínico e efeitos metabólicos importantes na fisiologia do intestino grosso (RODRÍGUEZ et al., 2003).

Para que uma substância (ou grupo de substâncias) possa ser definida como prebiótico, deve cumprir os seguintes requisitos: ser de origem vegetal; formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas; não ser digerida por enzimas digestivas; ser parcialmente fermentada por uma colônia de bactérias; e ser osmoticamente ativa (RODRÍGUEZ et al., 2003).

Schley e Field (2002) sugerem que os prebióticos desempenham função de moduladores imunológicos. Essa modulação se dá em função de três mecanismos principais: contato direto das células imunes do intestino com a parede celular e/ou componentes citoplasmáticos de bifidobactérias e bactérias ácido-láticas, cujo crescimento foi estimulado pela ação dos prebióticos; fermentação dos prebióticos com conseqüente produção de ácidos graxos de cadeia curta; e secreção de muco induzida por prebióticos.

Segundo Holzapfel e Schillinger (2002), os efeitos positivos confirmados com respeito aos prebióticos podem ser assim resumidos: baixo valor de energia não digestível (menor que 9 kJ/g); aumento do volume das fezes (maior trânsito intestinal); e modulação da microbiota por estímulo das bactérias benéficas (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* spp. e *Eubacterium*) e/ou inibição de bactérias patogênicas (*Clostridium* e *Bacteroides*).

Hamilton-Miller (2004) ressalta os efeitos do consumo de prebióticos sobre a prática de medidas de promoção de saúde em idosos. Entre os efeitos promovidos pelos prebióticos neste grupo etário específico destacam-se a redução da intolerância à lactose, o aumento da biodisponibilidade de cálcio e a redução na ocorrência de constipação intestinal. Em razão dessas evidências, o autor sugere a realização de estudos que possibilitem a prática sistemática e segura da suplementação de prebióticos na população idosa, com o objetivo de promoção de melhores condições de saúde.

Entre os prebióticos, a inulina tem recebido expressiva atenção nos estudos científicos. Trata-se de uma fibra solúvel, fermentável e não digerível pela α -amilase e por enzimas hidrolíticas, como a sacarase, a maltase e a isomaltase, no trato gastrintestinal (SAAD, 2006). Pertence ao grupo das frutanas e consiste em um polímero linear de D-frutose com ligações glicosídicas β (2 \rightarrow 1), com grau de polimerização de 11 a 60. É encontrada em uma série de produtos vegetais, principalmente na raiz de chicória (*Chicorium intybus* L.), uma planta nativa da Europa, África e América, que pode ser cultivada em qualquer lugar do mundo (CATALDO et al., 2007).

Devido ao tamanho da sua cadeia, a inulina é pouco solúvel e tem a habilidade de formar microcristais quando misturada em água ou leite. Esses microcristais não são percebidos na boca, mas interagem para formar uma textura finamente cremosa que promove na boca uma sensação semelhante à da gordura. A inulina tem sido utilizada com sucesso como substituto de gordura em vários produtos alimentares, como bolos, chocolates, embutidos, produtos lácteos (NINESS, 1999), além de ser utilizada na produção de alimentos de baixa caloria, uma vez que possui maior poder adoçante que a glicose ou sacarose e pode ser usada também por diabéticos; também é

usada como ingrediente funcional nas indústrias farmacêuticas (CATALDO et al., 2007).

A inulina é considerada um ingrediente funcional, uma vez que exerce influência sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, resultando em melhoria da saúde e em redução do risco de aparecimento de diversas doenças. Recomenda-se que ela seja utilizada simultaneamente com probióticos em alimentos, para obtenção do efeito simbiótico (NINESS, 1999).

2.2.4. Probióticos

Probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, são capazes de melhorar o equilíbrio da microbiota intestinal, produzindo efeitos benéficos à saúde e ao bem-estar do hospedeiro (SALMINEN et al., 1999; FAO/WHO, 2001; DUPONT, 2001; BRASIL, 2002).

Para que um microrganismo seja considerado probiótico, sua estirpe deve ser de origem humana, deve ser seguro para uso humano, sobreviver à passagem pelo trato digestório, aderir à mucosa intestinal e manter sua viabilidade e atividade metabólica. Para resistir às condições do trato gastrointestinal, as culturas probióticas devem apresentar tolerância à bile e atividade de hidrólise de sais biliares, além de resistir às condições ácidas e ricas de proteases no estômago. A adesão à mucosa intestinal é considerada importante para a modulação imune (KLAENHAMMER; KULLEN, 1999; OUWEHAND et al., 2002); por meio dela, as bactérias probióticas conseguem inibir a colonização de outros microrganismos parcialmente patogênicos. Além disso, a adesão amplia o período de interação entre as bactérias probióticas, a microbiota intestinal e o sistema imunológico do trato intestinal (ALONSO et al., 2007). Adicionalmente, os microrganismos probióticos devem ser capazes de competir com a microbiota normal e resistir aos metabólitos produzidos por membros dessa microbiota, incluindo bacteriocinas, ácidos orgânicos e outros agentes

antimicrobianos (KLAENHAMMER; KULLEN, 1999; PUUPPONEN-PIMIÄ et al., 2002).

As propriedades físico-químicas dos alimentos têm influenciado a sobrevivência de estirpes probióticas durante o trânsito intestinal. A capacidade tamponante e o pH do meio carreador são fatores relevantes. Formulações de alimentos com pH entre 3,5 e 4,5, como iogurtes, queijos e leites fermentados, têm alta capacidade tamponante e podem aumentar o pH do sistema gástrico e, assim, aumentar a estabilidade da estirpe probiótica. O leite tem aumentado a viabilidade de estirpes de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* sensíveis a ácido em testes de simulação do trato gastrodigestório (CHARTERIS et al., 1998b).

A temperatura ideal para a fermentação de produtos que contêm probióticos é 37-40 °C, visto que essa é a faixa de temperatura na qual os probióticos melhor se multiplicam (SAARELA et al., 2000).

Em produtos fermentados é importante que as culturas de probióticos contribuam para uma boa propriedade sensorial. Assim, é comum a utilização de um mix de bactérias probióticas com outros tipos de bactérias capazes de promover a fermentação do produto específico. Para produtos derivados do leite, os probióticos são frequentemente misturados a *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* para promover sabor e textura agradável (SAARELA et al., 2000).

Para garantirem um efeito contínuo e serem de importância fisiológica ao consumidor, os probióticos devem ser ingeridos diariamente e alcançar populações acima de 10^6 a 10^7 UFC/g ou mL de produto (BLANCHETTE et al., 1996; JELEN; LUTZ, 1998).

Os veículos para os microrganismos probióticos existentes atualmente integram três grandes grupos: alimentos infantis; leites fermentados e outros produtos lácteos; e preparações farmacêuticas (GOMES; MALCATA, 2002). Muitas pesquisas em termos de probióticos estão voltadas para produtos como leites fermentados e iogurtes, sendo esses os principais produtos comercializados no mundo, contendo culturas probióticas (STANTON et al., 1998, 2003; OLIVEIRA et al., 2002).

Vários estudos têm comprovado os efeitos benéficos dos alimentos probióticos, sobretudo no tocante à redução e prevenção da diarreia

causada por rotavírus e redução dos sintomas de intolerância à lactose (KIM; GILLILAND, 1983; De ROOS; KATAN, 2000; SALMINEN, 2001).

Os microrganismos *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 e *Lactobacillus acidophilus* LA-5, considerados probióticos, com aprovação pela Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF/ANVISA), foram testados quanto à resistência ao HCL e à bile, por ensaios *in vitro*, e apresentaram estabilidade suficiente para sobreviverem à passagem pelo estômago e pelo intestino delgado em percentuais elevados. Vários pesquisadores mostraram que o *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 e o *L. acidophilus* LA-5 apresentam boa capacidade de adesão à mucosa intestinal de humanos. Ao utilizarem os estudos sobre o comportamento da adesão para investigar a capacidade de diferentes culturas probióticas de proteger células intestinais contra infecção por bactérias patogênicas, detectaram uma inibição de mais de 60% da *Salmonella* Typhimurium com o *L. acidophilus* LA-5. Outros pesquisadores mostraram capacidade de adesão do *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 de 31% em crianças (6-42 meses) e adultos saudáveis; o *L. acidophilus* LA-5 alcançou 20%. A adesão foi ligeiramente maior com culturas pasteurizadas de BB-12 + LA-5, assim como também aumentou na presença de outras bactérias. Essas cepas bacterianas têm sido utilizadas para a fabricação de produtos lácteos suplementados com bactérias, fermentados e neutros, em muitos países do mundo (ALONSO et al., 2007).

2.2.5. Mercado de Alimentos Funcionais

Segundo a Euromonitor International, o mercado mundial de alimentos e bebidas funcionais e fortificados movimentou cerca de 64 bilhões de dólares em 2002, 97 bilhões de dólares em 2006 e movimentará cerca de 130 bilhões de dólares em 2011. Com relação aos produtos lácteos fortificados e funcionais, o mercado mundial movimentou cerca de 25 bilhões de dólares no ano de 2006, sendo o Japão responsável pelas vendas de 4,8 bilhões de dólares (BAROKE, 2007).

No Brasil, o mercado de funcionais tem crescido 20% anualmente (PESSONI, 2007); em 2005, esse mercado foi avaliado em 600 milhões de dólares (ANUÁRIO ABIA, [2006]).

A Tabela 1 apresenta a movimentação em bilhões de dólares do mercado de produtos lácteos fortificados e funcionais de diferentes países, no ano de 2006.

Tabela 1 - Mercado de produtos lácteos funcionais/fortificados no ano de 2006

Mercado	Valor em bilhões de dólares 2006	Taxa de crescimento 2002-2006
Japão	4,79	0,5 %
Espanha	1,97	13,0 %
Coreia do Sul	1,97	6,2 %
China	1,77	15,4 %
Brasil	1,73	14,3 %
EUA	1,72	13,8 %
UK	1,58	29,4 %
Alemanha	1,08	15,9 %
Itália	1,03	23,6 %
França	0,88	9,8 %

Fonte: Baroke, 2007.

Vários novos produtos foram lançados no mercado, visando o apelo nutricional e/ou funcional. Em 1997, a Unilever lançou no Brasil o *Ades*, bebida à base de soja, com alegações funcionais, devido à presença de isoflavonas, compostos fitoquímicos que ajudam a minimizar os sintomas da menopausa e a evitar o envelhecimento precoce, além de outras alegações (CENTRO DE HISTÓRIA UNILEVER, [2007]). Em 2000, lançou a margarina *Becel pro.activ*, com fitosteróis, com a finalidade de reduzir o LDL (colesterol "ruim") (OLIVEIRA, 2004; BECEL, 2006).

A Nestlé lançou, em 2000, o iogurte *LC1*, que contém *Lactobacillus johnsonii*, que sobrevive ao trato intestinal, melhora a saúde imunológica e reduz desordens intestinais, como diarreias, gastrite e úlceras pépticas (BRANDÃO, 2002). Em 2006, lançou o iogurte *Nesvita* e o leite em pó *Molico ActiFibras*, que favorecem uma microbiota intestinal saudável (ALIMENTO FUNCIONAL, 2006).

A Danone lançou em 1995, nos países europeus, o iogurte *Actimel*, contendo *Lactobacillus casei*, capaz de fortalecer o sistema imunológico (BRANDÃO, 2002). No Brasil, lançou em 2003 o danoninho com lactobacilos vivos, destinado ao público infantil. Em 2004, lançou o *Activia*, um iogurte probiótico que ajuda a regular o funcionamento do intestino, se consumido diariamente (DANONE, [2005]).

No ano de 2007, vários produtos foram lançados no mercado internacional. A PB Foods Ltda. desenvolveu, na Austrália ocidental, o *Brownes Heart Plus*, um leite de baixo teor de gordura contendo adição de nutrientes considerados importantes para manter o desempenho do coração e do sistema cardiovascular. Esses nutrientes consistiam em ácidos graxos ômega 3, vitaminas B6, B12 e folato. As vitaminas antioxidantes E e C também foram adicionadas (ANONYMOUS, 2005).

A empresa americana Mars Inc. lançou a bebida *CocoaVia*, rica em chocolate. Contém ingredientes que visam reduzir o LDL (colesterol “ruim”) e flavonoides de cacau, com a finalidade de manter a saúde do coração, como parte da dieta reduzida em gorduras saturadas e colesterol (ANONYMOUS, 2007).

A Living Harvest lançou a *Living Harvest Hempmilk*, que oferece ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, todos os 10 aminoácidos essenciais, vitaminas A, B2, B12, D e E, ácido fólico, Mg, Fe, K e P, bem como 46% do recomendado para a ingestão diária de cálcio (ANONYMOUS, 2007).

Outro produto lançado foi a Odwalla Soy Smart, que contém proteína de soja e ômega-3 ácido docosahexanoico, além de ser uma excelente fonte de ferro (ANONYMOUS, 2007).

A Tropicana Products Inc., uma divisão da PepsiCo Inc., também está criando produtos relacionados à saúde cardiovascular. Ela reformulou o suco *Tropicana Health Heart*, adicionando ácidos graxos ômega-3 (ANONYMOUS, 2007).

A Beverage Partners Worldwide desenvolveu a *Enviga Coca-Cola*, que consiste em um chá verde espumante que queima caloria. Contém extrato de chá verde antioxidante, cálcio e cafeína (ANONYMOUS, 2007).

Em razão da grande potencialidade dos produtos alimentícios com alegação de propriedade funcional, o desenvolvimento de leite fermentado

adicionado de prebiótico, probiótico e compostos bioativos é uma alternativa viável comercialmente e de grande potencialidade.

2.3. Atividade Antioxidante e o Método do Cátion Radical ABTS

Os antioxidantes são substâncias que protegem o organismo da ação danosa dos radicais livres, os quais estão associados a processos degenerativos, como o câncer e o envelhecimento. Alguns são produzidos por nosso próprio organismo, enquanto outros devem ser ingeridos na dieta.

Nos últimos anos, o interesse pela descoberta de novos antioxidantes a partir de fontes naturais vem aumentando, bem como a avaliação dos efeitos dos antioxidantes em relação às enfermidades. As pesquisas têm tentado explicar os benefícios dos antioxidantes nas enfermidades cardiovasculares, em numerosos tipos de câncer, bem como em outras doenças associadas ao envelhecimento.

Um método indireto muito utilizado na avaliação da atividade antioxidante de diversos compostos é o teste do cátion radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)). O radical ABTS possui máximos de absorção nos comprimentos de onda de 645, 734 e 815 nm, podendo ser facilmente determinado por espectrofotometria. O princípio do método consiste em monitorar o decréscimo da absorvância do radical ABTS quando uma amostra contendo grupamentos fenólicos é adicionada, provocando redução do radical e conseqüente supressão da cor no comprimento de onda de máxima absorção (MILLER et al., 1995; ROGINSKY; LISSI, 2005).

O método do radical ABTS é uma técnica simples, que pode ser aplicada tanto para antioxidantes hidrofílicos e lipofílicos, como para substâncias puras e extratos alimentícios (RE et al., 1999; AWIKA et al., 2003). Pode ser utilizado em amplas faixas de pH (ao contrário do DPPH, que é sensível a condições ácidas) e para avaliar o efeito do pH na atividade antioxidante (LEMANSKA et al., 2001). O cátion cromóforo ABTS•+ pode ser gerado por reações enzimáticas, como, por exemplo, com metmioglobina

(KRANL et al., 2005) e mioglobina (PENG et al., 2003); por reações químicas, utilizando compostos como dióxido de manganês (BENAVENTE-GARCIA et al., 2000), persulfato de potássio (RE et al., 1999; CAI et al., 2004) e 2,2'-azo-bis(2-amidinopropano) (ABAP) (CAMPOS et al., 1996); ou ainda por reação eletroquímica (ALONSO et al., 2002). Na maioria das vezes, os resultados desse teste são expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), antioxidante padrão análogo à vitamina E. Entretanto, o resultado da determinação do TEAC depende da forma como o ABTS•+ é gerado, do tempo de incubação, assim como da razão entre a quantidade de amostra e a concentração do radical (RE et al., 1999; DE BEER et al., 2003). Dessa forma, não é possível comparar resultados expressos em TEAC se as condições utilizadas no teste indireto forem distintas. Deve-se considerar ainda o tipo de sistema avaliado, simples ou heterogêneo, como, por exemplo, a matriz de um alimento (BECKER et al., 2004).

2.4. Aspectos Gerais da Caprinocultura e Produção de Leite

O aumento acentuado do número de cabras nos últimos anos tem despertado interesse mundial em viabilizar novos mercados para o leite de cabra e produtos derivados dessa base láctea.

Os hábitos culturais e o gosto do leite de cabra diferem entre os países ou entre grupos culturais de um mesmo país. Assim, apesar da existência de pessoas que possuem antigas tradições no consumo de leite de cabra, como na Ásia Oriental e Central, algumas populações, como em alguns países da África, possuem tabus com relação a esse tipo de leite (DUBEUF, 2005).

Segundo a FAO (Food and Agricultural Organization), a produção mundial de leite de cabra atingiu 13,8 milhões de toneladas em 2006, sendo o Brasil responsável por 135 mil toneladas (FAOSTAT, 2006). Dados a respeito da importância econômica do leite de cabra são muito escassos. Sabe-se que a Europa, com apenas 2,5% do rebanho, produz 18% do leite

de cabra mundial, sendo considerada o único continente onde esse leite possui tal importância econômica e organização (DUBEUF, 2005).

O aumento da demanda por leite de cabra ocorre em vários aspectos. Um deles é a autossuficiência familiar, pois a produção de leite de cabra é muito utilizada para consumo doméstico, principalmente nos países subdesenvolvidos. Dessa forma, as populações rurais e/ou carentes são as principais beneficiárias dos produtos lácteos e cárneos provenientes da cabra (HAENLEIN, 2004). Outro aspecto é o interesse de conhecedores-gourmets por produtos lácteos de cabra, principalmente queijos e iogurtes, em muitos países desenvolvidos. Um terceiro aspecto é a necessidade médica, sobretudo de pessoas que possuem intolerância às proteínas do leite de vaca e outras doenças gastrintestinais (PELLERIN, 2001; HAENLEIN, 2004).

2.4.1. Caprinocultura

A caprinocultura é uma atividade que vem se desenvolvendo muito nos últimos anos. Os caprinos possuem alta adaptabilidade a variações climáticas e condições geográficas, sendo capazes de sobreviver em regiões áridas e tropicais, com longos períodos de seca e escassez de alimentos. Isso se deve principalmente ao baixo peso corporal, à baixa taxa metabólica e à alta eficiência digestiva que possuem (SMITH; SHERMAN, 1994; PEACOCK, 1996; SILANIKOVE, 2000; MORAND-FEHR et al., 2004).

De acordo com a FAO (2002), o rebanho mundial de caprinos corresponde a cerca de 752 milhões de cabeças, das quais cerca de 96% encontram-se em países em desenvolvimento e 4% em países desenvolvidos, sendo responsáveis por cerca de 20% da produção mundial de leite de cabra (FAOSTAT, 2002). Assim, observa-se que, em condições favoráveis, os caprinos apresentam alta produtividade.

Atualmente, a caprinocultura no Brasil apresenta-se em expansão, contando com o incentivo de ações conjuntas de governos estaduais, instituições de pesquisa e criadores (QUEIROGA, 2003). Segundo dados do

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o rebanho nacional de caprinos passou de 9,5 milhões de cabeças em 2001 (IBGE-SIDRA) para 10,4 milhões de cabeças em 2006 (PRODUÇÃO DA PECUÁRIA MUNICIPAL, 2006), dos quais cerca de 93% se concentravam na região Nordeste (PRODUÇÃO DA PECUÁRIA MUNICIPAL, 2004). De acordo com Silva (1998), esta região participa com 26% da produção nacional de leite de cabra, sendo 17% do total comercializado no mercado interno. Enquanto isso, as regiões Sul e Sudeste detêm em torno 4,5% do rebanho caprino nacional, porém respondem por 68% da produção nacional e 78% de participação no mercado interno (CARVALHO, [2001]). O Brasil possui o décimo maior rebanho de caprinos do mundo (SILVEIRA, [2002]).

Mundialmente, a distribuição do leite de cabra é bastante heterogênea. Segundo a FAO, entre os anos de 1996 a 2006 houve crescimento na produção mundial de leite de cabra: de 11,7 para 13,8 milhões de toneladas. As maiores contribuições são oriundas da África e da Ásia, com cerca de 79%; a América do Sul tem se mantido no patamar de produção de 190 mil, e, desse total, o Brasil participa com 135 mil toneladas, contribuindo com apenas 0,98% da produção mundial (FAOSTAT, 2006).

2.4.2. Caracterização do Leite de Cabra

O leite de cabra é considerado um dos alimentos mais adequados ao consumo humano e vem se destacando como complemento alimentar de idosos, convalescentes, crianças, principalmente quando alérgicas ao leite de vaca, bem como dos adeptos de alimentos naturais (JARDIM, 1984; SILVEIRA, [2002]). Possui coloração branca, devido ao baixo teor de carotenoides, e sabor e odor agradáveis, desde que o animal seja mantido e ordenhado sob boas condições higiênicas (JARDIM, 1984).

O leite de cabra possui vantagens sobre o leite de vaca. Uma das diferenças mais significativas do leite de vaca é observada na composição e estrutura da gordura do leite de cabra. O tamanho médio dos glóbulos de gordura do leite de cabra é em torno de 2 micrômetros, comparado a 2,5-3,5

micrômetros do leite de vaca. O tamanho reduzido dos glóbulos de gordura proporciona melhor dispersão e mistura mais homogênea da gordura no leite (HAENLEIN; CACCESE, 1984), aumentando assim a sua digestibilidade (PEACOCK, 1996; EINSIEDEL, [2005]). A digestão e absorção do leite de cabra é duas vezes mais rápida em comparação à do leite de vaca; por isso, é indicado para crianças e idosos desnutridos (ANDERS et al., 2006; SILVA, 2007), pessoas alérgicas ao leite comum ou, ainda, que estejam com problemas nutricionais ou gastrintestinais (SILVEIRA, [2002]). Além disso, o leite de cabra não possui aglutinina, substância presente no leite de vaca que une as partículas gordurosas, dificultando o processo digestório (HAENLEIN, [1997]; ANDERS et al., 2006; SILVA, 2007).

A gordura do leite de cabra normal possui uma concentração mais alta de ácidos graxos de cadeia curta e média, como os ácidos caproico (C 6:0), caprílico (C 8:0), cáprico (C 10:0), láurico (C 12:0) e mirístico (C 14:0), do que a gordura do leite de vaca (Tabela 2). Vários dados da literatura mostram os efeitos benéficos desses ácidos graxos em pacientes com síndromes de má absorção, hiperlipoproteinemia, ressecção intestinal, *bypass* coronariano, epilepsia infantil, fibrose cística, cálculo biliar, quilúria, esteatorreia e alimentação de crianças prematuras. Os ácidos graxos de cadeia média inibem e limitam o depósito de colesterol nos tecidos, além de dissolverem cálculos biliares (HAENLEIN, [1997]). Segundo Anders et al. (2006) e Silva (2007), o leite de cabra tem 20% menos colesterol quando comparado ao de vaca. Esses benefícios extramédicos do leite de cabra e particularmente da sua gordura proporcionam uma justificativa para sua necessidade ao lado do leite de vaca, além de justificar o seu maior preço de mercado (HAENLEIN, [1997]).

Tabela 2 - Composição média de ácidos graxos^a (g/100g de leite) na gordura dos leites de cabra e vaca

	Leite de cabra	Leite de vaca	Diferença (%) para o leite de cabra
C4:0 butírico	0,13	0,11	
C6:0 caprónico	0,09	0,06	
C8:0 caprílico	0,10	0,04	
C10:0 cáprico	0,26	0,08	
C12:0 láurico	0,12	0,09	
C14:0 mirístico	0,32	0,34	
C16:0 palmítico	0,91	0,88	
C18:0 esteárico	0,44	0,40	
C6-14 total TCM	0,89	0,61	+ 46
C4-18 total AGS	2,67	2,08	+ 28
C16:1 palmitoléico	0,08	0,08	
C18:1 oléico	0,98	0,84	
C16:1-22:1 total AGMI	1,11	0,96	+ 16
C18:2 linoléico	0,11	0,08	
C18:3 linolênico	0,04	0,05	
C18:2-18:3 total AGPI	0,15	0,12	+ 25

^a TCM: triglicerídeo de cadeia média; AGS: ácidos graxos saturados; AGMI: ácidos graxos monoinsaturados; AGPI: ácidos graxos polinsaturados.

Fonte: Haenlein (2004).

A importância do leite de cabra na alimentação humana não reside apenas no valor biológico de seus nutrientes, mas também em suas características de hipoalergenicidade. Isso vem aumentando gradativamente o seu consumo nos processos alérgicos de origem alimentar, particularmente aqueles relacionados às proteínas do leite de vaca (CARVALHO, [2001]).

O leite de cabra tem sido um substituto satisfatório nos casos de crianças e adultos alérgicos às proteínas do leite de vaca, que são: caseína α -s1 e a β -lactoglobulina (HAENLEIN, 2004; LARA-VILLOSLADA et al., 2004).

As proteínas do leite de cabra são similares às principais proteínas do leite de vaca, porém diferem no polimorfismo genético e na frequência em que aparecem nas populações de cabras (MARTIN, 1993, 1999; VEGARUD

et al., 1999). A caseína alfa-s1, presente principalmente no leite de vaca (NAKAJIMA-ADACHI et al., 1998), existe em seis tipos diferentes (A, B, C, E, F e “nulo”) em leite de cabra. O tipo “nulo” ou ausente em alguns leites de cabra significa que em diferentes cabras a principal caseína é a alfa s-2, não apresentando efeitos alergênicos. As diferenças nos tipos genéticos se devem às substituições de aminoácidos nas cadeias da proteína, que são responsáveis pelas modificações na digestibilidade, nas propriedades de fabricação do queijo e no *flavor* dos produtos à base de leite de cabra (HAENLEIN, 2004).

Além disso, o leite de cabra possui 0,2-0,5% de lactose a menos do que o leite de vaca. A maioria das pessoas que são alérgicas ao leite de vaca tende a não ser alérgica ao leite de cabra (PARK, 2007).

Os teores de vitaminas no leite de cabra estão próximos aos do leite de vaca, exceto pelas vitaminas B6, B12 e ácido fólico, as quais estão diminuídas no leite de cabra; os teores de vitaminas A estão aumentados e, além disso, as cabras, fisiologicamente, convertem todo o caroteno em vitamina A, conferindo ao leite a coloração esbranquiçada, pela ausência desse pigmento. Os níveis de vitaminas C e D do leite são aproximadamente os mesmos para o leite de cabra e de vaca (FISBERG et al., 1999).

Quanto aos minerais, o leite de cabra normalmente apresenta maior quantidade de cálcio, potássio, magnésio, fósforo, cloro e manganês, porém menor quantidade de sódio, ferro, zinco, enxofre e molibdênio, quando comparado ao leite de vaca (PARK, 2007).

A composição dos leites de cabra, vaca e humano é distinta (Tabela 3), mas varia de acordo com a dieta, raça, paridade, estação do ano, alimentação, condições ambientais, localidade, estágio de lactação e *status* de saúde do úbere (FURTADO, 1985; HAENLEIN, 2002).

Tabela 3 - Composição média dos nutrientes básicos dos leites de cabra, de vaca e humano

Composição	Leite de cabra	Leite de vaca	Leite humano
Gordura (%)	3,8	3,6	4,0
Lactose (%)	4,1	4,7	6,9
Proteína (%)	3,0	3,0	1,1
Caseína (%)	2,4	2,6	0,4

Fonte: Adaptado de Haenlein e Caccese (1984).

2.5. Cor em Alimentos

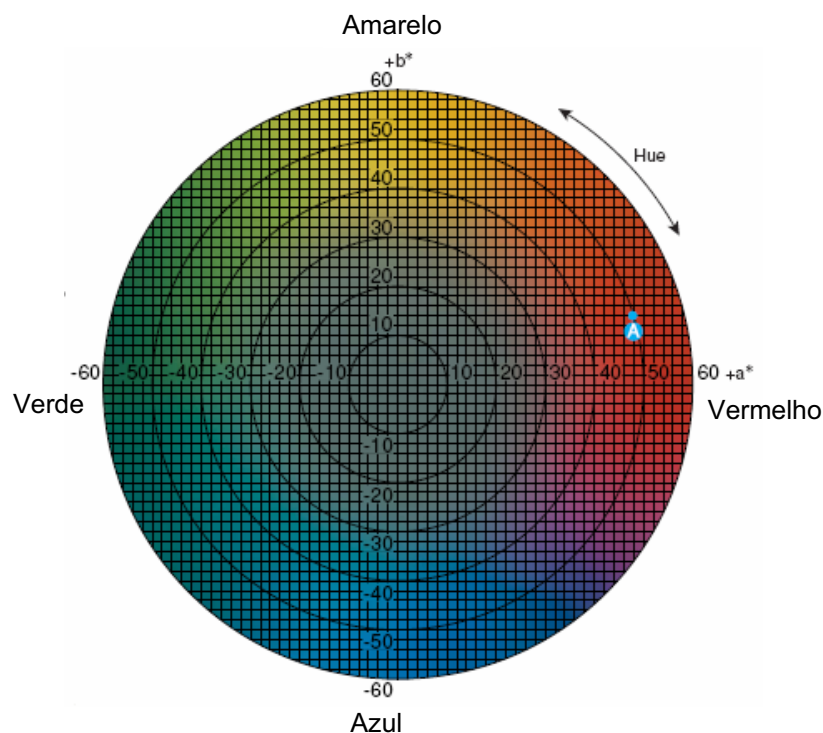
A primeira impressão que o consumidor tem de um produto é com relação à sua aparência, que envolve vários fatores como tamanho, forma, textura, cor, entre outros. A cor tem se destacado por possuir maior impacto quanto à aceitabilidade, preferência e escolha do produto pelo consumidor. A associação entre cores e alimentos é tão forte que outros aspectos sensoriais não são suficientes para evitar a aversão, na grande maioria das pessoas, causada por alimentos coloridos de forma inadequada (MACKINNEY; LITTLE, 1962; FRANCIS, 1995).

Do ponto de vista físico, a cor é a característica da luz, medida em termos da intensidade da energia radiante e do comprimento de onda. Como depende do observador, a cor é considerada um atributo psicológico; logo, é limitada à banda do espectro de 380 a 770 nm, uma vez que o olho humano é praticamente insensível a outros comprimentos de onda da energia radiante. Assim, o fenômeno da cor é psicofísico, sendo definido como a sensação visual experimentada por um indivíduo quando a energia na forma de radiação atinge a retina do olho (KRAMER; TWIGG, 1962; FRANCIS; CLYDESDALE, 1975; LOZANO, 1978). Para que um objeto seja visualmente avaliado, é necessária a existência de três fatores físicos: uma fonte de luz, o objeto e um mecanismo receptor da luz. A mudança de um destes fatores irá alterar a forma de se perceber a cor de um objeto qualquer (HUTCHINGS, 1994).

Munsell foi um dos primeiros pesquisadores a descrever a cor em termos de um sólido tridimensional, introduzindo a cor como consistindo de

três atributos: tonalidade (h), saturação (c) e luminosidade (L). A tonalidade (*hue*) é a grandeza que caracteriza a qualidade da cor (vermelho, verde, azul, etc.), permitindo diferenciá-la, e está associada a certo comprimento de onda do espectro visível. A saturação (*chroma*) descreve a intensidade ou quantidade de uma tonalidade, indicando a proporção em que ela está misturada com o branco, preto ou cinza; é a qualidade que nos permite distinguir cores fortes de fracas. A luminosidade (*value*) caracteriza o grau de claridade da cor, indicando se as cores são claras ou escuras. A luminosidade varia de preto a branco, estando associada à sensação produzida por uma superfície com esta cor quando iluminada por uma luz branca de intensidade constante (GRAVES, 1952; RAMOS; GOMIDE, 2007).

Em 1942, Richard Hunter aplicou a teoria das cores opostas envolvida no mecanismo de percepção de cor pelo olho humano e inventou o que é conhecido hoje como escala Hunter Lab de cor. O sistema Hunter foi desenvolvido durante as décadas de 1950 e 1960, passando por várias modificações até 1966. Em 1976, no entanto, a CIE (*Commission Internationale de l'Éclairage*) recomendou a escala CIELAB como escala padrão a ser usada para comunicar e diferenciar as cores. Tanto a escala Hunter Lab quanto a CIELAB estão em uso atualmente, mas a última está ganhando mais suporte em algumas indústrias, por ser um padrão internacional e por ser construída a partir da escala Hunter. O sistema CIELAB (Figura 3) é igualmente relacionado à capacidade de percepção do olho humano. Como no sistema Hunter Lab, o valor de L^* determina a posição do ponto sobre o eixo vertical de claridade; o valor de a^* é do ponto sobre o eixo (-) verde/vermelho (+); e o valor b^* , do ponto correspondente sobre o eixo (-) azul/amarelo (+) (HUTCHINGS, 1994; RAMOS; GOMIDE, 2007).



Fonte: Minolta (1998).

Figura 3 - Sistema de coordenadas de cores CIELAB.

Numa representação polar do sistema de coordenadas retangulares CIELAB, surge a escala CIE $L^* C^* h^*$, que, numericamente, descreve a cor tridimensionalmente em luminosidade (L^*), saturação ($C^* = (a^*+b^*)^{1/2}$) e tonalidade ($h^* = \arctan (b^*/a^*)$). No entanto, por ser obtida matematicamente da escala CIELAB, essa escala apresenta uniformidade visual similar à do sistema de coordenadas retangulares (HUTCHINGS, 1994; RAMOS; GOMIDE, 2007).

A utilização de instrumentos de medição da cor está ganhando importância nas indústrias de alimentos, devido às exigências cada vez mais crescentes dos consumidores. Deficiências no campo da subjetividade natural do avaliador visual, a falta de rastreabilidade e a ausência de definições claras podem ser supridas pela medição instrumental da cor, como uma ferramenta de auxílio à decisão (RÉGULA, 2004).

Os colorímetros e os espectrofotômetros são os dois principais tipos de instrumentos utilizados na medição da cor propriamente dita. Os colorímetros são usados para avaliar a cor de um objeto exatamente da forma que o ser humano percebe; entretanto, não é apropriado para avaliação da força de pigmentos ou corantes. Para determinar o espectro de

reflectância da amostra, os espectrofotômetros são mais versáteis, podendo avaliar a cor de forma mais complexa e com elevada precisão (MINOLTA, 1998).

A medida objetiva da cor em alimentos é uma técnica rápida, reproduzível, não sujeita a erros subjetivos, que normalmente é empregada por duas razões principais: padronização do produto do ponto de vista de controle de qualidade, e como um índice de valor econômico (FRANCIS; CLYDESDALE, 1975).

2.6. Análise Sensorial

A análise sensorial é uma ciência utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características dos alimentos como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (ABNT, 1993). Assim, utiliza-se da habilidade natural do ser humano de comparar, diferenciar e quantificar atributos sensoriais para avaliar as características e propriedades de interesse na qualidade sensorial dos alimentos, empregando a metodologia e o tratamento estatístico mais adequados aos objetivos do estudo (CHAVES, 2000).

A análise sensorial é considerada uma análise subjetiva, uma vez que depende do julgamento do ser humano, e estes podem ser influenciados por vários fatores, como psicológicos, fisiológicos e étnicos, local da análise e formas de apresentação da amostra-teste, entre outros. Contudo, a utilização correta da tecnologia sensorial disponível leva à obtenção de resultados reprodutíveis, com precisão e exatidão comparáveis às dos métodos denominados objetivos (CHAVES; SPROESSER, 1993).

A análise sensorial vem sendo aplicada na indústria de alimentos, sobretudo no desenvolvimento e melhoramento de produtos, controle de qualidade, estudos sobre armazenamento e desenvolvimento de processos (MINIM, 2006).

Os testes afetivos são uma importante ferramenta da análise sensorial, pois acessam diretamente a opinião (preferência e/ou

aceitabilidade) do consumidor em relação a idéias, características específicas ou globais de determinado produto, sendo por isso também denominados de testes de consumidor. Deve-se ressaltar que os testes afetivos não substituem e não são uma alternativa às pesquisas de mercado em grande escala. Entretanto, por apresentarem um menor custo, devido ao menor número de pessoas, e por poderem ser realizados em períodos de tempo relativamente mais curtos, podem ser utilizados para reduzir o número de amostras a serem encaminhadas para pesquisa de mercado, eliminando-se aquelas de baixa aceitação (ANÁLISE SENSORIAL, 2002; MINIM, 2006).

Os testes de aceitação são testes afetivos que avaliam se os consumidores gostam ou desgostam de um determinado produto. As escalas hedônicas são muito utilizadas para uma grande variedade de produtos, devido à sua fácil compreensão. Nessa escala, o provador expressa sua aceitação pelo produto seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente com base nos atributos “gosta” e “desgosta”. A avaliação dos resultados desse teste normalmente é realizada por meio da análise de variância e testes de comparação de médias, comparando a aceitação média entre os produtos (MINIM, 2006).

Segundo Polignano et al. (1999), essa análise global, considerando conjuntamente as avaliações de todos os consumidores, implica assumir que todos apresentam o mesmo comportamento, desconsiderando suas individualidades. Assim, informações interessantes sobre diferentes segmentos de mercado podem ser perdidas, por não se visualizar bem os dados.

Com a finalidade de analisar os dados afetivos levando-se em consideração a resposta individual de cada consumidor e não somente a média do grupo de consumidores que testaram os produtos, foi desenvolvida a técnica intitulada como Mapa de Preferência (BEHRES et al., 1999).

O Mapa de Preferência consiste em uma representação gráfica das diferenças de aceitação entre as amostras, obtida a partir de análises de componentes principais (ACP) e de agrupamento, que permite a identificação de cada indivíduo e suas preferências em relação às amostras avaliadas; ela também permite avaliar a aceitação ou rejeição de um

determinado produto pelo consumidor, relacionando, por exemplo, essa aceitação com as características sensoriais do produto (HELGESEN et al., 1997; BEHRENS et al., 1999; MINIM, 2006).

A análise de componentes principais é associada à ideia de redução da massa de dados. Procura-se redistribuir a variação observada nas variáveis (eixos originais), de forma a obter um conjunto ortogonal de eixos não correlacionados. Essa análise tem como principal objetivo a redução da dimensionalidade do conjunto original de variáveis com a menor perda de informação possível, além de permitir o agrupamento de indivíduos (tratamentos, genótipos, etc.) similares, mediante exames visuais em dispersões gráficas no espaço bi ou tridimensional de fácil interpretação geométrica (REGAZZI, 1997).

O Mapa de Preferência pode ser dividido em duas categorias: o Mapa de Preferência Interno ou Análise de Preferência Multidimensional (MDPREF), quando se realiza a análise apenas sobre o conjunto de dados de aceitação/preferência gerados a partir de testes afetivos; e o Mapa de Preferência Externo (PREFMAP), onde se incluem também na análise as medidas descritivas geradas por uma equipe de provadores treinados, relacionando-as com dados de aceitação/preferência dos produtos avaliados (HELGESEN et al., 1997; BEHRENS et al., 1999; MINIM, 2006).

A técnica do Mapa de Preferência pode ser muito útil no desenvolvimento de novos produtos, pois permite avaliar se o produto é aceitável e se, em termos de preferência, encaixa no segmento de mercado-alvo. Essa técnica pode ser utilizada também na otimização de produtos, uma vez que o uso de dados descritivos de um painel treinado e dados da preferência do consumidor em relação ao produto permite determinar a segmentação e as características sensoriais-chave que conduzem à preferência. Assim, alterações na formulação e no processo podem ser realizadas, com o intuito de otimizar tais características sensoriais (HELGESEN et al., 1997).

3. O PROBLEMA E SUA IMPORTÂNCIA

O aumento na expectativa de vida da população está alterando o seu perfil socioeconômico, bem como o perfil dos consumidores. Dessa forma, não só os órgãos governamentais, como também o mercado, deverão preparar-se para suprir as novas demandas e responder aos desafios decorrentes do envelhecimento populacional, desenvolvendo produtos e serviços voltados ao atendimento das necessidades e anseios do grupo etário com 60 anos ou mais.

Nesse contexto, os produtos lácteos derivados de caprinos surgem como uma alternativa interessante para aqueles que buscam alimentos saudáveis com propriedades funcionais específicas. Isso se deve às várias vantagens que o leite de cabra apresenta em relação ao leite de vaca: possui baixos teores de calorias e colesterol, alto teor de cálcio, alta digestibilidade (JARDIM, 1984; HAENLEIN, 1984; FURTADO, 1985; SILVA, 1998), além de sua característica de hipoalergenicidade (SILVA, 1998), que é conferida pela ausência ou baixo teor da fração da caseína alfa-s1. As características anteriormente mencionadas fazem com que o leite de cabra seja recomendado para pessoas idosas, lactentes e crianças, sobretudo aquelas sensíveis a algumas proteínas presentes no leite de vaca (FURTADO, 1985), como a caseína α -s1 e a β -lactoglobulina, que podem provocar asma brônquica, eczemas na pele, dores abdominais, diarreia e assaduras (CARVALHO, [2001]; SILVEIRA, [2002]; HAENLEIN, 2004; LARA-VILLOSLADA et al., 2004).

A redução da capacidade física e biológica dos seres humanos com o passar dos anos os torna mais suscetíveis ao risco de doenças, gerando aumento nos gastos com a manutenção da saúde. Entre essas doenças, as cardiovasculares são as que mais causam a morte das pessoas acima de 60 anos no Brasil e no mundo (BRASIL, 2001; O BRASIL, 2004). Com relação à Degeneração Macular Relacionada à Idade (DMRI), estima-se que 30 milhões de idosos, em todo o mundo, sejam vítimas da doença. Segundo dados do Conselho Brasileiro de Oftalmologia, aproximadamente 3 milhões

de brasileiros com mais de 65 anos têm a doença (CAVALCANTI, 2008). Além dessas, várias outras doenças podem afetar o estado de saúde da terceira idade.

A adição de prebióticos, probióticos e compostos bioativos em alimentos é uma maneira de agregar valor ao produto, satisfazendo algumas necessidades específicas da população, em especial do público idoso, com relação à melhoria da saúde.

Estudos que comprovam a eficácia dos compostos bioativos e de micronutrientes no organismo humano são crescentes. Várias pesquisas têm sugerido que o resveratrol pode ajudar no controle das doenças cardiovasculares (PACE-ASCIAC et al., 1995; HARBORNE; WILLIAMS, 2000) e neurológicas (NICOLINI et al., 2001), da carcinogênese (JANG et al., 1997; ATHAR et al., 2007) e da aterosclerose (PACE-ASCIAC et al., 1995; SOLEAS et al., 1997; HARBORNE; WILLIAMS, 2000), podendo atuar na inibição da agregação plaquetária (PACE-ASCIAC et al., 1995; SOLEAS et al., 1997) e também na inibição da peroxidação lipídica de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (BELGUENDOZ et al., 1998). Inúmeros trabalhos mostram a relação da luteína e zeaxantina com a redução do risco de catarata e degeneração macular relacionada à idade (BONE et al., 2000; BERNSTEIN et al., 2004; CERQUEIRA et al., 2007), além da prevenção de aterosclerose, retinopatia diabética, retinite pigmentosa, câncer e outras doenças (ALVES-RODRIGUES; SHAO, 2004).

Diversas pesquisas mostram a influência dos prebióticos inulina e frutooligossacarídeos (FOS) sobre processos fisiológicos e bioquímicos no organismo, como redução da intolerância à lactose e da ocorrência de constipação intestinal (HAMILTON-MILLER, 2004) e aumento da absorção de cálcio (ABRAMS et al., 2005; BOSSCHER et al., 2006; HAMILTON-MILLER, 2004; MOSCATTO et al., 2006), resultando em melhoria da saúde e em redução no risco de aparecimento de diversas doenças (HAULY et al., 2002), como doenças coronarianas (PEREIRA, 2004), aterosclerose (KAUR; GUPTA, 2002), câncer de cólon (ROBERFROID, 2002) e diabetes (ARABBI, 2001; ANJO, 2004).

Existem várias evidências demonstrando que a ingestão de microrganismos probióticos pode exercer efeitos benéficos à saúde humana,

como, por exemplo, controle da microbiota intestinal (CHARTERIS et al., 1998a; TUOHY et al., 2003), proteção contra infecções, redução dos sintomas da intolerância à lactose (KIM; GILLILAND, 1983; CHARTERIS et al., 1998a; MOMBELLI; GISMONDO, 2000; TUOHY et al., 2003), estimulação do sistema imune (CHARTERIS et al., 1998a; MOMBELLI; GISMONDO, 2000; TUOHY et al., 2003; GILL; GUARNER, 2004), alívio da constipação e aumento da absorção de minerais (CRUZ et al., 2007). Outros possíveis efeitos dos probióticos são a diminuição do risco de câncer de cólon (CHARTERIS et al., 1998a; MOMBELLI; GISMONDO, 2000; OBERREUTHER-MOSCHNER et al., 2004) e de doença cardiovascular (CHARTERIS et al., 1998a), diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol (MOMBELLI; GISMONDO, 2000; PEREIRA; GIBSON, 2002; XIAO et al., 2003), modulação de reações alérgicas (MOMBELLI; GISMONDO, 2000), controle da colite induzida por *Clostridium difficile* (POCHAPIN, 2000), prevenção de infecções urogenitais (MOMBELLI; GISMONDO, 2000; KOPPHOOLIHAN, 2001), prevenção e tratamento da diarreia aguda rotavírus (De ROOS; KATAN, 2000) e, ainda, controle da pressão sanguínea (KOPPHOOLIHAN, 2001).

De forma geral, o aumento da digestibilidade das proteínas e gorduras, a redução do conteúdo de lactose (de particular importância para os indivíduos com intolerância à lactose), a absorção aumentada de cálcio e ferro, o equilíbrio de conteúdo em várias vitaminas e a presença de alguns metabólitos secundários, aliados à presença de células probióticas viáveis, fazem dos leites fermentados um dos alimentos naturais mais valiosos recomendados para o consumo humano (GOMES; MALCATA, 2002).

Diante desse contexto, o desenvolvimento de leite de cabra fermentado com propriedades funcionais torna-se um excelente aliado no processo de redução dos riscos de doenças crônico-degenerativas, principalmente no caso de idosos, pois, além de atenderem a algumas de suas necessidades nutricionais específicas, podem ainda promover benefícios à saúde.

4. REFERÊNCIAS

ABRAMS, S. A. et al. A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 82, p. 471-476, 2005.

ALBANES, D.; VIRTAMO, J.; TAYLOR, P. R. et al. Effects of supplemental β -carotene, cigarette smoking, alcohol consumption on serum carotenoids in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene Cancer Prevention Study. **J. Clin. Nutr.**, v. 66, p. 336-372, 1997.

ALFÉREZ, M. J.; BARRIONUEVO, M.; LÓPEZ ALIAGA, I.; SANZ-SAMPELAYO, M. R.; LISBONA, F.; ROBLES, J. C.; CAMPOS, M. S. Digestive utilization of goat and cow milk fat in malabsorption syndrome. **J. Dairy Res.**, v. 68, n. 3, p. 451- 461, 2001.

ALONSO, A. M., DOMINGUEZ, C., GULLEN, D. A., BARROSO, C. G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, p. 3112–3115, 2002.

ALONSO, P.; et al. Culturas Probióticas LA-5 e BB-12 e suas propriedades. **Ha-La Biotec**. Ano XVII Nº 99 Maio/Junho 2007.

ALVES – RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. **Toxicol. Let.**, v. 150, p. 57- 83, 2004.

ANALISE SENSORIAL, TESTES DESCRITIVOS E AFETIVOS. 1. Ed. **Manual-Série Qualidade**. PROFIQUA (associação brasileira dos profissionais da qualidade de alimentos). Campinas, 2002.

ANDERS; B. F.; ALMEIDA, G. G.; CASTRO, W. M.; SILVA, A. R. P. **Marketing Aplicado ao Projeto Caprileite, em Palmas – TO**. I Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica Natal-RN, 2006.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. Vasc. Br.**, v. 3, n. 2, 2004.

ANONYMOUS. Research Unlocks Opportunities for Dairy Products with Health Positioning. Dairy Foods, **ABI/INFORM Global**, v. 106, n. 10, p. 18F, 2005.

ANTUNES, L. A. F. Microrganismos probióticos e alimentos funcionais. **Indústria de Laticínios**, v. 6, n. 34, p. 30-34, 2001.

ARABBI, R. P. Alimentos Funcionais: aspectos gerais. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, São Paulo, SP, v. 21, p. 87-102, jun. 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – ABNT. NBR 12806. **Análise Sensorial dos alimentos e bebidas: terminologia.** São Paulo, 1993.

ATHAR, M.; BACK, J. H.; TANG, X.; KIM, K. H.; KOPELOVICH, L.; BICKERS, D. R.; KIM, A. L. Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 224, p. 274–283, 2007.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p.6657-6662, 2003.

BARRIONUEVO, M.; ALFEREZ, M. J. M.; LOPEZ-ALIAGA, I.; SANZ-SAMPELAYO, M. R.; CAMPOS, M. S. Beneficial Effect of Goat Milk on Nutritive Utilization of Iron and Copper in Malabsorption Syndrome. **J. Dairy Sci.**, v. 85, p. 657-664, 2002.

BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBSTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **Eur. Food Res. Technol.** - Review, v. 219, p. 561-571, 2004.

BEHRENS, J. H., SILVA, M. A. A. P.; WAKELING, I. N. Avaliação da aceitação de vinhos brancos varietais brasileiros através de testes sensoriais afetivos e técnica multivariada de mapa de preferência interno. **Ciênc. Tecnol. Alimentos**, Campinas, v. 19. n. 2, mai./ago. 1999.

BELGUENDOZ, L.; FRÉMONT, L.; GOZZELINO, M. T. Interaction of Transresveratrol with Plasma Lipoproteins. **Biochem. Pharmacol.**, v. 55, p. 811-816, 1998.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J.; LORENTE, J; ORTUNO, A.; DEL RIO, J. A. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea L.* leaves. **Food Chem.**, v. 68, p.457-462, 2000.

BERNSTEIN, P.S. et al. Resonance Raman measurement of macular carotenoids in the living human eye. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 430, p. 163-169, 2004.

BERTELLI et. al.. Antipletelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. **Int. J. of Tissue Reactions**, v. 17, n. 1, p. 1-3, 1995. Resumo publicado no Biological Abstract, v. 100, n. 8, 1995.

BLANCHETTE, L.; ROY, D.; BELANGER, G.; GAUTHIER, S.F. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 79, p. 8-15, 1996.

BONE R. A., LANDRUM J. T., GUERRA L. H., RUIZ, C. A. Lutein and Zeaxanthin Dietary Supplements Raise Macular Pigment Density and Serum Concentrations of these Carotenoids in Humans. **J. Nutr.**, v. 133. p. 992-998, 2003.

BONE, R. A. et al. Lutein and zeaxanthin in the eyes, serum and diet of human subjects. **Exp. Eye Res.**, v. 71, p. 239-245, 2000.

BOSSCHER, D.; VAN LOO, J.; FRANCK, A. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization. **Int. Dairy J.**, v. 16, n. 9, p. 1092-1097, 2006.

BRADAMANTE, S.; BARRENGHI L.; VILLA, A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. **Cardiovasc. Drug Rev.**, v. 22, p. 169-88, 2004.

BRADY, W.; MARES-PERLMAN, J. A.; BOWEN, P.; SAPUHTZAKIS, M. S. Human Serum Carotenoid Concentrations Are Related to Physiologic and Lifestyle Factors. **Human Clin. Nutr.**, p. 129-137, 1996.

BRANDÃO, S. C. C. **Novas Gerações de Produtos Lácteos Funcionais.** Indústria de Laticínios, 2002.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC – nº. 02, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. **Diário Oficial da União**, 09 de janeiro de 2002. Disponível em: <<http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=9059 &Word=>>>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, 03 de maio de 1999. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=109>>. Acesso em 02 fev. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Anuário Estatístico de Saúde do Brasil.** 2001. Introdução Geral. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/anuario2001/index.cfm>>. Acesso em: 28 jan. 2008.

BRITTON, G. Carotenoids. In: HENDRY, G. F.; HOUGHTON, J. D. (Ed.) **Natural foods colorants.** New York: Blackie, p. 141-156, 1992.

BRITTON, G. Structure and properties of Carotenoids in relation to function. **FASEB J.**, v. 9, p. 1551-1558, 1995.

BRON, A. J.; VRENSSEN, G. F. J. M.; KORETZ, J.; MARAINI, G.; HARDING, J. J. The Ageing Lens. **Ophthalmologica**, v. 214, p. 86-104, 2000.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sci.**, v. 74, p. 2157-2184, 2004.

CAMPOS, A. M.; ESCOBAR, J.; LISSI, E. A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant activity (TAR) of *Ilex paraguayensis* extracts and red wine. **J. Braz. Chem. Soc.** n. 7, p. 43-49, 1996.

CAMPOS, M. T. F. S.; MONTEIRO, J. B. R.; ORNELAS, A. P. R. C. Fatores que afetam o consumo alimentar e a nutrição do idoso. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 13, n. 3, p. 157-165, 2000.

CARVALHO, R. B. Potencialidades dos mercados para os produtos derivados de caprinos e ovinos. **EMBRAPA**, 2001. Disponível em: www.caprítec.com.br/pdf/CAPRITEC.doc. Acesso em: 10 fev. 2008.

CASPER, R. F. et al.. Resveratrol has antagonist activity on the aryl hydrocarbon receptor: Implications for prevention of dioxin toxicity. **Molec. Pharmacol.**, v. 56, n. 4, p. 784-790, 1999.

CATALDO, L. F., SILVA, C. A., MENDES, M. F., NOGUEIRA, R. I., FREITAS S.P. Extração de inulina a partir da raiz de chicória (*chicorium intybus L.*) usando dióxido de carbono supercrítico. **VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica.** v. 31, p. 1-6, 2007.

CAVALCANTI, V. Degeneração Macular: principal causa de perda de visão entre idosos. [S.l]: Último Segundo, 16 fev. 2008. Disponível em: http://ultimosegundo.ig.com.br/materias/saude/2065001-2065500/2065322/2065322_1.xml. Acesso em: 23 jan. 2008.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 441-449, 2007.

CHARTERIS, W. P., KELLY, P. M., MORELLI, L., COLLINS, J. K. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. **J. Food Protection**, v. 61, p. 1636-1643, 1998b.

CHARTERIS, W. P.; KELLY, P. M.; MORELLI, L.; COLLINS, J. K. Ingredient selection criteria for probiotic microorganisms in functional dairy foods. **Int. J. Dairy Technol.**, Long Hanborough, v. 51, n. 4, p. 123-136, 1998a.

CHAVES, J. B. P. **Manual de análise sensorial** Viçosa: UFV, 2000, 117 p.

CHAVES, J. B. P.; SPROESSER, R. L. **Práticas de laboratório de análise sensorial de alimentos e bebidas.** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1993, 81 p.

CHERNOFF, R. Micronutrient requirements in older women. **Am. J. Clin. Nutr.**; v. 81 (suppl), p. 1240S-1245S, 2005.

CHIECHI, L. M.; SECRETO, G.; D'AMORE, M.; FANELLI, M.; VENTURELLI, E.; CANTATORE, F.; VALERIO, T.; LASELVA, G.; LOIZZI, P. Efficacy of a soy rich diet in preventing postmenopausal osteoporosis: the Menfis randomized trial. **Maturitas**, v. 42, p. 295-300, 2002.

CRAFT, N. E.; SOARES, J. H. Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and beta-carotene in organic solvents. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, n. 3, p. 431-434, 1992.

CROWELL, J. A.; KORYTKO, P. J.; MORRISSEY, R. L.; BOOTH, T. D.; LEVINE, B. S. Resveratrol-Associated Renal Toxicity. **Toxicol. Sci.**, v. 82, p. 614-619, 2004.

CRUZ, A. G.; FARIA, J. [A. F.]; VAN DENDER, A. G. F. Packaging system and probiotic dairy foods. **Food Res. Int.**, v. 40, n. 8, p. 951-956, 2007.

DAVID, F. M. P.; DAVID, J. P.; SANTOS, V. L. C. S.; SANTOS, M. L. S.; MOTA, M. D. Resveratrol: Ações e Benefícios á Saúde Humana. Diálogos & Ciência – **Revista da rede de ensino FTC**. Ano V. Nº 10, maio, 2007.

DAVIES, N.P.; MORLAND, A.B.; Macular Pigments: Their Characteristics and Putative Role. **Prog. Retinal Eye Res.**, v. 23, p. 533-559, 2004.

DE BEER, D.; JUBERT, E.; WENTZEL, C. A.; GELDERBLOM, C. A.; MANLEY, M. Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines: Free radical scavenging. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 902-909, 2003.

De ROOS, N. M.; KATAN, M. B. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, n. 2, p. 405-411, 2000.

DELCOURT, C.; CARRIÈRE, I.; DELAGE, M.; BARBERGER-GATEAU, P.; SCHALCH, W.; POLA STUDY GROUP. Plasma Lutein and Zeaxanthin and Other Carotenoids as Modifiable Risk Factors for Age-Related Maculopathy and Cataract: The POLA Study. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 47, n. 6, p. 2329-2335, 2006.

DONG, Z. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. **Mutation Res.**, v. 523-524, p. 145-150, 2003.

DUBEUF, J. P. Structural, market and organisational conditions for developing goat dairy production systems. **Small Rumin. Res.**, v. 60, p. 67-74, 2005.

DUPONT, C. Probiotiques et prébiotique. **Journal de Pédiatrie et de Puériculture**, v. 14, n. 2, p. 77-81, 2001.

DWYER, J. H.; NAVAB, M.; DWYER, K. M. ; et al. Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. **Circulation**, v. 103, p. 2922-2927, 2001.

EINSIEDEL, M. Raw goat milk vs. pasteurized cow milk, [2005]. **Dairy Goat J.** Disponível em: <http://www.dairygoatjournal.com/issues/83/83-4/Maurissa_Einsiedel.html>. Acesso em: 12 mar. 2008.

FAOSTAT, 2002. **Rebanho Mundial de Caprinos**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/524/DesktopDefault.aspx?PageID=524>>. Acesso em: 02. mar. 2008.

FAOSTAT, 2006. **Produção Mundial de Leite de Cabra**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569>>. Acesso em: 15 fev. 2008.

FILIP, V.; PLOCKOVÁ, M.; SMIDRKAL, J.; SPICKOVA, Z.; MELZUCH, K.; SCHMIDT, S. Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. **Food Chem.**, v. 83, p. 585-593, 2003.

FISBERG, M.; NOGUEIRA, M.; FERREIRA, A. M. A.; FISBERG, R. M. **Aceitação e tolerância de leite de cabra em pré-escolares**. In: Revista Pediatria Moderna, São Paulo, v. 35, n. 7, 1999, 10 p.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, 2001. 34p. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf>.

FRANCIS, F. J. Quality as influenced by color. **Food Qual. Pref.**, v. 6, p. 149-155, 1995.

FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. **Food colorimetry**: theory and applications. Westport, Conn.: Avi, 1975, 477 p.

FURTADO, M. M. **Fabricação de queijo de leite de cabra**. São Paulo: Nobel, 1985, 124 p.

GIBSON, G. R. Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. **J. Nutr.**, v. 129, p.1438S-1441S, 1999.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota – introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GILL, H. S.; GUARNER, F. Probiotics and human health: a clinical perspective. **Postgrad. Med. J.**, v. 80, p. 516-526, 2004.

GOMES, A. M. P.; MALCATA, F. X. Agentes probióticos em alimentos: aspectos fisiológicos e terapêuticos, e aplicações tecnológicas. **Biotecnol. Alimentar: Boletim de Tecnol.**, v. 101, p. 12-22, 2002.

GRAVES, M. **Color fundamentals**, with 100 color schemes. 1. ed. New York: McGraw-Hill, 1952, 206 p.

HAENLEIN, G. F. W. **Goat Management - Alternatives in Dairy Goat Product Market**, [1997]. Disponível em: <<http://www.goatworld.com/articles/goatmanagement.shtml>>. Acesso em: 15 mar. 2008.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Rum. Res.**, v. 51, p. 155-163, 2004.

HAENLEIN, G. F. W. Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk, 2002. **Goat Connection**. Disponível em: <http://goatconnection.com/articles/publish/article_74.shtml>. Acesso em: 12 mar. 2008.

HAENLEIN, G. F. W.; CACCESE, R. Goat milk versus cow milk, 1984. University of Delaware Newark, NJ. **Dairy Goat J.** Disponível em: <http://www.dairygoatjournal.com/issues/81/81-4/GFW_Heinlein.html>. Acesso em: 13 mar. 2008.

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

HAMMOND, B. R.; JOHNSON, E. J.; RUSSEL, R. M. et al. Dietary modification of human macular pigment density. Invest. **Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, p.1795-1801, 1997.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Review. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochem.**, v. 55, p. 481-504, 2000.

HAULY, M. C. de O.; MOSCATTO, J. A. Inulina e Oligofrutoses: uma revisão sobre propriedades funcionais, efeito prebiótico e importância na indústria de alimentos. **Semina: Ciênc. Exat. e Tecnol.**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 105-118, dez. 2002.

HELGESEN, H.; SOLHEIM, R.; NAES, T. Consumer preference mapping of dry fermented lamb sausages. **Food Quality and Preference**, v. 8, n. 2, p. 97-109, 1997.

HOLDEN, J. M.; ELDRIDGE, A. L.; BEECHER, G. R.; et al., "Carotenoid content of U.S. foods: an update of the database". **J. Food Comp. Anal.**, v. 12, p. 169-196, 1999.

HOLICK, C. N.; MICHAUD, D. S. ; STOLZENBERG-SOLOMON, R. ; et al. Dietary carotenoids, serum beta-carotene, and retinol and risk of lung cancer in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene cohort study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 156, p. 536-547, 2002.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Res. Int.**, v. 35, p. 109-116, 2002.

HUTCHINGS, J. B. **Food colour and appearance**. 1 ed. BedFort: Chapman & Hall, 1994, 513 p.

- IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**. Rio de Janeiro, v. 66, p. 2-16, 2006.
- JANDAL, J. M. Comparative aspects of goat and sheep milk . **Small Rum. Res.**, v. 22, p. 177-185, 1996.
- JARDIM, V. R. **Criação de caprinos**. São Paulo: Nobel, 12. ed., 1984.
- JEFREMOV, V. et al. Antioxidative effects of plant polyphenols : from protection of G protein signaling to prevention of age-related pathologies. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1095, p. 449-457, 2007.
- JELEN, P.; LUTZ, S. **Functional milk and dairy products**. In: MAZZA, G., ed. Functional foods: biochemical and processing aspects. Lancaster: Technomic Publishing, p.357- 381, 1998.
- KAUR, I. P.; CHOPRA, K.; SAINI, A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. **Eur. J. Pharm. Sci.**, Amsterdam, v. 15, p. 1-9, 2002.
- KAUR, N.; GUPTA, A. K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. **J. Biosci.**, Bangalore, v. 27, p. 703-714, 2002.
- KHACHIK, F.; BERNSTEIN, P. S.; GARLAND, D. L. Identification of Lutein and Zeaxanthin Oxidation Products in Human and Monkey Retinas. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, p. 1802-1811, 1997.
- KIM, H. S.; GILLILAND, S. E. Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. **J. Dairy Sci.**, v. 66, p. 959-966, 1983.
- KING, R. E.; BOMSER, J. A.; MIN, D. B. Bioactivity of Resveratrol. **Compr. Rev. Food Sci. Food Safety**, v. 5, p. 65-70, 2006.
- KLAENHAMMER, T. R.; KULLEN, M. J. Selection and design of probiotics. **Int. J. Food Microbiol.** v. 50, p. 45-57, 1999.
- KOH, H-H.; MURRAY, I. J.; NOLAN, D.; CARDEN, D.; FEATHER, J.; BEATTY, S. Plasma and macular responses to lutein supplement in subjects with and without age-related maculopathy: a pilot study. **Exp. Eye Res.**, n. 79, p. 21-27, 2004.
- KOPP-HOOLIHAN, L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v. 101, p. 229-241, 2001.
- KRAMER, A.; TWIGG, B. A. **Fundamentals of quality control for the food industry**. Westport, Conn.: Avi, 1962, 512 p.
- KRANL, K.; SCHLESIER, K.; BITSCH, R.; HERMANN, H.; ROHE; M., BÖHM, V.; Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Comparing antioxidative food additives and secondary plant products – use of different assays. **Food Chem.**, v. 93, p. 171-175, 2005.

KRINSKY, N. I., JOHNSON E. J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Mol. Aspects Med.**, v. 26, n. 6, p. 459-516, 2005.

KRINSKY, NORMAN I.; LANDRUM, JOHN T.; BONE, RICHARD A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 23, p. 171-201, 2003.

LAJOLO, F.M. Introdução Alimentos Funcionais. In: **I Congresso Internacional sobre Alimentos Funcionais – Ciência, Inovação e Regulamentação**. FIESP. 24 de abril. São Paulo. 2006. Disponível em: <http://www.fiesp.com.br/alimentos_funcionais>. Acesso em: 05 mai. 2006.

LANDRUM, J. T.; BONE, R. A.; JOA, H.; KILBURN, M. D.; MOORE, L. L.; SPRAGUE, K. E. A one year study of the macular pigment: the effect of 140 days of a lutein supplement. **Exp. Eye Res.**, v. 65, p. 57-62, 1997.

LANGCAKE, P.; PRYCE, R. J. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the Vitaceae as a response to infection or injury, **Physiol. Plant Pathol.**, v. 9, p. 77-86, 1976.

LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J.; XAUS, J. Goat milk is less immunogenic than cow milk in a murine model of atopy. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 39, p. 354-360, 2004.

LATRUFFE, N.; DELMAS, D.; JANNINM, B. et al. Molecular analysis on the chemopreventive properties of resveratrol, a plant polyphenol microcomponent. **Int. J. Molec. Med.**, Philadelphia, v. 10, n. 6, p. 755-760, 2002. Abstract.

LEMANSKA, K.; SZYMUSIAK, H.; TYRAKOWSKA, B.; ZIELINSKI, R.; SOFFER, A. E. M. F.; RIETJENS, I. M. C. M. The influence of pH on the antioxidant properties and the mechanisms of antioxidant action of hydroxyflavones. **Free Radical Biol. Med.**, v. 31, p. 869-88, 2001.

LIANG, F-Q; GODLEY, B. F. Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. **Exp. Eye Res.**, v. 76, p. 397-403, 2003.

LOZANO, R. D. **El color y su medición**, con una introducción a la óptica fisiológica y al estudio de la visión. Tucumán: Américalee, 1978, 640 p.

MACKINNEY, G.; LITTLE, A. C. **Color of foods**. Westport, Conn.: Avi, 1962, 308 p.

MARTIN, P. Lactoprotéines caprines et aptitudes technologiques: Polymorphisme génétique des lactoprotéines caprines. **Lait**, v. 73, p. 511-532, 1993.

MARTIN, P.; OLLIVIER-BOUSQUET, M.; GROSCLAUDE, F. Genetic polymorphism of caseins: a tool to investigate casein micelle organization. **Int. Dairy J.**, v. 9, p. 163-171, 1999.

McCOOL, A. C.; HULS, A.; PEPPONES, M.; SCHLENKER, E. Nutrition for Older Persons: A Key to Healthy Aging. **Top Clin. Nutr.**; v. 17, n. 1, p. 52-71, 2001.

MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T.; RICE-EVANS, C. A. Evaluation of the Total Antioxidant Activity as a Marker of the Deterioration of Apple Juice on Storage. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 7, p. 1794-1801, 1995.

MILOSO, M., BERTELLI, A.A.E., NICOLINI, G., TREDICI, G. Resveratrol-induced activation of the mitogen-activated protein kinases, ERK 1 and ERK 2, in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. **Neurosci. Letters**, v. 264, p. 141-144, 1999.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2006, 225 p.

MINOLTA. **Precise color communication: color control from perception to instrumentation**. Japan: Minolta Co. Ltda, 1998, 57 p.

MOMBELLI, B.; GISMONDO, M. R. The use of probiotics in medical practice. **Int. J. of Antimicrob. Agents**, v. 16, p. 531-536, 2000.

MORAND-FEHR, P.; BOUTONNET, J. P.; DEVENDRA, C.; DUBEUF, J. P.; HAENLEIN, G. F. W.; HOLST, P.; MOWLEMG, L.; CAPOTE J. Strategy for goat farming in the 21st century. **Small Rum. Res.**, v. 51, p. 175-183, 2004.

MOSCATTO, J. A.; BORSATO, D.; BONA, E.; OLIVEIRA, A. S.; HAULY, M. C. O. The Optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. **Int. J. of Food Sci. and Technol.**, UK, v. 41, n. 8, p. 181-188, 2006.

MOURA, M. R. L., 2005, **Alimentos Funcionais: seus benefícios e a legislação**. Disponível em: <<http://acd.ufrj.br/consumo/leituras/ld.htm#leituras>>. Acesso em: 01 set. 2007.

MÜLLER, H.; JORDAL, O.; KIERULF, P.; KIRKHUS, B.; PEDERSEN, J. I. Replacement of partially hydrogenated soybean oil by palm oil in margarine without unfavorable effects on serum lipoproteins. **Lipids**, v. 33, n. 9, 1998.

NAKAJIMA-ADACHI, H.; HACHIMURA, S.; ISE, W.; HONMA, K.; NISHIWAKI, S.; HIROTA, M.; SHIMOJO, N.; KATSUKI, T.; AMETANI, A.; KOHNO, Y.; KAMINOGAWA, S. Determinant analysis of IgE and IgG4 antibodies and T cells specific for bovine alpha(s)1-casein from the same patients allergic to cow's milk: existence of alpha(s)1-casein-specific B cells and T cells characteristic in cow's-milk allergy. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 101, n. 5, p. 660-671, 1998.

NICOLINI, G.; RIGOLIO, R.; MILOSO, M.; BERTELLI, A. A. E.; TREDICI, G. Anti-apoptotic effect of trans-resveratrol on paclitaxel-induced apoptosis in the human neuroblastoma SH-SY5Y cell line. **Neurosci. Let.**, v. 302, p. 41-44, 2001.

NINESS, K. R. Inulin and oligofructose: what are they? **J. Nutr.**, v. 129, suppl., p. 1402-1406, 1999.

O BRASIL deixa de ser jovem. [Londrina, PR], **Rev. Maxi in**, n. 34, 2004. Disponível em: <<http://www.maxi-in.com.br/maxi-in.asp?edicao=34&id=20>>. Acesso em: 22 jan. 2008.

OBERREUTHER-MOSCHNER, D. L.; JAHREIS, G.; RECHKEMMER, G.; POOL-ZOBEL, B. L. Dietary intervention with the probiotics *Lactobacillus acidophilus* 145 and *Bifidobacterium longum* 913 modulates the potential of human faecal water to induce damage in HT29clone19A cells. **Br. J. Nutr.**, v. 91, p. 925-932, 2004.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Rev. Bras. Ciênc. Farmacêut.** São Paulo, v. 38, n. 1, p. 1-21, 2002.

OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; BLANCO, I.; VAQUERO, M. Lutein, but not α -tocopherol, supplementation improves visual function in patients with age-related cataracts: a 2-y double-blind, placebo-controlled pilot study. **Nutr.**, v. 19, n. 1, p. 21-24, 2003.

OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 82, p. 279-289, 2002.

PACE-ASCIAK, C. R.; HAHN, S.; DIAMANDIS, E. P.; SOLEAS, G.; GOLDBERG, D. M. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. **Clin. Chim. Acta.**, v. 235, p. 207-219, 1995.

PACE-ASCIAK, C. R.; ROUNOVA, O.; HAHN, S. E.; DIAMANDIS, E. P.; GOLDBERG, D. M. Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subject. **Clin. Chim. Acta**, v. 246, n. 1-2, p. 163-182, 1996.

PALOMBO; P.; FABRIZI, G.; RUOCCO V.; RUOCCO, E.; FLUHR, J.; ROBERTS, R.; MORGANTI, P. Beneficial Long-Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutein and Zeaxanthin on Human Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. **Skin Pharmacol. Physiol.**, v. 20, p. 199-210, 2007.

PARK, Y. W. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. Abstract. **Small Rum. Res.**, v. 14, n. 2, p. 151-159, 1994.

PARK, Y. W.; JUÁREZ, M.; RAMOS, M.; HAENLEIN, G. F. W. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Rum. Res.**, v. 68, p. 88-113, 2007.

PEACOCK, C. Improving Goat Production in the Tropics: A Manual for Development. **An Oxfam/ Farm-Africa Publication**, p. 1-4, 1996.

PELLERIN, P. Goat's milk in nutrition. Abstract. **Ann. Pharm. Fr.**, v. 59, n. 1, p. 51-62, 2001.

PENG, Z. F.; STRACK, D.; BAUMERT, A.; SUBRAMANIAM, R.; GOH, N. K.; CHIA, T. F.; TAN, S. N.; CHIA, L. S. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. **Phytochem.**, v. 62, p. 219-228, 2003.

PENNA, N. G.; HECKTHEUER, L. H. R. Vinho e Saúde: uma revisão. **Infarma**, v. 16, n. 1-2, 2004.

PEREIRA, D. I. A.; GIBSON, G. R. Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. **Critical Rev. Biochem. Molec. Biol.**, v. 37, n. 4, p. 259-281, 2002.

PEREIRA, M. A.; O'REILLY, E.; AUGUSTSSON, K.; et al. Dietary Fiber and Risk of Coronary Heart Disease. A Pooled Analysis of Cohort Studies. **Arch. Intern. Med.** v. 164, p. 370-376, 2004.

PHILLIPS, F. Review: Nutrition for healthy ageing. British Nutrition Foundation. **Nutr. Bull.**, v. 28, p. 253-263, 2003.

POCHAPIN, M. The effect of probiotics on *Clostridium difficile* diarrhea. **Am. J. Gastroenterol.**, v. 95, p. S11-S13, 2000.

POLIGNANO, L. A. C.; DRUMOND, F. B.; CHENG, L. C. Utilização dos Mapas de Percepção e como técnicas auxiliares do QFD durante o desenvolvimento de produtos alimentícios. In: Congresso Brasileiro de Gestão do Desenvolvimento de Produto, 1, 1999, Belo Horizonte. **Anais...** 1999. p. 274-284.

PRODUÇÃO DA PECUÁRIA MUNICIPAL, Rio de Janeiro, v. 32, p. 1-35, 2004.

PRODUÇÃO DA PECUÁRIA MUNICIPAL, Rio de Janeiro, v. 34, p. 1-62, 2006.

PUUPPONEN-PIMIÄ, R.; AURA, A. M.; OKSMANCALENTEY, K. M.; MYLLÄRINEN, P.; SAARELA, M.; MATTILA-SANHOLM, T.; POUTANEN, K. Development of functional ingredients for gut health. **Trends Food Sci. Technol.**, Amsterdam, v. 13, p. 3-11, 2002.

QUEIROGA, R. C. R. E.; GUERRA, N. B.; BISCONTINI, T. M. B.; COSTA, R. G. **A caprinocultura leiteira no contexto da segurança alimentar e nutricional**, jan./jun., 2003.

RAMOS, E. M.; GOMIDE, L. A. M. **Avaliação da Qualidade de Carnes: Fundamentos e Metodologias**. Viçosa-MG: Ed. UFV, p. 287-337, 2007.

RATNA, W. N.; SIMONELLI J. A. The action of dietary phytochemicals quercetin, catechin, resveratrol and na-ringenin on estrogen-mediated gene expression. **Life sci.**, v. 70, p. 1577-1589, 2002.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A., PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant Activity Applying An Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biol. Med.**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-1237, 1999.

REGAZZI, A. J. INF 766 – **Análise Multivariada** (notas manuscritas). DPI – UFV. Viçosa – MG, 1997.

RÉGULA, L. M. **Padrões virtuais e tolerâncias colorimétricas no controle instrumental das cores**. 2004. 223 f. Dissertação (Mestrado em Metrologia). Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

RENAUD, S.; LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v. 339, n. 8808, p. 1523-1526, 1992.

ROBERFROID, M. B. Functional food concept and its application to prebiotics. **Dig. Liver Dis.**, Rome, v. 34, suppl. 2, p. S105-S110, 2002.

RODRÍGUEZ, M. B. S.; MEGÍAS, S. M.; BAENA, B. M. Alimentos Funcionales y Nutrición óptima. **Revista da Espanha de Salud Pública**. v. 77, n. 3, p. 317-331, 2003.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 2001, 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Food carotenoids: analysis, composition and alterations during storage and processing of foods. **Forum Nutr.**, v. 56, p. 35-37, 2003.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chem.**, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Rev. Bras. Ciênc. Farmacêut.**, v. 42, n.1, jan/mar., 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDE, R.; MALTTO, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **J. Biotechnol.**, v. 84, p. 197-215, 2000.

SALMINEN, S. Human studies on probiotics: Aspects of scientific documentation. **Scand. J. Nutr./Naringsforskning**, v. 45, p. 8-12, 2001.

SALMINEN, S.; OUWEHAND, A.; BENNO, Y.; LEE, Y.K. Probiotics: how should they be defined? **Trends Food Sci. Technol.**, v. 10. p. 107-110, 1999.

SANGIOVANNI, J. P.; CHEW, E. Y.; CLEMONS, T. E., et al. The Relationship of Dietary Carotenoid and Vitamin A, E, and C Intake With Age-Related Macular Degeneration in a Case-Control Study, Report N° 22, **Arch. Ophthalmol.**, v. 125, n. 9, p.1225-1232, 2007.

SCHLEY, P. D.; FIELD, C. J. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **Br. J. Nutr.**, v. 87, p. 221S-230S, 2002.

SEDDON, J. M., AJANI U. A., et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Group. **JAMA**, v. 272, n. 18, p. 1413-1420, 1994.

SEPPANEN-LAAKSO, T.; VANHANEN, H.; LAAKSO, I.; KOHTAMAKI, H.; VIIKARI, J. Replacement of butter on bread by rapeseed oil and rapeseed oil containing margarine: effects on plasma fatty acid composition and serum cholesterol. **Br. J. Nutr.**, v. 68, p. 639-654, 1992.

SGARBIERI, V. C.; PACHECO, M. T. B. Revisão: Alimentos Funcionais Fisiológicos. **Braz. J. Food Technol.**, n. 2, v. 1 e 2, p. 17-19, 1999.

SHAO, A.; HATHCOCK, J. N. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. **Regul. Toxicol. Pharmacol.** v. 45, p. 289-298, 2006.

SILANIKOVE, N. The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. **Small Rum. Res.**, v. 35, p. 181-193, 2000.

SILVA, J. B. **Leite, um estudo abrangente**. 2007. Disponível em: <<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias/21481>>. Acesso em: 15 mar. 2008.

SILVA, R. R. da. **Agribusiness da Caprinocultura de Leite no Brasil**. Salvador: Bureau, 1998.

SILVEIRA, J. A. D. **Leite de Cabra**, 2002. Disponível em: <http://www.univap.br/biblioteca/hp_dez_2002/Revisada%20dez%202002/019.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2008.

SMITH, M. C.; SHERMAN, D. M. **Goat Medicine**. p. 1-2, 1994.

SNODDERLY, D. M. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 62, p. 1448S-61S, 1995.

SOLEAS et al. A derivatized gas chromatographic-mass spectrometric method for analysis of both isomers of resveratrol by juice and wine. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 46, n. 3, p. 346-352, 1995.

SOLEAS, G. J.; DIAMANDIS, E. P.; GOLDBERG, D. M. Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone? **Clin. Biochem.**, v. 30, p. 91-113, 1997.

SOMMERBURG, O.; KEUNEN, J.; BIRD, A.; VAN KUIJK, F. J. G. M. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. **Br. J. Ophthalmol.**, v. 82, n. 8, p. 907-910, 1998. Abstract.

- STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Mol. Aspects Med.**, v. 24, p. 345-351, 2003.
- STANTON, C.; DESMOND, C.; COAKLEY, M.; COLLINS, J. K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R. P. **Challenges facing development of probiotic-containing functional foods**. In: FARNWORTH, E.R., ed. Handbook of fermented functional foods. Boca Raton: CRC Press, p. 27-58, 2003.
- STANTON, C.; GARDINER, G.; LYNCH, P.B.; COLLINS, J.K.; FITZGERALD, G.; ROSS, R.P. Probiotic cheese. **Int. Dairy J.**, v. 8, p. 491-496, 1998.
- STRINGHETA, P. C.; VILELA, M. A. P.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEN, T. G. **Alimentos “Funcionais” – Conceitos, contextualização e regulamentação**. Juiz de Fora: Templo, 2007.
- SUN, A. Y.; SIMONYI, A.; SUN, G. Y. The “french paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols. **Free Radical Biol. & Med.**, v. 32, n. 4, p. 314-318, 2002.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.
- THANE, C.; REDDY, S. Processing of fruit and vegetables: effect on Carotenoids. **Nutr. Food Sci.**, n. 2, p. 58-65, 1997.
- TOUGER-DECKER, R. Nutrition and Oral Health in Older Adults. **Top. Clin. Nutr.**, v. 20, n. 3, p. 211-218, 2005.
- TRELA, B.; WATERHOUSE, A. L.. Resveratrol: Isomeric molar absorptivities and stability. **J. Agric. Food Chem.**, v. 44, n. 5, p. 1253-1257, 1996.
- TUOHY, K. M.; PROBERT, H. M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G. R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today*, **Haywards Heath**, v. 8, n. 15, p. 692-700, 2003.
- VAN HET HOF, K. H.; WEST, C. E.; WESTSTRATE, J. A.; HAUTVAST, J. G. A. J. Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. **J. Nutr.**, v. 130, n. 3; p. 503-506, 2000.
- VEGARUD, G. E.; DEVOLD, T. G.; OPHEIM, R.; LOEDING, E.; SVENNING, C.; ABRAHAMSEN, R. K.; LIEN, S.; LANGSRUD, T. Genetic variants of Norwegian goats milk composition, micellar size and renneting properties. **Int. Dairy J.**, v. 9, p. 367-368, 1999.
- VITALE, S.; WEST, S.; HALLFRISCH, J.; et al. Plasma antioxidants and risk of cortical and nuclear cataract. **Epidemiology**, v. 4, p. 195-203, 1993.
- WAL, J-M. Cow's milk allergens - An update on allergens. **Allergy**, v. 53, p. 1013-1022, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Envelhecimento ativo: uma política de saúde**. Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2005, 60 p.

WU, C. C., et al., Low concentrations of resveratrol potentiated the antiplatelet effect of prostaglandins. **Panta Med.**, n. 5, v. 16, p. 439-443, 2007.

XIAO, J. Z.; KONDO, S.; TAKAHASHI, N. et al. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* in rats and healthy adult male volunteers. **J. Dairy Sci.**; v. 86, p. 2452-2461, 2003.

YEUM, K. J.; RUSSELL, R. M. Carotenoid bioavailability and bioconversion. **Annu. Rev. Nutr.** v. 22, p. 483-504, 2002.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo Geral

Desenvolver formulações de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, com alegação de propriedades funcionais, a fim de atender a algumas necessidades específicas da terceira idade.

5.2. Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver formulação de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, adicionado de prebiótico, probiótico e luteína.
- ✓ Quantificar a luteína adicionada ao leite fermentado em função do período de armazenamento do produto.
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante e as alterações do pH e da coloração do leite fermentado com adição de luteína durante o período de estocagem.
- ✓ Avaliar a aceitabilidade sensorial e caracterizar as propriedades físico-químicas de formulações de leite de cabra fermentado, com consistência líquida e gelatinosa, adicionadas de luteína e resveratrol.

CAPÍTULO 1 – LEITE DE CABRA FERMENTADO: FORMULAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE LUTEÍNA

RESUMO

Foi desenvolvida uma formulação de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, simbiótico, com adição de 0,032 mg/mL de luteína. O objetivo deste trabalho foi quantificar a luteína adicionada ao leite de cabra fermentado durante o período de armazenamento do produto. A extração da luteína adicionada ao leite fermentado foi realizada através de processo de centrifugação, com posterior utilização de solventes orgânicos e lavagens sucessivas com água destilada. A quantificação foi feita por espectrofotometria e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados mostraram que houve efeito ($p < 0,05$) do tempo de estocagem do produto na concentração de luteína presente no leite fermentado, havendo redução da concentração desse composto bioativo, e que as duas técnicas de quantificação utilizadas, apesar de proporcionarem valores absolutos distintos, apresentaram correlação positiva ($r = 0,5122$) significativa ($p < 0,05$).

Palavras-chave: leite fermentado, luteína, quantificação.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida e a conseqüente preocupação da população com a saúde e o bem-estar tem despertado nas instituições de pesquisa e nas indústrias alimentícias o interesse em desenvolver produtos com propriedades funcionais. Assim, estudos que demonstram os benefícios

provenientes da adição de prébióticos, probióticos e compostos bioativos em produtos lácteos têm sido cada vez mais realizados.

Os leites fermentados consistem em produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos por coagulação e diminuição do pH do leite, ou leite reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, cuja fermentação se realiza com um ou vários dos seguintes cultivos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e/ou outras bactérias acidoláticas que, por sua atividade, contribuem para a determinação das características do produto final. Esses microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade (BRASIL, 2000b).

O leite de cabra merece destaque devido à sua alta digestibilidade; ao pequeno diâmetro dos seus glóbulos de gordura, assim como pelo seu alto valor nutricional, rico em proteínas, vitaminas, minerais; ao baixo teor de lactose e colesterol; e, ainda, à ausência ou quantidade muito reduzida da caseína alfa-s1, responsável por problemas alérgicos em indivíduos imunodeficientes (FREUND, 1997).

Existem várias evidências demonstrando que a ingestão de prebióticos como inulina e frutooligossacarídeos e de microrganismos probióticos pode exercer efeitos benéficos à saúde humana, como, por exemplo, controle da microbiota intestinal, redução dos sintomas da intolerância à lactose, alívio da constipação e aumento da absorção de minerais (KIM; GILLILAND, 1983; CHARTERIS et al., 1998a; TUOHY et al., 2003; HAMILTON-MILLER, 2004; ABRAMS et al., 2005; CRUZ et al., 2007).

Entre os compostos bioativos existentes, destacar-se-á neste capítulo a luteína, que é um carotenoide di-hidroxilado, pertencente à família das xantofilas, que atua na proteção dos tecidos contra os danos provocados pelos radicais livres (KRINSKY et al., 2003). Os principais efeitos biológicos da luteína estão relacionados à redução do risco de doenças oculares, como degeneração macular, catarata e retinite pigmentosa (BONE et al., 2000; ALEMAN et al., 2001; DELCOURT et al., 2006). Entretanto, alguns estudos mostram sua ação na redução do risco de aterosclerose (DWYER et al., 2001) e câncer (HOLICK et al., 2002), além da proteção da pele contra os

danos causados pela exposição excessiva aos raios ultravioleta (PALOMBO et al., 2007). Os cientistas têm demonstrado que a suplementação com alimentos ricos em luteína tem a capacidade de aumentar a concentração e a densidade do pigmento macular (HAMMOND et al., 1997).

Vários estudos têm sido realizados a fim de quantificar a luteína presente em frutas, vegetais (HART; SCOTT, 1995), produtos lácteos (OLLILAINEN et al., 1989) e em flores (NATCHIGALL, 2007).

O método mais utilizado para extração de carotenoides emprega solventes orgânicos, como acetona, etanol, metanol, ou misturas deles e outros solventes mais apolares. Durante o processo de extração, devem-se tomar algumas precauções, uma vez que as duplas ligações conjugadas dos carotenoides, além de serem responsáveis pela cor e outras propriedades destes pigmentos, também o são pela instabilidade deles, especialmente com relação a oxigênio, luz e calor. Com o propósito de evitar o aquecimento excessivo, os extratos devem ser concentrados em evaporadores rotativos, e solventes com baixo ponto de ebulição devem ser utilizados (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2007).

Um método simples muito usado para identificar e quantificar pigmentos presentes em uma mistura é a espectroscopia. A absorvância reflete a organização das duplas ligações conjugadas. A precisão do método depende do tipo de aparelho e metodologia utilizada, da habilidade para determinar com precisão a absorvância máxima e da exatidão do coeficiente de absorção usado nos cálculos. A sobreposição de bandas de pigmentos presentes na amostra dificulta a estimativa da concentração do pigmento individual. Assim, quando há mais de três pigmentos, o método se torna menos eficiente, sendo mais indicada a utilização do método cromatográfico. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é frequentemente usada para separação e isolamento desses pigmentos, em razão de sua versatilidade, alta resolução e sensibilidade (SCHOEFS, 2002).

Os objetivos deste trabalho foram desenvolver formulação de leite de cabra fermentado com reduzido teor de lactose, adicionado de prebióticos, probióticos e luteína; definir e padronizar uma metodologia para extração da luteína em pó adicionada ao leite fermentado; e avaliar a sua concentração

em função do período de estocagem do produto, por meio de análises espectrofotométricas e cromatográficas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras Avaliadas

Foi desenvolvida uma formulação de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, simbiótico, com adição de 0,032 mg/mL de luteína (FCL); posteriormente, foi realizada a extração e quantificação desse composto bioativo, em função do período de armazenamento do produto.

A luteína utilizada foi fornecida pela DSM Nutritional Products. Entretanto, consistia em um produto comercial em pó que continha apenas 5% de luteína, adicionado de outras substâncias, como amido modificado, xarope de glicose, dl- α -tocoferol e ascorbato de sódio. Para efeito de comparação, em cada dia de análise da luteína presente no leite fermentado, foi realizada também a extração e a análise da luteína do produto comercial 5% (LPC), porém esta última não foi estocada.

2.2. Desenvolvimento do produto

Testes preliminares foram realizados a fim de definir a formulação final do leite fermentado, de forma a atingir consistência, coloração e sabor que tivesse aceitação sensorial diante do mercado consumidor. Dessa forma, testaram-se diferentes concentrações de aspartame e luteína; aromas e polpas de diversos sabores, fornecidos por diferentes empresas; e diferentes tipos de corantes naturais, a fim de se obter coloração semelhante àquela apresentada pela luteína.

A definição do sabor de maracujá foi realizada com base na coloração amarela do produto, resultante da adição da luteína.

Salienta-se que a quantidade de inulina utilizada foi de 3% no produto final, o suficiente para que o leite fermentado fosse caracterizado como fonte de fibras (BRASIL, 1998) e tivesse alegação de “contribuir para o equilíbrio da flora intestinal” (BRASIL, 2008).

A quantidade de luteína adicionada foi de 0,032 mg/mL de leite fermentado, definida com base em dados da literatura, que indicam um limite de 20 mg como seguro para o consumo diário de luteína (SHAO; HATHCOCK, 2006), e através de estudos que mostram os efeitos biológicos desse composto bioativo quando consumido em concentração mínima de 6 mg por dia (SEDDON, 1994; FULLMER, 2003).

A enzima lactase (LactoMax Flex®, Prozyn) utilizada é um produto diferenciado que atua tanto em pH neutro quanto em pH ácido. A hidrólise enzimática da lactose foi otimizada levando-se em consideração a temperatura de fermentação.

Após definição das formulações a serem utilizadas, o leite de cabra fermentado foi produzido no Laboratório de Propriedades Tecnológicas e Sensoriais de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em iogurteira da marca Biasinox com capacidade máxima de 20 L. A luteína foi fornecida pela DSM Nutritional Products. O leite de cabra foi proveniente de um rebanho específico do Setor de Caprinocultura do Departamento de Zootecnia da UFV.

A fabricação do produto lácteo consistiu no preparo e homogeneização da mistura de leite de cabra, inulina (*Beneo Synergy 1 - Clariant*) e o composto bioativo, quando utilizado. Posteriormente, a mistura foi submetida a um tratamento térmico a 90 °C por cinco minutos e resfriada até atingir a temperatura de 40 °C. Em seguida, foi feita a adição de aspartame (*Doce Aroma*), lactase (LactoMax Flex®, *Prozyn*) e fermento probiótico, seguida da completa homogeneização. O fermento lácteo utilizado foi o *BioRich* da Christian-Hansen e continha os microrganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. A incubação foi feita a 40 °C por aproximadamente quatro horas, até que o pH do produto atingisse valor de 4,6. Depois da fermentação, foi realizada a quebra e a mistura da massa, adicionando polpa (*Goody*) e aroma de maracujá (*Doce Rodas*). Após

finalizar o processo de produção, o produto lácteo foi envasado em embalagens plásticas de 185 mL e armazenado a 5 °C durante um período de 60 dias. Esse procedimento foi realizado em três repetições.

Na Figura 1 encontra-se o fluxograma de processamento do leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, sabor maracujá, com propriedades funcionais.

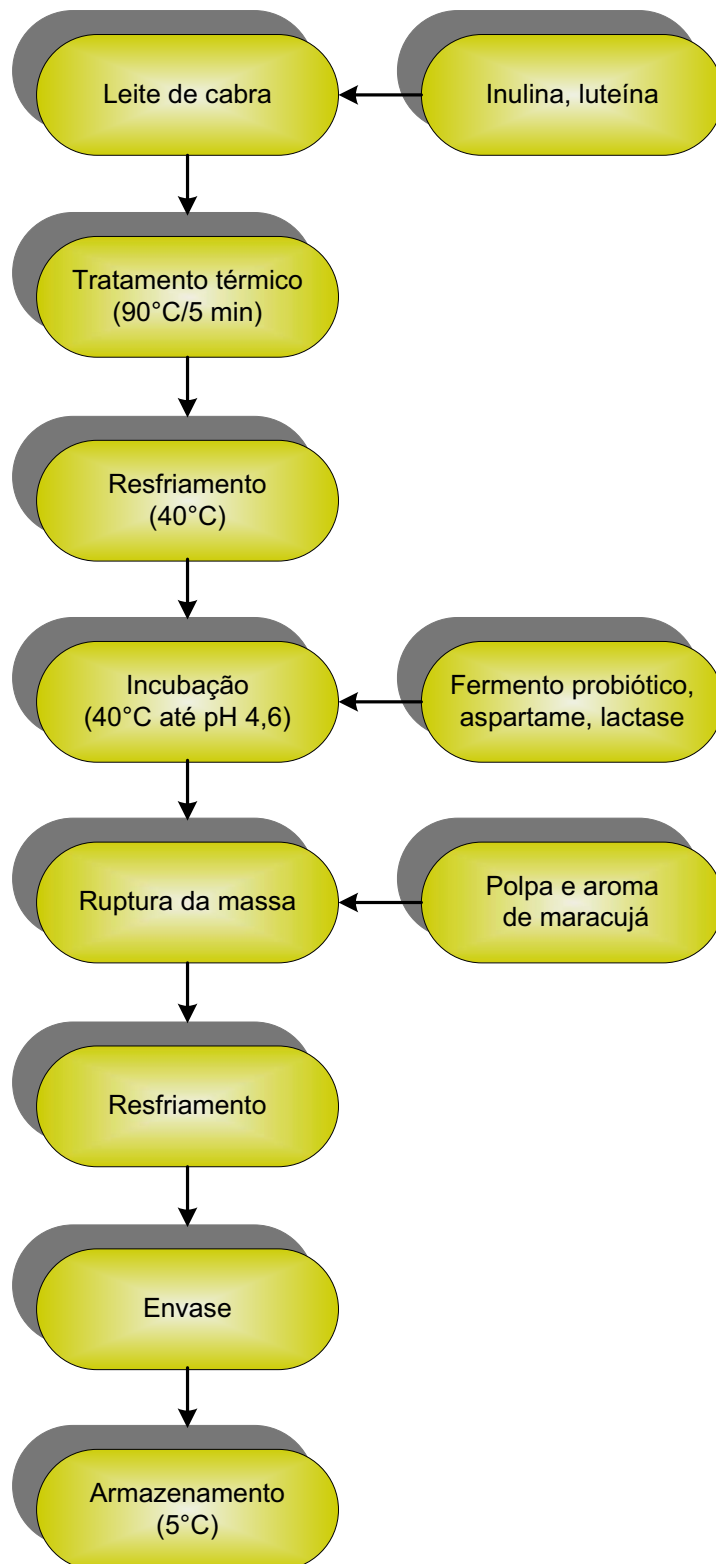


Figura 1 - Fluxograma geral do processo de fabricação do leite fermentado.

2.3. Extração da luteína

A extração da luteína adicionada ao leite fermentado foi feita por processo de centrifugação da amostra diluída em etanol 95% (*Vetec*), seguida da recuperação da luteína presente no sobrenadante, por meio da utilização dos solventes acetona (*Vetec*) e éter de petróleo (*Vetec*) em funil de separação e sucessivas lavagens com água destilada. A mistura de luteína e éter de petróleo obtida foi seca em evaporador rotatório a vácuo à temperatura de 38 °C e ressuspensa em 5 mL de etanol absoluto.

A extração com solventes orgânicos, sem a etapa preliminar de centrifugação, foi realizada para a luteína do produto comercial, a fim de comparar com a extração da luteína do leite fermentado. Diferentes proporções dos solventes acetona e éter de petróleo foram testadas, até se obter uma proporção ideal, que favorecesse a extração da luteína.

Os procedimentos utilizados na definição e padronização da metodologia de extração da luteína estão descritos no item 3.1 deste capítulo. A metodologia de extração foi definida por meio da comparação da eficiência dos processos de extração utilizados com os resultados de absorvância obtidos pelos métodos indiretos de análise antioxidante, segundo metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995) e Cai et al. (2004), com modificações.

2.4. Quantificação da luteína

A quantificação do teor de luteína foi realizada espectrofotometricamente, por meio da leitura de absorvância a 445 nm, comprimento de onda de máxima absorção, utilizando espectrofotômetro de massa UV-Visível 1601PC da marca Shimadzu, segundo Cisneros et al. (2004). As amostras de luteína extraídas foram ressuspensas em 5 mL de etanol absoluto e submetidas a uma diluição de 1:10 (v/v) com o mesmo solvente, com o propósito de permitir leituras espectrofotométricas.

A luteína também foi quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência em HPLC Shimadzu CLASS-VP, com detector SPD-10AV, de acordo com a metodologia descrita por Nunes e Mercadante (2004). Os compostos foram separados em coluna de fase reversa C₃₀ YMC (250 x 4,6 mm, 5 µm), específica para carotenoides, utilizando metanol (0,1% de trietilamina): terc-butil-metil-éter (TBME) (95:5 v/v) como fase móvel e tetraidrofurano (THF) como solvente de limpeza entre uma corrida e outra, com fluxo de 1 mL.min⁻¹, em modo isocrático, com injeção de 50 µL. Os cromatogramas foram obtidos a 450 nm.

Os solventes utilizados foram previamente filtrados em sistema Milipore de filtração a vácuo com membrana de 0,45 µm, apropriada para solvente orgânico, e, a seguir, degaseificados em ultrassom. As amostras foram ressuspendidas em 5 mL de metanol e filtradas em membrana de polietileno de 0,22 µm de poro.

A quantificação foi efetuada empregando padrão externo. Foram injetadas seis concentrações conhecidas de um padrão de luteína (>95%) (Sigma-Aldrich) no cromatógrafo líquido (HPLC), para detecção. O cálculo da área de cada pico gerado resultou em uma série de dados, que foram utilizados para o estabelecimento da curva de calibração. A quantificação foi feita relacionando-se a área do pico formado pela amostra de luteína com aquela obtida na curva de calibração, por meio de uma equação de regressão.

2.5. Análise Estatística

Para a variável concentração de luteína determinada por espectrofotômetro (CVIS), utilizou-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), com três repetições (formulações), com avaliação em função dos dias 0, 7, 15, 30, 45 e 60. A concentração de luteína determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE) foi avaliada da mesma maneira, porém em função dos dias 0, 7, 15, 45 e 60, considerando-se apenas duas repetições (formulações).

Os dados foram analisados por meio da análise de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste de Student (“t”) a 5% de probabilidade; no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{S.Q. Regressão} / \text{S.Q. Tratamento}$); e no fenômeno biológico.

O coeficiente de correlação entre as variáveis concentração de luteína determinada por espectrofotometria (CVIS) e concentração de luteína determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE) foi estimado pela técnica de correlação de Pearson. As análises foram realizadas com auxílio do software SAEG, versão 9.1, desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Padronização da metodologia de extração da luteína adicionada em leite de cabra fermentado

Para quantificação da luteína adicionada ao leite fermentado, foi necessário o desenvolvimento e a padronização de uma metodologia de extração específica para produtos com elevado teor de proteína. Deve-se ressaltar que a maioria dos estudos reporta análises realizadas com luteína solubilizada em extratos oleosos e não na forma em pó, como a utilizada neste trabalho.

A luteína foi proveniente de um produto comercial (*DSM Nutritional Products*) que continha 5% desse composto bioativo, adicionado de outras substâncias, como dl- α -tocoferol e ascorbato de sódio, que poderiam afetar a análise da capacidade antioxidante. Assim, primeiramente foi necessário avaliar algumas características físicas, como a solubilidade da luteína no produto comercial, para depois promover a sua extração. Verificou-se que o produto comercial apresentava solubilidade em água, ao contrário da luteína pura, que é solúvel em solventes orgânicos. Dessa forma, para extrair a

luteína do produto comercial adicionada ao leite fermentado, foi necessário o uso de etanol como solvente extrator.

Para se utilizar a metodologia convencional de extração de carotenoides, primeiramente foi preciso definir a concentração de luteína a ser utilizada. Como as amostras de luteína extraída do produto comercial seriam usadas como parâmetro de comparação para as amostras de luteína extraída do leite fermentado, foi necessário encontrar uma concentração em comum entre elas, que permitisse detectar a atividade antioxidante.

Diferentes concentrações de luteína e cinco processos de extração foram testados (P1, P2, P3, P4 e P5), conforme apresentado na Tabela 1. A princípio, considerou-se a concentração de 12 mg de luteína por 200 mL de produto, com base em dados da literatura provenientes de estudos randomizados e controlados com humanos, estabelecendo uma dose máxima segura de 20 mg de luteína por dia. Extrapolando dados obtidos com animais, admite-se até uma dose 38 mg/dia de luteína (SHAO; HATHCOCK, 2006; SEDDON, 1994).

Assim, adicionou-se concentração de luteína comercial (5%) de 240 mg/ 200 mL de produto, a fim de se obter concentração de luteína pura equivalente a 0,06 mg/mL de produto.

Os testes foram realizados considerando a concentração de luteína desejável no produto final; entretanto, inicialmente foram simulados com a luteína comercial (5%) solubilizada em água e etanol 95%, sem considerar sua adição ao leite fermentado.

Tabela 1 - Procedimentos (P) de extração da luteína presente no produto comercial (5%)

P	Massa amostra comercial (g)	Vol. água (mL)	Aliquota retirada (mL)	Vol. final (mL)	Aliquota extraída (mL)	Volume Acetona (mL)	Volume éter petróleo (mL)	Volume resusp. (mL)	Concentração final de luteína pura (mg/mL)
1	0,060	50	1	10	10	50	30	10	0,006
2	0,060	5	2	10	10	75	45	20 (1:5)**	0,012
3	0,060	5	2	10	5	75	45	5 (1:5)**	0,024
4	0,0032	5	5	10	5 (2x)*	50	30	5	0,032
5	0,0032	5	5	25	12,5 (2x)*	75	45	5	0,032

* Processo de extração dividido em duas etapas.

** Diluição de 1 mL da amostra final em 5 mL de etanol absoluto.

No processo de extração P1, pesaram-se 60 mg de luteína comercial (5%), que foram adicionados a 50 mL de água; retirou-se 1 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com etanol 95% (Vetec) – diluição esta (1:10) utilizada por Coisson et al. (2005) no preparo da amostra de iogurte, para avaliação da atividade antioxidante. A solução final foi extraída com adição de 50 mL de acetona, 30 mL de éter de petróleo e 100 mL de água destilada. A luteína presente na fase etérea foi recolhida em um balão de fundo redondo de 250 mL, seca em rotavapor à temperatura de 38 °C e posteriormente ressuspensa em 10 mL de etanol absoluto. Ao se monitorar pelo espectrofotômetro a queda de absorvância do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em contato com essa amostra, durante um período de seis horas, não foi possível verificar a atividade antioxidante da luteína. Com base nos resultados obtidos, supôs-se que, devido às diluições, a concentração de luteína na amostra final estava muito baixa, fora do limite de detecção do método. Dessa forma, repetiu-se o procedimento, concentrando ainda mais a amostra, conforme descrito na Tabela 1 para os processos P2 e P3.

Por meio dos testes de formulação do leite fermentado, observou-se que a adição de 12 mg de luteína em 200 mL fazia com que o produto apresentasse coloração amarela muito acentuada, o que dificultaria a aceitação por parte do consumidor. Em razão disso, optou-se por uma nova formulação com o objetivo de obter 8 mg de luteína pura por 250 mL de produto, que corresponde a 0,032 mg/mL de luteína pura. Para atingir essa concentração, foi necessária a adição de 0,64 mg da luteína comercial (5%) por mL de água (processos P4 e P5).

Os processos de extração P2, P3, P4 e P5 (Tabela 1) foram realizados conforme metodologia descrita para o processo de extração P1, apresentando diferenças com relação a concentração de luteína, diluição da amostra, volume da alíquota submetida à extração, etapas de extração, volume dos solventes acetona e éter de petróleo, volume no qual as amostras extraídas foram ressuspensas e diluição final para realização da análise antioxidante.

Na Tabela 2, que mostra a variação da absorvância dos radicais ABTS e DPPH em função do tempo (minutos) de contato com as amostras de luteína extraída do produto comercial (5%), pode-se observar redução da

absorvância desses radicais em contato com as amostras de luteína obtidas pelos diferentes processos de extração. Ao utilizar os processos P1 e P2 (dil 1:5) para extração da luteína presente no produto comercial, praticamente não se observou queda da absorvância; logo, pode-se dizer que a atividade antioxidante dessas amostras de luteína, detectada pelos métodos DPPH e ABTS, respectivamente, é relativamente baixa. Ao utilizar os processos P3 (dil 1:5), P4 e P5, foi possível observar queda brusca na absorvância, o que indica a existência de elevada atividade antioxidante das amostras de luteína obtidas por esses três processos de extração, detectada pelo método ABTS. Foi possível observar ainda que a mistura entre a luteína extraída pelo processo P5 e a solução do radical ABTS apresentou a maior variação entre os valores de absorvância inicial e final, indicando que este processo (P5) proporcionou maior extração da luteína, o que permitiu maior atividade antioxidante. Como o processo P3 exigia várias diluições, o que poderia levar a uma menor eficiência do método, optou-se por utilizar os processos P4 e P5 nas análises com o leite fermentado, a fim de se definir o melhor método a ser empregado.

Tabela 2 - Absorvância dos radicais ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em função do tempo (minutos) de contato com as amostras de luteína obtidas pelos diferentes processos de extração

Processos	Absorvâncias			
	T0	T15	T30	T45
P1 (DPPH)	0,636	0,630	0,610	0,601
P2 (dil1:5)* (ABTS)	0,500	0,465	0,451	0,440
P3 (dil 1:5)* (ABTS)	0,396	0,241	0,184	0,144
P4 (ABTS)	0,404	0,244	0,191	0,172
P5 (ABTS)	0,320	0,140	0,093	0,060

* dil 1:5 – diluição de 1 mL da amostra final em 5 mL de etanol absoluto.

Ao se trabalhar com o leite fermentado, considerou-se a possibilidade de precipitação da luteína com as proteínas do leite, o que poderia dificultar a sua extração pelo método convencional utilizado para carotenoides, afetando assim a determinação de sua real capacidade antioxidante. Dessa forma, antes de se fazer a extração propriamente dita, foi preciso desenvolver um

método para precipitar as proteínas do leite, sem acidificar o meio e sem o auxílio de altas temperaturas, uma vez que esses fatores poderiam afetar a estabilidade da luteína. A adição de etanol seguida do processo de centrifugação foi o procedimento utilizado para contornar esse problema. Primeiramente, 10 mL da mistura de leite fermentado com etanol (1:1 v/v), anteriormente preparados (processo P4), foram centrifugados duas vezes por 10 minutos a 10.000 g, a 4 °C – parâmetros estes baseados na metodologia utilizada por Apostolidis et al. (2006). Após a centrifugação, observou-se a formação de um precipitado de coloração amarelo-intensa, indicando a precipitação de parte da luteína, o que poderia subestimar os valores da luteína adicionada. Para solucionar esse problema, aumentou-se o volume de etanol durante a suspensão da amostra o suficiente para atingir 20 mL, a fim de extrair o máximo de luteína possível, e repetiu-se o procedimento anterior. Após a centrifugação, verificou-se redução da coloração amarela no precipitado. Com o objetivo de melhorar ainda mais o processo de extração, decidiu-se centrifugar os 20 mL da mistura de luteína e etanol por 10 minutos, a 10.000 g, a 4 °C e recuperar o sobrenadante em um tubo de ensaio. Posteriormente, ressuspendeu-se o precipitado com 5 mL de etanol 95%, repetindo-se a centrifugação. O novo sobrenadante obtido foi adicionado ao primeiro no tubo de ensaio. Dessa forma, observou-se coloração esbranquiçada no precipitado, sendo possível obter a máxima recuperação da luteína no sobrenadante. A seguir, procedeu-se à extração da luteína presente no sobrenadante, conforme metodologia convencional. Entretanto, foi necessário reduzir o volume a ser extraído pela metade e aumentar a quantidade de solvente a ser utilizada, já que não era possível extrair toda a luteína presente em 25 mL de sobrenadante de uma só vez. Assim, realizaram-se duas extrações com 12,5 mL do sobrenadante, utilizando-se 75 mL de acetona e 45 mL de éter de petróleo, lavando a amostra três vezes com água destilada. A mistura de luteína e éter de petróleo obtida nas duas extrações foi recolhida em um único balão de fundo redondo de 250 mL, seca em rotavapor à temperatura de 38 °C e posteriormente ressuspendida em 5 mL de etanol absoluto 99,9% (Merck). Esta extração foi realizada de maneira semelhante àquela apresentada para o processo P5 da Tabela 1.

Deve-se ressaltar que todo o experimento foi realizado na ausência de luz, com o objetivo de evitar a degradação da luteína.

Com base nos resultados de análise antioxidante da luteína extraída do produto comercial (5%) pelos diferentes processos e de recuperação da luteína pelo processo de centrifugação, decidiu-se adotar o processo P5 para a extração propriamente dita, etapa esta crucial para a quantificação da luteína e determinação de sua atividade antioxidante.

A Figura 2 apresenta o fluxograma do processo de centrifugação e extração (P5), utilizado para as amostras de leite fermentado com e sem adição de luteína. Na extração da luteína do produto comercial foi utilizado o mesmo procedimento (P5), porém não foi necessária a realização da etapa de centrifugação, uma vez que neste caso não havia a presença de proteínas.

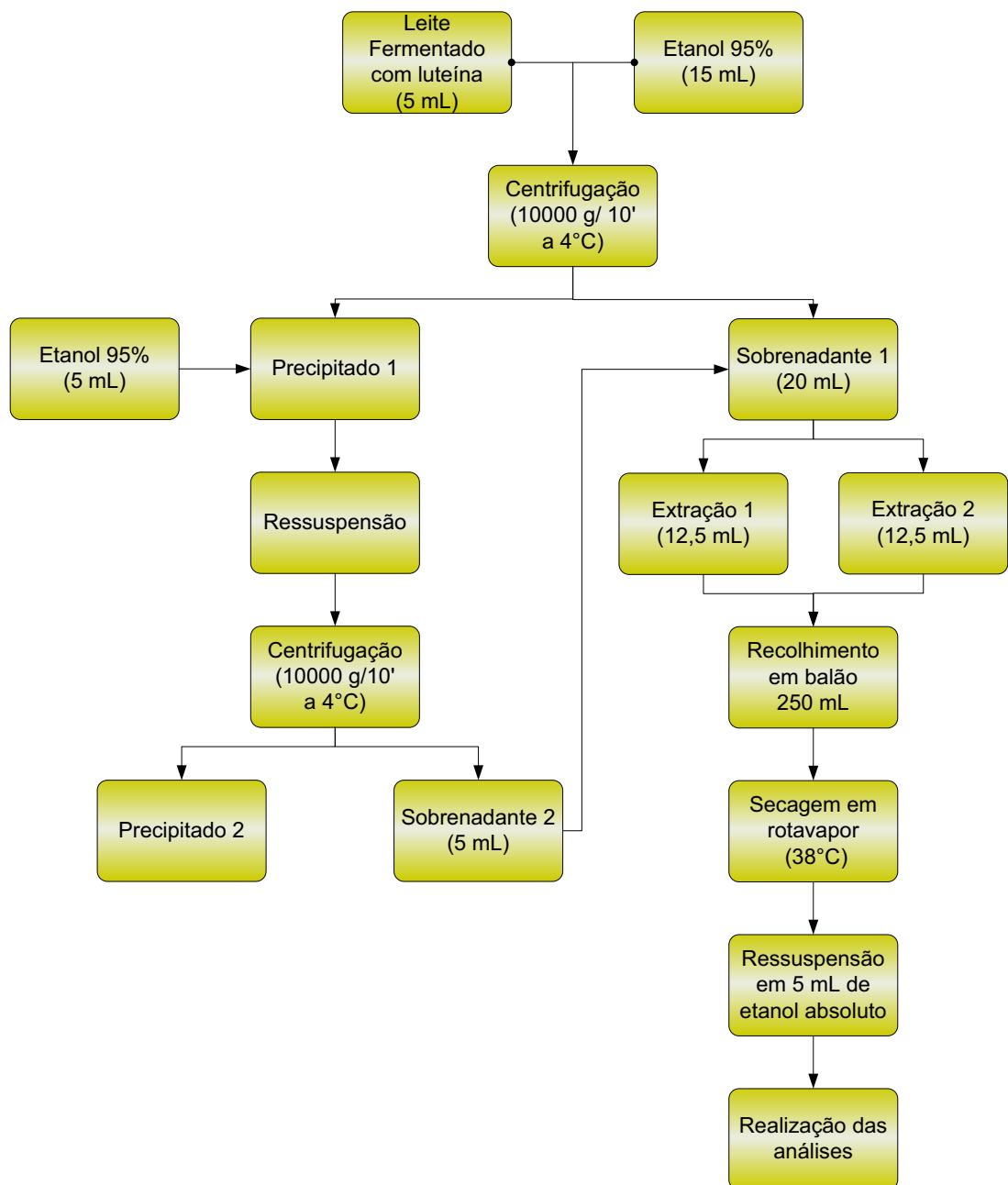


Figura 2 - Fluxograma do processo de centrifugação e extração (P5) utilizado para as amostras de leite fermentado com adição de luteína e sem adição de composto bioativo.

3.2. Quantificação de luteína por espectrofotometria UV-VIS

As amostras de luteína extraídas foram solubilizadas em etanol absoluto e submetidas a uma análise de varredura por espectrometria no UV-VIS entre 350 e 550 nm, onde se obteve como comprimento de onda de máxima absorção o valor de 445 nm. A Figura 3 apresenta os espectros de

absorção obtidos para uma das amostras de luteína extraída do produto comercial (5%) e do leite fermentado.

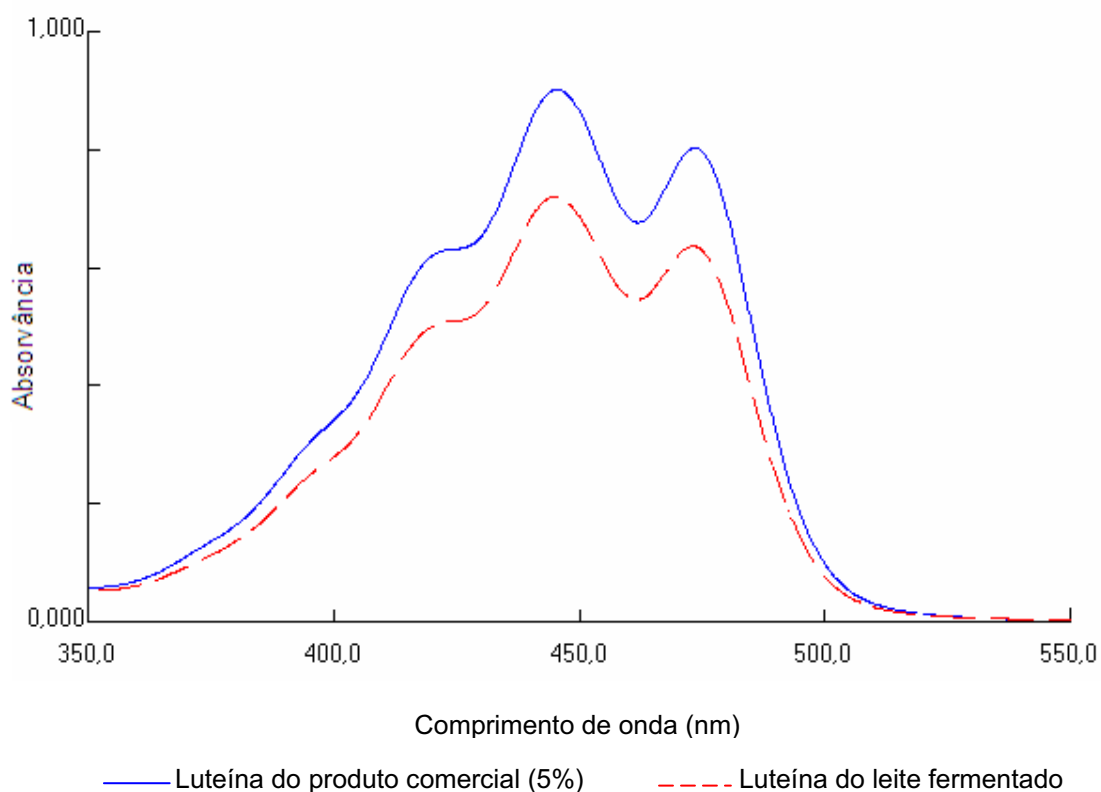


Figura 3 - Espectro de absorção da luteína extraída do produto comercial e do leite fermentado, obtido no espectrofotômetro Shimadzu UV-Visível 1601PC.

Os valores médios observados da concentração de luteína presente no leite fermentado variaram de 25,75 mg/L no início do ensaio a 23,68 mg/L após 60 dias de armazenagem (Tabela 3).

Tabela 3 - Valores médios observados da concentração de luteína (CVIS) presente no leite de cabra fermentado (mg/L) em função dos dias de armazenagem do produto

Dias	Concentração de luteína (mg/L)
0	25,75
7	27,85
15	28,47
30	23,91
45	23,71
60	23,68

O resumo da análise de variância da concentração de luteína determinada espectrofotometricamente (CVIS), para as amostras de leite de cabra fermentado com adição de luteína (FCL), é apresentado na Tabela 4. Observa-se que há efeito significativo, a 1% de probabilidade, do período de estocagem do produto para a concentração de luteína do leite fermentado determinada por espectrofotometria (CVIS).

Para a concentração de luteína do produto comercial, foi realizada a análise estatística descritiva, uma vez que esse produto não foi estocado ao longo dos dias. Essa análise foi realizada a cada dia de análise da concentração de luteína do leite fermentado, para efeito de comparação. O valor médio obtido para a concentração de luteína do produto comercial (LPCVIS), considerando todos os dias de extração, foi de $35,82 \pm 2,79$ mg/L (Tabela 5).

Tabela 4 - Resumo da análise de variância da concentração de luteína presente no leite fermentado (FCLVIS), determinada espectrofotometricamente, em função dos dias de armazenamento do produto (D)

FV	GL	QM
Blocos	2	26,2510
Dias (D)	5	42,1626**
Resíduo	46	4,4800
CV (%)		8,28

** F significativo a 1%.

Tabela 5 - Valores médios da concentração de luteína do produto comercial (LPCVIS) (mg/L) em função dos dias de armazenamento do produto

Dias	Concentração de luteína (mg/L)
0	34,55
7	39,37
15	34,06
30	34,17
45	39,40
60	33,38

Ao se realizar a análise de regressão, observou-se que, para a concentração de luteína (CVIS) presente no leite fermentado (FCL), houve

efeito ($p < 0,05$) dos dias de armazenamento do produto. Esse efeito pode ser observado na Figura 4, que apresenta a estimativa da concentração de luteína (mg/L) determinada por espectrofotometria, em função dos dias de armazenamento do produto, caracterizado pelo modelo $FCLVIS\hat{S}$. A partir deste modelo, verifica-se redução de 0,069142 mg/L de luteína para cada dia transcorrido. Isso pode ocorrer devido à possível interação da luteína com as proteínas do leite, já que carotenoides se associam à fração hidrofóbica de proteínas, o que dificulta a liberação da luteína complexada.

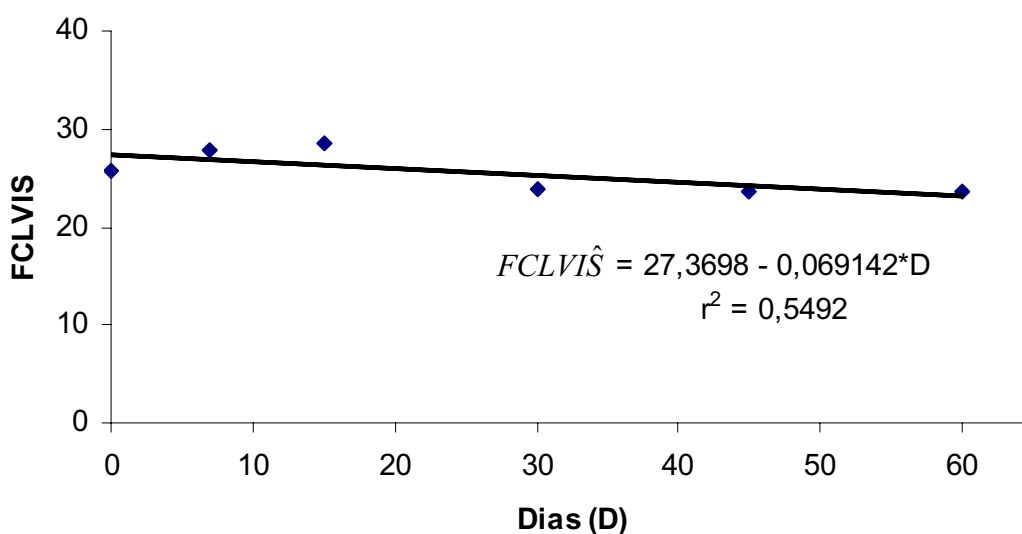


Figura 4 – Estimativa da concentração de luteína (mg/L) presente no leite fermentado, determinada por espectrofotometria ($FCLVIS\hat{S}$), em função dos dias de armazenamento do produto.

3.3. Quantificação de luteína por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A Figura 5 mostra a curva-padrão de luteína utilizada para quantificação do teor de luteína presente no leite fermentado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

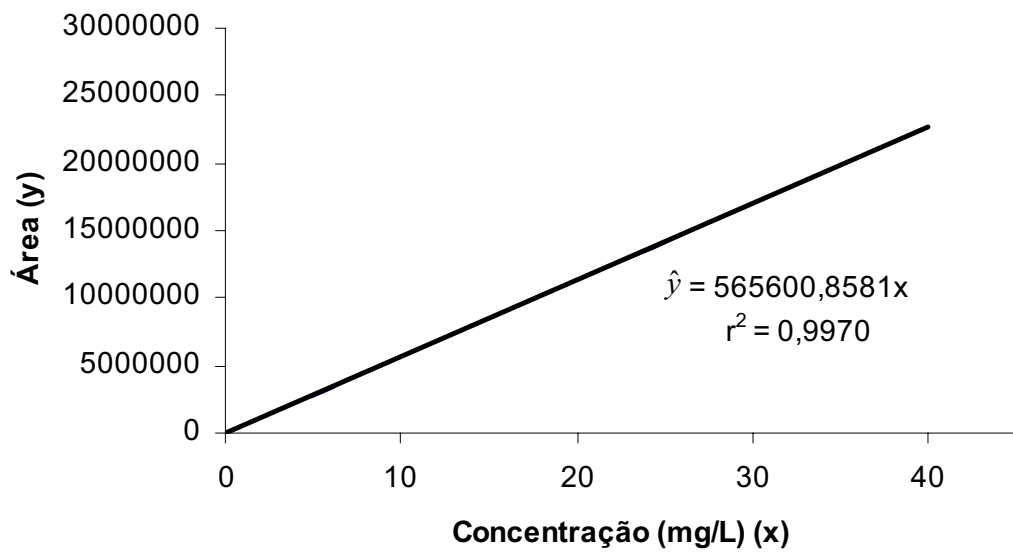


Figura 5 - Curva de calibração de luteína determinada por CLAE.

Na Figura 6 é mostrado o perfil cromatográfico da luteína presente no leite fermentado. O pico de luteína foi identificado por correlação com o tempo de retenção da curva de dose-resposta obtida para o padrão de luteína (Sigma-Aldrich). Por meio das análises cromatográficas, foi possível observar que a luteína constituía aproximadamente 80% dos componentes presentes nas amostras analisadas para o leite fermentado com adição desse composto.

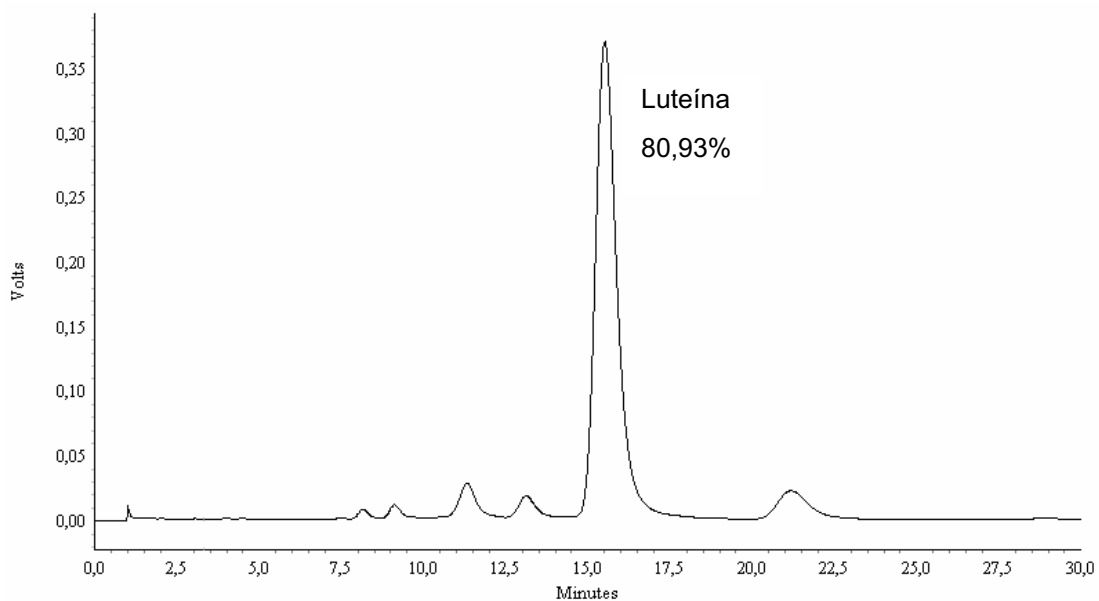


Figura 6 - Cromatograma, obtido por CLAE, da luteína presente no leite fermentado. Coluna polimérica C₃₀ (250 x 4,6 mm, 5 µm), fase móvel: metanol (0,1% de trietilamina): terc-butil-metil-éter (TBME) (95:5 v/v), modo isocrático e fluxo de 1 mL. min⁻¹.

Os valores médios observados da concentração de luteína presente no leite fermentado variaram de 30,08 mg/L no início do ensaio a 26,61 mg/L após 60 dias de armazenagem (Tabela 6).

Como a concentração de luteína adicionada ao leite fermentado foi de 32,0 mg/L, foi possível obter taxa de recuperação de luteína equivalente a 94% no início do ensaio. Estes resultados indicam que a metodologia utilizada têm exatidão confiável, uma vez que a região de recuperação entre 80,0 e 110,0% é considerada aceitável em estudos de validação de um método (CAULCUTT; BODDY, 1994; LEITE, 1996).

Tabela 6 - Valores médios observados da concentração de luteína (CCLAE) presente no leite de cabra fermentado (mg/L), em função dos dias de armazenamento do produto

Dias	Concentração luteína (mg/L)
0	30,08
7	29,81
15	30,20
45	28,20
60	26,61

Segundo Gill e Indyk (2008), a concentração de luteína em leite de vaca líquido integral é de 0,060 mg/L para o leite cru e de 0,0033 mg/L para o leite processado. Quanto ao leite de vaca integral em pó, a concentração de luteína é de 0,058 mg/L e, para o leite de cabra integral em pó, de 0,011 mg/L. O leite humano possui 0,043 mg/L de luteína.

Ollilainen et al. (1989), ao quantificarem o teor de luteína em produtos lácteos e em ovos, observaram que em leites, queijos e iogurtes havia apenas traços de luteína, ao passo que em ovo inteiro e em gema de ovo o conteúdo de luteína foi de 6,2 mg/kg e 15,8 mg/kg, respectivamente.

Hart e Scott (1995) quantificaram a luteína em frutas e vegetais e obtiveram os seguintes resultados: 0,78 mg/kg em pêssego, 0,84 mg/kg em maçã, 1,01 mg/kg em damasco fresco, 19,49 mg/kg em brócolis cozido e 74,10 mg/kg em espinafre cozido.

Observa-se que o produto lácteo desenvolvido apresenta teor de luteína razoável, quando comparado ao dos alimentos que já contêm luteína na sua matriz.

De acordo com o resumo da análise de variância da concentração de luteína presente no leite fermentado, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE) (Tabela 7), observa-se que o período de estocagem do produto possui efeito ($p < 0,05$) na concentração de luteína.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância da concentração de luteína presente no leite fermentado (FCL), determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em função dos dias (D) de armazenamento do produto

FV	GL	QM
Blocos	1	26,0188
Dias (D)	4	9,6027*
Resíduo	14	2,3099
CV (%)		5,24

* F significativo a 5%.

Por meio da análise de regressão, observou-se efeito significativo ($p < 0,01$) do período de armazenamento do produto para as concentrações de luteína (mg/L); o modelo que descreve esse comportamento é apresentado na

Figura 7. A partir desse modelo ($CCLA\hat{E}$), verifica-se redução da concentração de luteína de 0,0572779 mg/L para cada dia transcorrido.

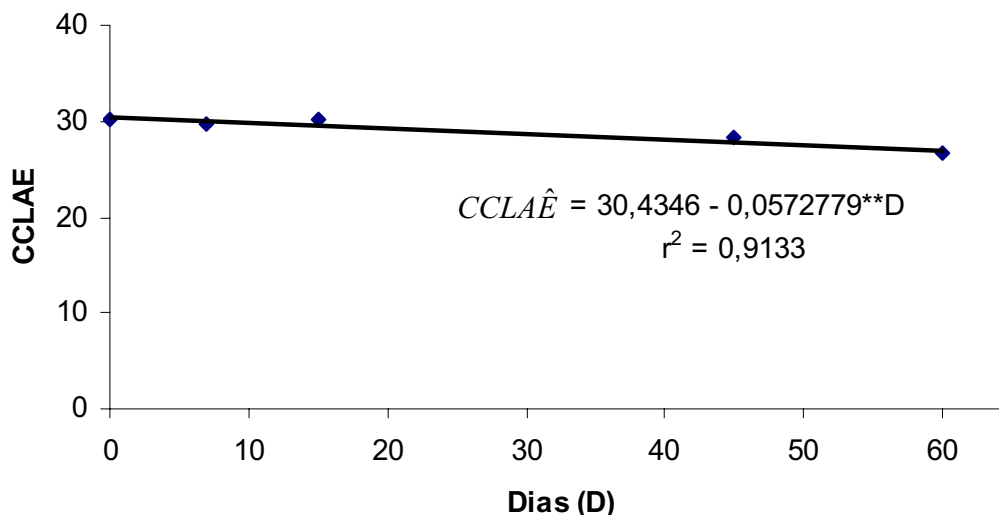


Figura 7 - Estimativa da concentração de luteína (mg/L) presente no leite fermentado, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE), em função dos dias de armazenamento do produto (D).

O comportamento apresentado para a concentração de luteína presente no leite fermentado, determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE), em função do período de armazenamento do produto foi semelhante ao da concentração de luteína determinada por espectrofotometria (CVIS) (Figura 4), ou seja, houve efeito ($p < 0,05$) do tempo de estocagem do produto, observando-se redução da concentração do composto bioativo com o aumento dos dias de armazenamento. Entretanto, a redução no teor de luteína em função do tempo de estocagem não necessariamente significa que houve degradação desse composto bioativo e que conseqüentemente haverá redução da sua atividade antioxidante no organismo. Deve-se considerar que parte da luteína adicionada pode ter se associado a proteínas do leite fermentado ao longo do tempo, não sendo possível quantificá-la; contudo, no organismo essas ligações podem ser rompidas e a luteína liberada para proporcionar os efeitos benéficos à saúde do consumidor.

Resultados similares de redução do conteúdo de luteína foram obtidos por Weber (1987) em grãos de milho inteiros da variedade H51, quando armazenados por um período de 210 dias; por Chen et al. (1996), para suco de cenoura pasteurizado, armazenado em temperaturas de 4 °C, 25 °C e 35 °C, durante o período de 90 dias; e por Lin e Chen (2005), para suco de tomate armazenado em temperaturas de 4 °C, 25 °C e 35 °C, durante 84 dias, na ausência e presença de luz. Esses autores observaram também diminuição da concentração de luteína em função do aumento da temperatura de estocagem e verificaram maior redução do seu conteúdo quando o produto foi estocado na presença de luz. A suscetibilidade ou resistência dos carotenoides à degradação durante a estocagem do alimento depende de fatores como a estrutura do carotenoide, a natureza da matriz em que ele está presente, a disponibilidade de oxigênio, o teor de umidade ou atividade de água, luz, temperatura, antioxidantes, pró-oxidantes, ácidos graxos, sulfitos e cloreto de sódio no alimento (RODRIGUEZ-AMAYA, 1997).

3.4. Correlação entre as concentrações de luteína determinadas por espectrofotometria (CVIS) e por cromatografia líquida de alta eficiência (CCLAE)

Com base nos dados obtidos nos itens 3.2 e 3.3, pode-se dizer que as duas técnicas de quantificação de luteína utilizadas, apesar de apresentarem valores absolutos distintos, mostram de forma semelhante as variações que ocorreram com a luteína ao longo do período de armazenamento. A estimativa do coeficiente de correlação entre as variáveis CVIS e CCLAE é positiva ($r=0,5122$) e significativa ($p<0,01$).

4. CONCLUSÃO

O período de armazenamento do produto afetou significativamente a concentração de luteína extraída do leite de cabra fermentado, determinada tanto por espectrofotometria quanto por cromatografia líquida de alta eficiência, com correlação positiva entre as duas técnicas utilizadas.

A metodologia desenvolvida para extração e quantificação da luteína em pó adicionada ao leite fermentado foi eficiente, com uma taxa de recuperação de 94%.

5. REFERÊNCIAS

ALEMAN, T. S.; DUNCAN, J. L.; BIEBER, M. L.; et al. Macular pigment and lutein supplementation in Retinitis Pigmentosa and Usher Syndrome. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 42, n. 8, p. 1873-1881, 2001.

AMBRÓSIO, C. L. B.; CAMPOS, F. A. C. S.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Rev. Nutr.** Campinas, v. 19, n. 2, p. 233-243, 2006.

APOSTOLIDIS, E.; KWON, Y. I.; SHETTY, K. Potential of select yogurts for diabetes and hypertension management. **J. Food Biochem.**, v. 30, p. 699-717, 2006.

BONE, R. A. et al. Lutein and zeaxanthin in the eyes, serum and diet of human subjects. **Exp. Eye Res.**, v. 71, p. 239-245, 2000.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wissensch. Technol.**, v. 1, n. 28, p. 25-30, 1995.

BRITTON, G. Structure and properties of Carotenoids in relation to function. **FASEB J**, v. 9, p. 1551-1558, 1995.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sci.**, n. 74, p. 2157-2184, 2004.

CAULCUTT, R.; BODDY, R. **Statistics for Analytical Chemists**. London: Chapman & Hall, 1994.

CHEN, H. E.; PENG, H. Y.; CHEN, B. H. Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. **Food Chem.**, v. 57, n. 4, p. 497-503, 1996.

CISNEROS, M. et al. Recovery in aqueous two-phase systems of lutein produced by the green microalga *Chlorella protothecoide*. **J. Chromatogr. B.**, [s. n.], [s. p.], 2004.

COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, M. Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. **Food Res. Int.**, v. 38, p. 893-897, 2005.

DELCOURT, C.; CARRIÈRE, I.; DELAGE, M.; BARBERGER-GATEAU, P.; SCHALCH, W.; POLA STUDY GROUP. Plasma Lutein and Zeaxanthin and Other Carotenoids as Modifiable Risk Factors for Age-Related Maculopathy and Cataract: The POLA Study. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 47, n. 6, 2006.

DWYER, J. H.; NAVAB, M.; DWYER, K. M. ; et al. Oxygenated carotenoid lutein and progression of early atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. **Circulation**, v. 103, p. 2922-2927, 2001.

GILL, B. D.; INDYK, H. E. Liquid chromatographic method for the determination of lutein in milk and pediatric formulas. **Int. Dairy J.**, v. 18, p. 894-898, 2008.

HAMMOND, B. R.; JOHNSON, E. J.; RUSSEL, R. M. et al. Dietary modification of human macular pigment density. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, p. 1795-1801, 1997.

HART, D. J.; SCOTT, K. J. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. **Food Chemistry**, v. 54, p. 101-111, 1995.

HOLICK, C. N.; MICHAUD, D. S.; STOLZENBERG-SOLOMON, R.; et al. Dietary carotenoids, serum beta-carotene, and retinol and risk of lung cancer in the Alpha-Tocopherol, Beta-Carotene cohort study. **Am. J. Epidemiol.**, v. 156, p. 536-547, 2002.

KRINSKY, N. I.; LANDRUM, J. T.; BONE, R. A. Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 23, p. 171-201, 2003.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Editora Átomo, 1996.

LIN, C. H.; CHEN, B. H. Stability of carotenoids in tomato juice during storage. **Food Chem.**, v. 90, p. 837-846, 2005.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. **J. Food Comp. Anal.**, v. 20, p. 638-649, 2007.

NACHTIGALL, A. M. **Extração, Saponificação e Atividade Antioxidante de Luteína Obtida de Flores de *Tagetes patula* L. e *Calendula officinalis* L.** Viçosa, MG. 2007. 115 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, 2007.

NUNES, I. L.; MERCADANTE, A. Z. Utilização de colunas de fase reversa C18 e C30 para separação de carotenóides por CLAE. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 19, 2004, Recife. **Anais...** Recife, 2004. CD-Rom.

OLLILAINEN, V.; HEINONEN, M.; LINKOLA, E.; VARO, P.; KOIVISTOINEN, P. Carotenoids and Retinoids in Finnish Foods: Dairy Products and Eggs. **J. Dairy Sci.**, v. 72, p. 2257-2265, 1989.

PALOMBO, P.; FABRIZI, G.; RUOCCO, V.; RUOCCO, E.; FLUHR, J.; ROBERTS, R.; MORGANTI, P. Beneficial Long-Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutein and Zeaxanthin on Human Skin: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. **Skin Pharmacol. Physiol.**, v. 20, p. 199-210, 2007.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods.** Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 2001, 64p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Carotenoids and Food Preparation: The Retention of Provitamin A Carotenoids in Prepared, Processed, and Stored Foods.** USA: OMNI - USAID, 1997, 92 p.

SAEG – Sistema para Análises Estatísticas, versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SCHOEFS, B. Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 13, p. 361-371, 2002.

SEDDON, J. M., Ajani U. A., et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Group. **JAMA**, v. 272, n. 18, p. 1413-20, 1994.

SHAO, A.; HATHCOCK, J. N. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v. 45, p. 289-298, 2006.

WEBER, E. J. Carotenoids and Tocols of Corn Grain Determined by HPLC. **JAOCs**, v. 64, n. 8, p. 1129-1134, 1987.

CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA LUTEÍNA ADICIONADA AO LEITE DE CABRA FERMENTADO

RESUMO

Foram desenvolvidas duas formulações de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, com adição de prebiótico e probiótico, em três repetições. Em uma delas foi adicionado 0,032 mg/mL de luteína (FCL). Foi avaliada a atividade antioxidante do leite fermentado sem adição de luteína (FSB) e com adição de luteína (FCL) e da luteína obtida do produto comercial em pó (LPC), em função do tempo de reação com o cátion radical ABTS e dos dias de armazenamento do produto. Assim, a estabilidade da luteína foi avaliada em termos da atividade antioxidante, da cor e do pH do leite de cabra fermentado. Com relação à atividade antioxidante, de acordo com a técnica da Metodologia da Superfície de Resposta e o critério de Stepwise para seleção de variável, verificou-se que, para todas as amostras (FCL, LPC e FSB), tanto a porcentagem de inibição (PI) quanto a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) somente são influenciadas pelo tempo de reação em minutos (M), sendo possível definir modelos matemáticos que descrevem o comportamento dessas variáveis. Portanto, pode-se dizer que, quanto maior o tempo de análise (minutos), mais cátion radical ABTS haverá no meio para reagir com a luteína; logo, maior será a atividade antioxidante desta. Ao se realizar a análise de regressão para avaliar o pH e os parâmetros de cor L^* , a^* , b^* , c^* e h^* do leite fermentado com adição de luteína, constatou-se que não houve efeito significativo ($p > 0,05$) do período de armazenamento do produto. Logo, para qualquer que seja o tempo de armazenamento do produto (dias), os valores de L^* , a^* , b^* , c^* , h^* e pH se mantêm constantes. Os resultados permitem concluir que não houve variação da atividade antioxidante da luteína, da cor e do pH do produto em função do período de armazenamento do leite de cabra fermentado, o que faz

da luteína um composto bioativo de grande interesse como suplementação da dieta humana, principalmente em produtos lácteos fermentados.

Palavras-chave: leite fermentado, luteína, estabilidade.

1. INTRODUÇÃO

A luteína é um carotenoide, pertencente à família das xantofilas, que possui propriedades antioxidantes que protegem as células e o organismo dos danos foto-oxidativos. A luteína interfere na formação dos radicais livres e sequestra moléculas de oxigênio singlete, que são muito reativas (STAHL; SIES, 2003; KRINSKY; JOHNSON, 2005). Como a mácula é bastante suscetível aos danos provocados pelo estresse oxidativo, a luteína pode atuar como antioxidante sobre os tecidos oculares, retardando ou diminuindo o risco do desenvolvimento de degeneração macular (SANGIOVANNI et al., 2007; BERNSTEIN, 2002; RICHER et al., 2004) e catarata (OMEDILLA et al., 2003).

Estudos mostram que a suplementação com alimentos ricos em luteína tem a capacidade de aumentar a concentração e a densidade do pigmento macular (HAMMOND et al., 1997).

A luteína possui um sistema de duplas conjugadas que são responsáveis por suas funções biológicas. Entretanto, sua estrutura química é suscetível à isomerização, sobretudo na presença de luz, calor e ácido (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Vários métodos *in vitro* são utilizados para avaliar a atividade antioxidante de compostos bioativos específicos, bem como a atividade antioxidante de alimentos como um todo. Uma das técnicas mais utilizadas é a do cátion radical ABTS, que consiste em determinar a redução da absorvância deste radical (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) espectrofotometricamente, por descoloração na presença de substâncias antioxidantes com absorção na região do visível (MILLER et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tempo de armazenamento na atividade antioxidante, na cor e no pH do leite de cabra fermentado com adição de luteína.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras avaliadas

Foram desenvolvidas duas formulações de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, com adição de prebiótico e probiótico, em três repetições. No entanto, em uma delas foi adicionado 0,032 mg/mL de luteína (FCL). O leite fermentado sem adição do composto bioativo (FSB) foi produzido para eliminar a interferência de possíveis substâncias bioativas presentes na matriz do produto, durante a análise da atividade antioxidante.

Foi avaliada ainda a atividade antioxidante da luteína obtida do produto comercial (5%) (LPC), para efeito de comparação.

2.2. Avaliação da Estabilidade das Formulações

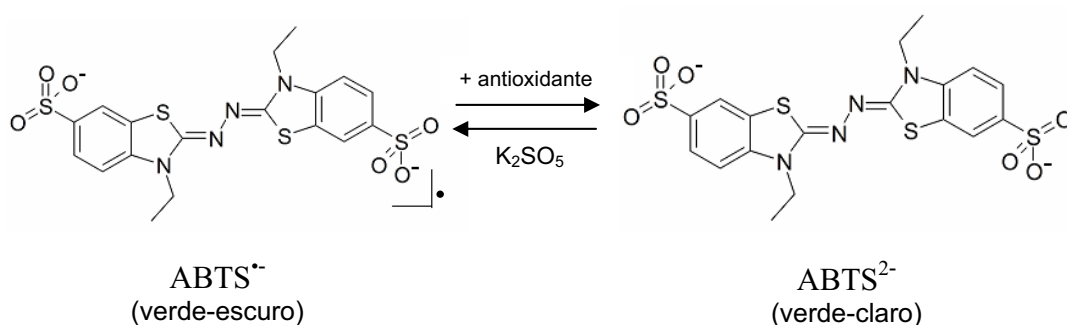
A avaliação da estabilidade da luteína adicionada ao leite fermentado foi feita em função de análises de cor, pH e avaliação da atividade antioxidante nos tempos de 0, 7, 15, 30, 45 e 60 dias. As formulações do leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose foram armazenadas à temperatura de refrigeração (5 °C) durante esse período.

2.2.1. Avaliação da atividade antioxidante

Após a realização do processo de extração, conforme metodologia descrita no item 2.3 do capítulo 1, as amostras foram ressuspendidas em

5 mL de etanol absoluto 99,9% de pureza (Merck) e submetidas à análise da atividade antioxidante.

A avaliação da atividade antioxidante da luteína foi realizada empregando a técnica do cátion radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico)), segundo metodologia descrita por Cai et al. (2004), com modificações, utilizando um espectrofotômetro UV-Visível 1601PC da marca Shimadzu. O cátion radical ABTS^{•+} foi gerado por meio da reação de ABTS 7,0 mM com persulfato de potássio 2,45 mM na proporção 1:1 (v/v), na ausência de luz, após 15 minutos em banho-maria a 50 °C (Figura 1). Após esse período, a solução do radical ABTS^{•+} obtida foi diluída em etanol absoluto até atingir absorvância de 0,700 ± 0,050 em comprimento de onda de 734 nm.



Fonte: Rufino et al. (2007).

Figura 1 - Estabilização do radical ABTS^{•+} por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.

Posteriormente, 0,5 mL da amostra de luteína foi misturada com 3,5 mL da solução do radical ABTS^{•+} diluída. As leituras de absorvância foram feitas em 734 nm imediatamente após a mistura (tempo 0) e nos tempos de 20, 40 e 60 minutos. Durante esse período, as amostras foram mantidas sob aquecimento (50 °C) em banho-maria. O controle e o branco foram preparados substituindo 0,5 mL da amostra de luteína por 0,5 mL de etanol absoluto e por 0,5 mL da amostra de iogurte sem adição de compostos bioativos, respectivamente. O Trolox foi utilizado como padrão de referência. Uma curva de calibração foi preparada para concentrações de Trolox variando de 0 a 0,135 mM.

Os resultados foram expressos como capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), correlacionando a redução da absorvância na curva de dose-resposta com o antioxidante-padrão (Trolox), e em porcentagem de inibição (%I), segundo equação descrita a seguir:

$$\%I = (A_b - A_a) / A_b \times 100$$

em que:

A_b = absorvância do branco no tempo t minutos de repouso no escuro; e

A_a = absorvância da amostra no tempo t minutos de repouso no escuro.

2.2.2. Avaliação de cor e pH

As análises de cor foram realizadas em colorímetro ColorQuest XE HunterLab, utilizando-se o iluminante-padrão D65 e observador a 10° (Sistema CIELAB), a fim de obter para cada amostra leituras de reflectância na forma de coordenadas L^* (luminosidade do preto (0) ao branco (100)), a^* (-a verde (-60), +a vermelho (+60)) e b^* (-b azul (-60), +b amarelo (+60)). Foi calculada a tonalidade cromática ($h^* = \text{arc tang } (b^*/a^*)$) e croma ou índice de saturação ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$).

O pH das amostras foi obtido pelo método eletroanalítico, com a utilização de um medidor de pH da marca Digimex, calibrado com soluções-tampão de pH 4,0 e 7,0. O bulbo do eletrodo de medição foi mergulhado em 50 mL da amostra, e a leitura do pH, obtida após estabilização.

As análises foram realizadas em três repetições e triplicata.

2.3. Análise Estatística

Para as variáveis PI e TEAC, o experimento foi conduzido segundo um esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os dias (0, 7, 15, 30,

45 e 60) e nas subparcelas os minutos de avaliação, no delineamento em blocos casualizados (DBC), com três repetições (formulações).

Quanto às variáveis pH e cor (L^* , a^* , b^* , c^* e h^*), utilizou-se o delineamento em blocos casualizados (DBC), com três repetições (formulações), com avaliação somente em função dos dias (0, 7, 15, 30, 45 e 60).

Os dados foram analisados por meio da análise de variância e de regressão. Os modelos foram escolhidos com base na significância dos coeficientes de regressão, utilizando-se o teste de Student ("t"), até 10% de probabilidade; no coeficiente de determinação ($R^2 = S.Q.Regressão/S.Q.Tratamento$); e no fenômeno biológico.

A técnica de correlação de Pearson foi usada para verificar a existência de associação entre a concentração de luteína, determinada por espectrofotometria no visível, em comprimento de onda de 445 nm, conforme observado no item 3.2 do capítulo 1, e sua atividade antioxidante. As análises foram realizadas com auxílio do software SAEG, versão 9.1, desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa (SAEG, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Determinação da atividade antioxidante em função do tempo de reação com o cátion radical ABTS e do período de armazenamento do produto

A Figura 2 descreve a redução da absorvância do cátion radical ABTS a 734 nm em função do tempo de reação (minutos), após a adição das amostras de luteína à solução do radical ABTS. Observa-se que as amostras de luteína extraídas do produto comercial (5%) (LPC) e do leite fermentado (FCL) provocaram alto grau de descoloração do radical ABTS imediatamente após a mistura, identificado como tempo zero, quando comparado ao controle (etanol + radical ABTS). Decorrido esse período, a absorvância continuou a

decrecer, tendendo ao estado estacionário após o tempo de 40 minutos. A amostra extraída do leite fermentado sem compostos bioativos (FSB) praticamente não provocou a descoloração do radical ABTS no tempo zero; entretanto, ao longo do tempo de reação (minutos) também se observou uma pequena redução na absorvância. Esses resultados sugerem que a luteína extraída do produto comercial (5%) (LPC) apresenta maior atividade antioxidante que aquela extraída do leite fermentado (FCL), e estas, por sua vez, possuem maior capacidade antioxidante que a amostra extraída do leite fermentado sem adição do composto bioativo (FSB).

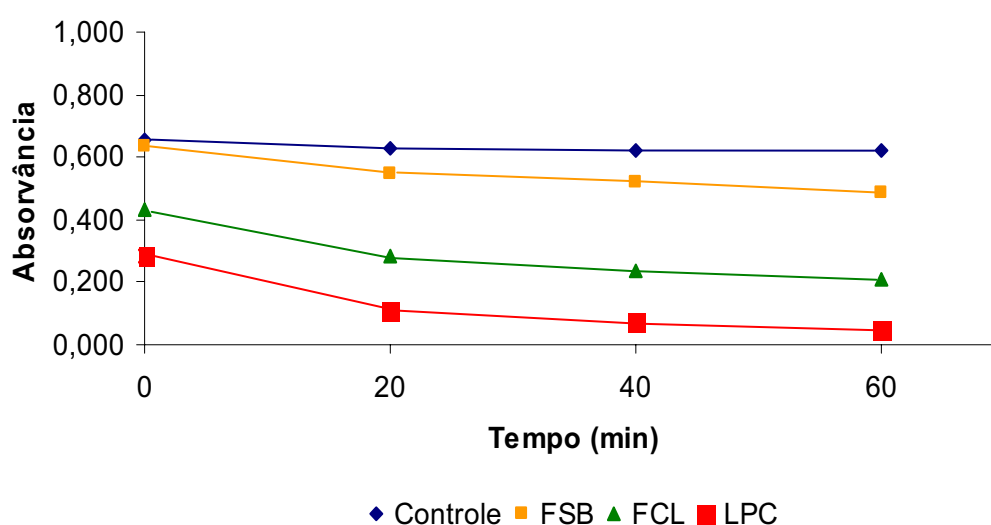


Figura 2 - Leituras da absorvância resultante da reação do cátion radical ABTS com o etanol absoluto (controle), com as amostras extraídas do leite fermentado sem compostos bioativos (FSB), do leite fermentado com adição de luteína (FCL) e do produto comercial de luteína (LPC).

Uma curva de calibração para o Trolox foi realizada para cada dia de análise e para cada tempo de reação (minutos), com concentrações variando de 0,010 a 0,135 mM, na presença do cátion radical ABTS. Um exemplo de uma das curvas-padrão obtidas para o Trolox é apresentado na Figura 3.

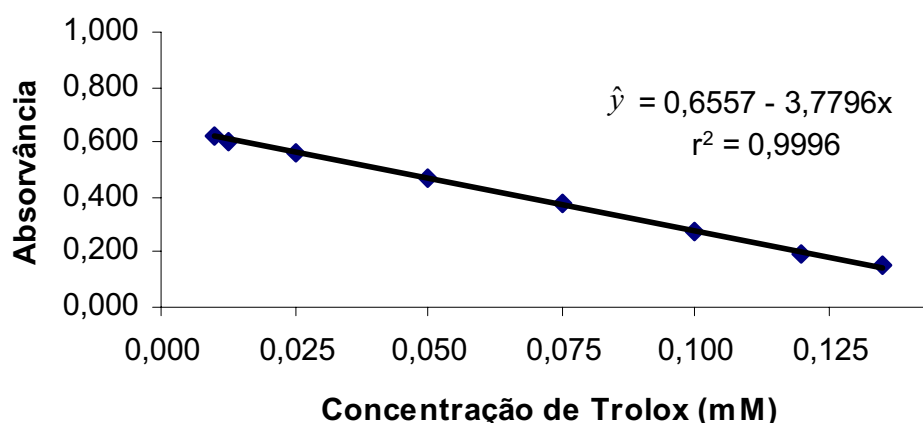


Figura 3 - Curva de calibração do Trolox na presença do cátion radical ABTS.

As médias dos valores de porcentagem de inibição (PI) e da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) são apresentadas nas Tabelas 1 e 2, para a luteína presente no leite fermentado (FCL); nas Tabelas 3 e 4, para a luteína do produto comercial (5%) (LPC); e nas Tabelas 5 e 6, para a amostra extraída do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), respectivamente. Esses valores foram provenientes de nove observações para cada tempo de reação (minutos).

Verifica-se nas Tabelas 1, 3 e 5 que os valores da porcentagem de inibição (PI) variaram ao longo do tempo de reação (minutos) e dos dias de armazenamento do produto, pelo método ABTS, de aproximadamente 30% a 60%, para as amostras de luteína extraídas do leite fermentado com adição de luteína (FCL); de 46% a 88%, para as amostras de luteína extraídas do produto comercial (LPC); e de 2% a 20%, para as amostras extraídas do leite fermentado sem compostos bioativos (FSB). Para os valores expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) apresentados nas Tabelas 2, 4 e 6, observa-se uma variação em função dos dias de armazenamento e do tempo de reação (minutos) de 0,067 mM a 0,1366 mM, para as amostras obtidas do leite fermentado com adição de luteína (FCL); de 0,0901 mM a 0,1722 mM, para as amostras obtidas do produto comercial de luteína (5%) (LPC); e de 0,0092 mM a 0,0429 mM, para as amostras obtidas do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB).

Zulueta et al. (2009), utilizando a técnica do cátion radical ABTS, gerado com persulfato de potássio, encontraram valor de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) para a luteína fornecida pela Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), solubilizada em etanol, de 1,2864 mM para uma concentração de 0,032 mg/mL. O resultado obtido pelos autores foi muito superior ao determinado no presente trabalho (de 0,0901 mM a 0,1722 mM, dependendo do tempo de reação definido), o que pode ser devido à diferença entre as concentrações e volume dos reagentes utilizados na geração do cátion radical ABTS e ao tempo de reação ao qual foram submetidos (12-16 h); e à diferença no volume de amostra antioxidante e do radical ABTS gerado quando misturados para obtenção da leitura espectrofotométrica. A diferença na origem das luteínas utilizadas, já que a usada neste trabalho foi fornecida pela DSM Nutritional Products (Suíça), também pode ter provocado divergências nos resultados. Dessa forma, não é possível comparar os resultados de atividade antioxidante expressos em TEAC se a metodologia utilizada não for exatamente a mesma.

Pellegrini et al. (2003) determinaram a atividade antioxidante de várias frutas e vegetais pelo método do cátion radical ABTS gerado por persulfato de potássio, nas mesmas concentrações utilizadas no presente trabalho; entretanto, o método diferiu no tempo e temperatura de incubação para geração do radical ABTS (12-16 h à temperatura ambiente). Pellegrini et al. (2003) encontraram valores de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) de 0,0085 mM/g para espinafre, 0,0030 mM/g para brócolis, 0,0023 mM/g para kiwi e 0,00874 mM/g para laranja.

Tabela 1 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	35,64	54,06	59,70	62,49
7	34,72	56,10	61,69	64,25
15	38,06	58,77	65,27	69,12
30	34,19	53,14	58,97	61,77
45	32,10	53,07	58,11	60,92
60	30,37	49,97	55,59	58,75

Tabela 2 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox –TEAC (mM) da luteína presente no leite fermentado (FCL) ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	0,0741	0,1060	0,1166	0,1230
7	0,0691	0,1083	0,1148	0,1228
15	0,0784	0,1168	0,1273	0,1325
30	0,0706	0,1053	0,1168	0,1228
45	0,0782	0,1147	0,1219	0,1207
60	0,0670	0,1041	0,1131	0,1366

Tabela 3 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	50,58	74,30	81,27	85,36
7	53,37	77,88	84,51	85,96
15	46,73	69,56	77,36	81,96
30	49,63	74,70	82,71	86,16
45	53,95	79,31	86,16	88,35
60	46,58	72,25	80,20	84,58

Tabela 4 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox – TEAC (mM) da luteína presente na amostra comercial (LPC), ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	0,0975	0,1147	0,1445	0,1522
7	0,0999	0,1424	0,1482	0,1552
15	0,0901	0,1275	0,1401	0,1465
30	0,0949	0,1368	0,1511	0,1569
45	0,1161	0,1575	0,1666	0,1672
60	0,0929	0,1321	0,1445	0,1723

Tabela 5 - Valores médios de porcentagem de inibição (PI) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	3,14	12,18	14,23	17,32
7	3,31	9,49	12,01	14,66
15	4,42	10,77	13,67	15,85
30	6,08	11,38	15,19	17,77
45	3,76	13,92	17,30	19,86
60	2,67	12,17	15,15	18,80

Tabela 6 - Valores médios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox – TEAC (mM) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) ao longo do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

D	M=0	M=20	M=40	M=60
0	0,0105	0,0197	0,0232	0,0265
7	0,0097	0,0151	0,0183	0,0201
15	0,0105	0,0216	0,0246	0,0267
30	0,0102	0,0159	0,0233	0,0259
45	0,0202	0,0309	0,0331	0,0325
60	0,0092	0,0220	0,0253	0,0429

Nas Tabelas 7, 8 e 9 encontra-se o resumo da ANOVA das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) para a luteína presente no leite fermentado (FCL), para a luteína do produto comercial (5%) (LPC) e para o leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), respectivamente.

Verifica-se que, em todas as amostras avaliadas, tanto para PI como para TEAC só houve efeito significativo ($p < 0,01$) do tempo de reação em minutos (M). Isso significa que, para a luteína presente no leite fermentado (FCL) e para a luteína do produto comercial (LPC), quanto maior o tempo de análise (minutos), mais cátion radical ABTS haverá no meio para reagir com a luteína; logo, maior será a atividade antioxidante desta. Contudo, não se observa diferença significativa em função dos dias (D), ou seja, a atividade antioxidante da luteína presente no leite fermentado (FCL) não se altera ao longo do período de armazenamento do produto. No caso do leite fermentado

sem adição de compostos bioativos (FSB), que passou pelo mesmo processo de extração que aquele admitido para as amostras de luteína, pode-se dizer que existem substâncias bioativas possivelmente formadas pelo processo de fermentação, como, por exemplo, os ácidos orgânicos, que expressam alguma atividade antioxidante ao longo do tempo (minutos) de exposição ao cátion radical ABTS.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

FV	GL	Quadrados Médios	
		PI	TEAC
Blocos	2	235,06	0,00041
Dias (D)	5	114,65 ^{ns}	0,00018 ^{ns}
Resíduo (a)	10	69,61	0,00061
Minutos (M)	3	3003,45 ^{**}	0,01004 ^{**}
D x M	15	1,60 ^{ns}	0,00006 ^{ns}
Resíduo (b)	36	3,81	0,00005
CV (%) parcela		15,81	23,07
CV (%) subparcela		3,70	6,83

** F significativo a 1%.

^{ns} F não significativo a 5%.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente na amostra comercial (LPC), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

FV	GL	Quadrados Médios	
		PI	TEAC
Blocos	2	335,25	0,00416
Dias (D)	5	106,01 ^{ns}	0,00106 ^{ns}
Resíduo (a)	10	203,40	0,00190
Minutos (M)	3	4501,22 ^{**}	0,01201 ^{**}
D x M	15	1,76 ^{ns}	0,00010
Resíduo (b)	36	5,25	0,00010
CV (%) parcela		19,46	32,10
CV (%) subparcela		3,13	6,89

** F significativo a 1%.

^{ns} F não significativo a 5%.

Tabela 9 - Resumo da análise de variância das variáveis porcentagem de inibição (PI) e capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) do leite fermentado natural (FSB), em função do tempo de armazenamento em dias (D) e do tempo de reação em minutos (M)

FV	GL	Quadrados Médios	
		PI	TEAC
Blocos	2	95,11	0,00159
Dias (D)	5	19,37 ^{ns}	0,00027 ^{ns}
Resíduo (a)	10	19,41	0,00032
Minutos (M)	3	616,49 ^{**}	0,000997 ^{**}
D x M	15	3,02 ^{ns}	0,00004 ^{ns}
Resíduo (b)	36	2,87	0,00003
CV (%) parcela		36,44	81,88
CV (%) subparcela		14,01	24,27

** F significativo a 1%.

^{ns} F não significativo a 5%.

Como os fatores envolvidos na análise em estudo são quantitativos, utilizou-se a técnica da Metodologia da Superfície de Resposta e o critério de Stepwise para seleção de variável. De acordo com essa técnica, verificou-se também que, para todas as amostras (FCL, LPC e FSB), tanto PI como TEAC somente são influenciados pelo tempo de reação em minutos (M). Os modelos que descrevem o comportamento dessas variáveis, com os respectivos coeficientes de determinação (R^2) para cada uma das amostras, são apresentados na Tabela 10 e nas Figuras de 4 a 9.

Tabela 10 - Equações de regressão ajustadas das variáveis PI e TEAC em função do tempo de reação em minutos (M) para as amostras de leite fermentado com adição de luteína (FCL) e de luteína do produto comercial (LPC) e de leite fermentado sem adição de composto bioativo (FSB), bem como os respectivos coeficientes de determinação

Modelos	R^2
$FCLPI\hat{=} 34,1721+5,5486^{**}\sqrt{M} - 0,236978^*M$	0,9999
$FCLTEAC\hat{=} 0,0729949+0,00950167^*\sqrt{M} - 0,000343373^{***}M$	0,9992
$LPCPI\hat{=} 50,1154+6,85191^*\sqrt{M} - 0,293972^*M$	0,9998
$LPCTEAC\hat{=} 0,0985443+0,00889930^{**}\sqrt{M} - 0,000149389^{***}M$	0,9999
$FSBPI\hat{=} 5,37212+0,216940^*M$	0,9284
$FSBTEAC\hat{=} 0,0131887+0,000279879^*M$	0,9560

*** Significativo a 10% de probabilidade pelo teste t.

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

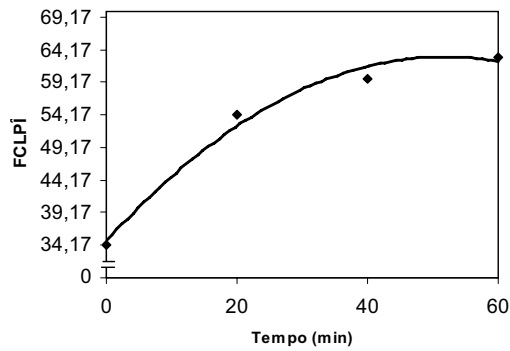


Figura 4 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de reação (min).

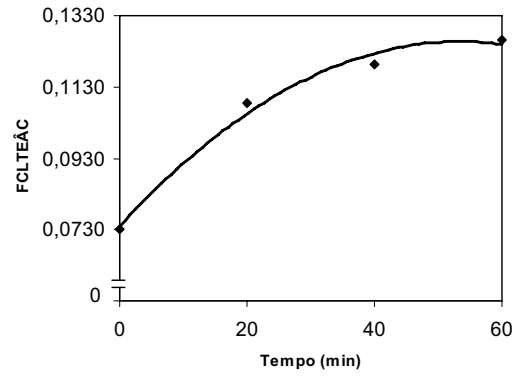


Figura 5 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente no leite fermentado (FCL), em função do tempo de reação (min).

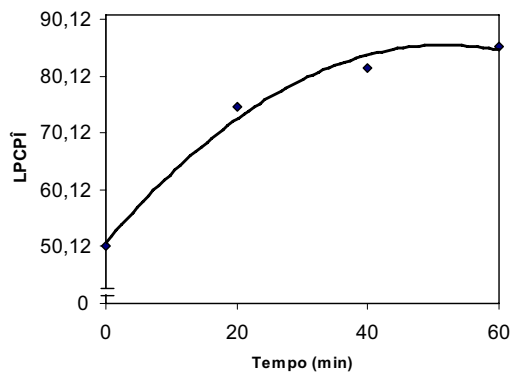


Figura 6 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) da luteína presente no produto comercial (LPC), em função do tempo de reação (min).

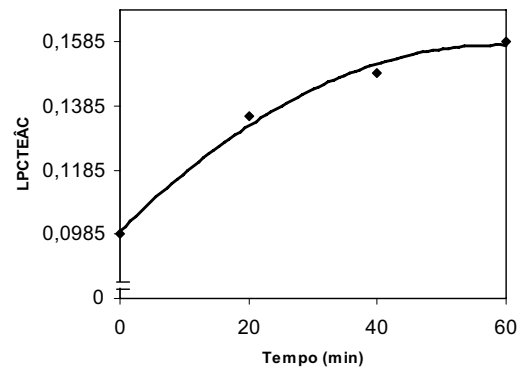


Figura 7 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) da luteína presente no produto comercial (LPC), em função do tempo de reação (min).

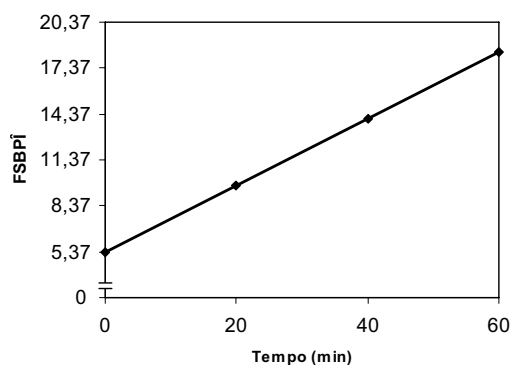


Figura 8 - Estimativa da porcentagem de inibição (PI) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de reação (min).

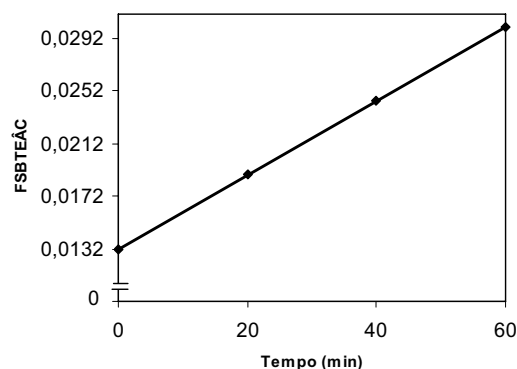


Figura 9 - Estimativa da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) do leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), em função do tempo de reação (min).

Nas Figuras 4, 5, 6 e 7, pode-se observar que a porcentagem de inibição (PI) e a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) possuem comportamentos semelhantes, ou seja, apresentam crescimento acentuado no período inicial de contato com o cátion radical ABTS, uma vez que nessa fase a reação é mais intensa; em seguida, continuam a aumentar, já que ainda existe cátion ABTS no meio reacional, porém em menores proporções; e provavelmente tenderão a se estabilizar até atingir o ponto em que todo o radical ABTS foi consumido pela luteína, alcançando assim o máximo valor de porcentagem de inibição.

Nas Figuras 8 e 9, observa-se que há aumento linear das variáveis PI e TEAC, o que evidencia a presença de outros compostos bioativos na matriz do leite fermentado, que possuem atividade antioxidante ao longo do tempo (minutos) de reação com o cátion radical ABTS. Esses compostos bioativos podem ser ácidos orgânicos oriundos do processo de fermentação ou mesmo a própria luteína natural do leite.

Deve-se ressaltar que a análise do leite fermentado sem adição de compostos bioativos foi realizada, uma vez que se considerava a possibilidade da existência de substâncias presentes na matriz do leite e de compostos gerados no processo de fermentação que pudessem proporcionar atividade antioxidante adicional ao produto.

3.2. Determinação do pH e da cor do produto durante o período de armazenamento (dias)

Com base no resumo da análise de variância para os parâmetros de cor e o pH do leite fermentado com adição de luteína apresentado na Tabela 11, verifica-se que para as coordenadas a* (intensidade de vermelho e verde), b* (intensidade de amarelo e azul), c* (índice de saturação) e h* (tonalidade cromática) existe efeito significativo ($p < 0,05$) dos dias de estocagem do produto, enquanto para a variável L* (luminosidade) e para o pH não há nenhum efeito significativo do tempo de armazenamento (dias).

Tabela 11 - Resumo da análise de variância para os parâmetros de cor e para o pH do leite fermentado com adição de luteína, em função do período de armazenamento em dias (D)

FV	GL	Quadrados Médios					
		L*	a*	b*	c*	h*	pH
Blocos	2	10,2218	6,8116	70,9336	75,5271	0,0012	0,1255
Dias (D)	5	1,5553 ^{ns}	0,04121**	3,1885**	3,2109**	0,0001*	0,0010 ^{ns}
Resíduo	46	0,8668	0,01429	0,5048	0,5132	0,000003	0,0004
CV (%)		1,19	1,67	1,65	1,64	0,13	0,46

** F significativo a 1%.

^{ns} F não significativo a 5%.

Ao se realizar a análise de regressão para avaliar o pH e os parâmetros de cor L*, a*, b*, c* e h* do leite fermentado com adição de luteína, verificou-se que não houve efeito significativo ($p > 0,05$) do período de armazenamento do produto. Assim, pode-se observar que, para qualquer que seja o tempo de armazenamento do produto (dias), a resposta para as respectivas variáveis é o valor médio que se encontra na Tabela 12.

Tabela 12 - Equações ajustadas para as variáveis L*, a*, b*, c*, h* e pH

	Equações Ajustadas
L*	$\hat{L} = 77,85$
a*	$\hat{A} = 7,17$
b*	$\hat{B} = 43,05$
c*	$\hat{C} = 43,61$
h*	$\hat{H} = 1,41$
pH	$p\hat{H} = 4,56$

Trabalho semelhante de avaliação da estabilidade da cor foi realizado por Rosso e Mercadante (2007) em bebidas isotônicas de acerola e açaí, no qual observaram uma gradual degradação da cor vermelha, decorrente da redução dos valores de a*, acompanhada da redução da intensidade da cor vermelha (redução dos valores de c*) e de mudanças na tonalidade da cor de vermelha para amarela, devido ao aumento dos valores de h*, durante o tempo de estocagem de 300 horas.

Aryana et al. (2006) observaram queda do pH do iogurte com luteína após cinco semanas de armazenamento. Ao contrário do observado no presente trabalho, esses autores constataram efeito significativo do tempo de estocagem para os valores de L*, a* e b*. A hipótese apontada por eles para o escurecimento do produto foi o aumento da proteólise na presença de proteínas no leite, principalmente caseínas, durante o período de estocagem.

O produto formulado com adição de luteína possui estabilidade muito superior àquela do iogurte desenvolvido por Aryana et al. (2006) e para as bebidas isotônicas desenvolvidas por Rosso e Mercadante (2007). O melhor comportamento provavelmente se deve à matriz na qual foi adicionada a luteína (o leite de cabra), à inulina e ao baixo teor de lactose do produto final.

3.3. Correlação entre concentração de luteína determinada por espectrofotometria e atividade antioxidante

As estimativas dos coeficientes de correlação entre as variáveis porcentagem de inibição (PI), capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) e concentração da luteína (VIS) são apresentadas na Tabela 13, para

a luteína presente no leite fermentado (FCL), e na Tabela 14, para a luteína presente no produto comercial (LPC). Verifica-se que as correlações mostradas nas Tabelas 13 e 14 são positivas entre as variáveis CVIS, PI e TEAC, o que indica que elas variam no mesmo sentido. Assim, se a concentração de luteína for aumentada, a PI e a TEAC também serão aumentadas, porém não na mesma proporção. Observa-se ainda que as variáveis TEAC, PI e CVIS da luteína presente no produto comercial (Tabela 14) possuem correlação superior à dessas mesmas variáveis provenientes da luteína presente no leite fermentado (Tabela 13). Esses resultados sugerem que a matriz do produto pode interferir de alguma maneira com a luteína, alterando a sua atividade antioxidante.

Tabela 13 - Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis porcentagem de inibição (PI), capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) no tempo de 40 minutos e concentração da luteína presente no leite fermentado (FCL) determinada por espectrofotometria (CVIS)

	TEAC	PI
PI	0,3239**	1,0000
CVIS	0,2826*	0,5461**

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 14 - Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as variáveis porcentagem de inibição (PI), capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) no tempo de 40 minutos e concentração da luteína presente no produto comercial (LPC) determinada por espectrofotometria (CVIS)

	TEAC	PI
PI	0,6198**	1,0000
CVIS	0,7129**	0,8177**

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

4. CONCLUSÃO

O período de armazenamento do leite de cabra fermentado não apresentou efeito ($p > 0,05$) na atividade antioxidante da luteína, na cor e no pH do produto.

A luteína adicionada ao leite fermentado apresentou valores de porcentagem de inibição relativamente elevados pelo teste *in vitro* durante todo o período de armazenamento do produto, o que mostra a existência do seu potencial antioxidante.

Observou-se correlação positiva entre a concentração de luteína presente no leite fermentado e sua atividade antioxidante, expressa em porcentagem de inibição e em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox.

5. REFERÊNCIAS

ARYANA, K. J.; BARNES, H. T.; EMMICK, T. K.; MCGREW, P.; MOSER, B. Lutein is stable in strawberry yogurt and does not affect its characteristics. **J. Food Sci.**, v. 71, n. 6, p. 467-472, 2006.

BERNSTEIN, P. S.; ZHAO, DA-Y; WINTCH, S. W. et al. Resonance raman measurement of macular carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients. **Ophthalmol.**, v. 109, n. 10, p. 1780-1787, 2002.

CAI, Y.; LUO, Q.; SUN, M.; CORKE, H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sci.**, n. 74, p. 2157-2184, 2004.

HAMMOND, B. R.; JOHNSON, E. J.; RUSSEL, R. M. et al. Dietary modification of human macular pigment density. Invest. **Ophthalmol. Vis. Sci.**, v. 38, p. 1795-1801, 1997.

KRINSKY, N. I., JOHNSON E. J. Carotenoid Actions and their Relation to Health and Disease. **Mol. Aspects Med.**, v. 26, n. 6, p. 459-516, 2005.

MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T. E RICE-EVANS, C. A. Evaluation of the Total Antioxidant Activity as a Marker of the Deterioration of Apple Juice on Storage. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 7, p. 1794-1801, 1995.

OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; BLANCO, I.; VAQUERO, M. Lutein, but not α -tocopherol, supplementation improves visual function in patients with age-related cataracts: a 2-y double-blind, placebo-controlled pilot study. **Nutr.**, v. 19, n. 1, p. 21-24, 2003.

PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; et al. Nutrient Requirements. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. **J. Nutr.**, v. 133, p. 2812-2819, 2003.

RICHER, S.; STILES, W.; STATKUTE, L. et al. Double-masked, placebo-controlled, randomized trial of lutein and antioxidant supplementation in the intervention of atrophic age-related macular degeneration: the Veterans LAST study (Lutein Antioxidant Supplementation Trial). **Optometry**, v. 75, n. 4, p. 216-229, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington DC: International Life Sciences Institute (ILSI) Press, 2001, 64 p.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. **Innov. Food Sci. Emerg. Technol.**, v. 8, p. 347-352, 2007.

RUFINO et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS•+. Comunicado Técnico Online 128, **Embrapa**, 2007.

SAEG – Sistema para Análises Estatísticas, versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANGIOVANNI, J. P.; CHEW, E. Y.; CLEMONS, T. E., et al. The Relationship of Dietary Carotenoid and Vitamin A, E, and C Intake With Age-Related Macular Degeneration in a Case-Control Study, Report N° 22, **Arch. Ophthalmol.**, v. 125, n. 9, p.1225-1232, 2007.

STAHL, W.; SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Mol. Aspects Med.**, v. 24, p. 345-351, 2003.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chem.**, v. 114, p. 310-316, 2009.

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO E ACEITABILIDADE SENSORIAL DE FORMULAÇÕES DE LEITE DE CABRA FERMENTADO

RESUMO

A busca por alimentos mais saudáveis e com benefícios à saúde tem se intensificado nos últimos anos, como resultado do aumento da expectativa de vida da população. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver formulações de leite fermentado com propriedades funcionais. Foram desenvolvidas quatro formulações de leite de cabra fermentado com baixo teor de lactose, com inulina e probiótico: uma formulação-base, sem adição de compostos bioativos; uma formulação com adição de resveratrol (0,12 mg/mL); e duas formulações com adição de luteína (0,032 mg/mL), sendo uma de consistência líquida e a outra de consistência gelatinosa. Foram realizadas análises físico-química, microbiológica e sensorial. Observou-se que a maioria dos parâmetros avaliados para o leite de cabra cru se encontrava dentro dos requisitos estabelecidos pela Instrução Normativa nº37/2000 (BRASIL, 2000) e que as quatro formulações de leite de cabra fermentado desenvolvidas atenderam aos requisitos estabelecidos pela Resolução nº5/2000. O teor de lactose menor que 0,5% em todos os leites de cabra fermentados permitiu a utilização do atributo “baixo teor de lactose” (BRASIL, 1998). A adição de 3% da inulina Beneo Synergy 1 aos leites de cabra fermentados formulados proporcionou ao produto, além do atributo “fonte de fibras” (BRASIL, 1998), características prebióticas. A contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 foi da ordem de 10^9 UFC/dia, após 30 dias de estocagem, o que caracteriza os produtos como probióticos. O teor de luteína (0,032 mg/mL) e resveratrol (0,12 mg/mL) adicionado ao leite fermentado pode conferir ao produto características antioxidantes. De acordo com a avaliação da aceitabilidade sensorial observou-se que todas as formulações desenvolvidas foram bem aceitas. Assim, foi possível

desenvolver produtos à base de leite de cabra com reduzido teor de lactose, simbiótico e adicionado de compostos antioxidantes, com ótima aceitação por parte da população acima de 50 anos, com potencial efeitos benéficos à saúde humana.

Palavras-chave: leite fermentado, compostos bioativos, análise sensorial.

1. INTRODUÇÃO

O leite de cabra é um alimento muito recomendado para pessoas idosas, doentes, convalescentes e crianças, por ser nutritivo, possuir alta capacidade tamponante, alta digestibilidade, devido ao reduzido tamanho de seus glóbulos de gordura, e por possuir características de hipoalergenicidade, devido ao reduzido teor da caseína α -s1, quando comparado ao leite de vaca (JENNESS, 1980; JARDIM, 1984; PARK, 1991; PEACOCK, 1996; HAENLEIN, 2004; LARA-VILLOSLADA et al., 2004).

O processo de fermentação pode provocar alterações na composição do leite, proporcionando características de aroma, sabor e textura específicas ao produto (BUTTRISS, 1997; OMAE et al., 2008). A redução do teor de lactose pelo processo de fermentação torna os leites fermentados alimentos de grande interesse para a população que possui intolerância à lactose (ALM, 1982). Entretanto, dependendo do grau dessa intolerância, torna-se necessário promover a hidrólise da lactose por outros métodos, além do processo de fermentação.

A adição de microrganismos probióticos, sobretudo dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, e de substâncias prebióticas, como a inulina, em produtos lácteos tem sido uma prática muito utilizada pelas indústrias de alimentos, a fim de obter produtos com propriedades funcionais. Os probióticos são microrganismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002); já os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que afetam o hospedeiro benéficamente, por estimularem

seletivamente o crescimento ou atividade de um limitado número de bactérias no cólon (GIBSON; ROBERFROID, 1995). Os alimentos que contêm pré e probióticos são considerados simbióticos (HOLZPFEL; SCHILLINGER, 2002) e podem proporcionar efeitos benéficos, como o equilíbrio ou o bom funcionamento da microbiota intestinal, a regulação do sistema imune intestinal e a resistência da barreira intestinal (BOCLÉ, 2005).

Estudos mostram os efeitos dos probióticos no alívio da intolerância à lactose, no efeito hipocolesterômico e na redução do risco de diarreia provocada por rotavírus e câncer de cólon; e os dos prebióticos, na absorção de minerais, no metabolismo de lipídeos e na redução do risco de doenças como osteoporose e aterosclerose (ROBERFROID, 2000). Para garantirem um efeito contínuo e serem de importância fisiológica ao consumidor, os probióticos devem ser ingeridos diariamente e alcançar populações acima de 10^6 a 10^7 UFC/g ou mL de produto (BLANCHETTE et al., 1996; JELEN; LUTZ, 1998).

O desenvolvimento de alimentos funcionais pode estar relacionado também com a incorporação de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, como a luteína e o resveratrol. A luteína é um carotenoide encontrado principalmente em vegetais folhosos de coloração verde-escura que, além da função de colorir os alimentos, possui ação de proteção do organismo contra os danos causados pelos radicais livres e capacidade de absorver a luz azul prejudicial à mácula (HOLDEN et al., 1999; STAHL; SIES, 2003). A luteína possui papel crítico na manutenção da função visual normal e seu consumo está inversamente relacionado ao risco de degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e catarata, principalmente (OMEDILLA et al., 2003; SANGIOVANNI et al., 2007). O resveratrol consiste em um polifenol, presente sobretudo na casca da uva (HAO; HE, 2004), cujo consumo está diretamente relacionado com a inibição da agregação plaquetária em humanos (WU et al., 2007), redução da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade – LDL (JEFREMOV et al., 2007) e redução do risco de câncer (JANG et al., 1997) e doenças cardiovasculares (RENAUD; LORGERIL, 1992).

No desenvolvimento de novos produtos, a análise sensorial é uma ferramenta muito utilizada para avaliar a opinião do público-alvo com relação

ao desempenho do produto. Entre os testes de análise sensorial, podem-se destacar os de aceitação, que são muito utilizados quando se deseja avaliar o grau em que o consumidor gosta ou desgosta do produto, buscando uma medida da sua disposição em consumir aquele produto. Pode-se avaliar a aceitação global ou aceitação de atributos específicos do produto (MINIM, 2006).

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar e avaliar a aceitabilidade das formulações de leite de cabra fermentado desenvolvidas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Formulações avaliadas

Foram desenvolvidas quatro formulações de leite de cabra fermentado, com teor de lactose reduzido por tratamento enzimático: uma formulação-base, sem adição de compostos bioativos (FSB); uma formulação com adição de 0,12 mg/mL de resveratrol (FCR); e duas formulações com adição de 0,032 mg/mL de luteína, porém uma possuía consistência líquida (FCL) e a outra, consistência gelatinosa (GCL). A luteína e o resveratrol foram fornecidos pela DSM Nutritional Products. Todas as formulações foram submetidas às análises físico-químicas e à análise sensorial. As formulações FSB, FCR e FCL foram também submetidas à análise microbiológica.

2.2. Desenvolvimento do Produto

As formulações foram desenvolvidas de maneira semelhante àquela apresentada no item 2.2 do capítulo 1; contudo, a formulação de leite fermentado com adição de luteína com consistência gelatinosa foi obtida mediante a adição de amido (*National Starch*) e gelatina (*Gelita*), e a definição da concentração de resveratrol a ser adicionada foi baseada em estudos

clínicos realizados pelo fornecedor, que demonstrava a segurança da ingestão de 30 mg de resveratrol (Resvida™) por dia.

Deve-se ressaltar a utilização do corante natural urucum+curcumina (*Chr. Hansen*) nas formulações de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) e com adição de resveratrol (FCR), a fim de se obter coloração semelhante àquela fornecida pela luteína.

As quatro formulações de leite de cabra fermentado foram produzidas em três repetições e armazenadas a 5 °C em embalagens plásticas de 185 mL, para posterior realização das análises físico-químicas, e em embalagens de 1L, para a análise sensorial.

2.3. Caracterização do Produto

2.3.1. Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas segundo Instrução Normativa nº 68/2006 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, que oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos (BRASIL, 2006). Para o leite de cabra, foram feitas análises de gordura, acidez, proteínas totais, lactose, sólidos não gordurosos, densidade a 15 °C, ponto de congelamento e cinzas, enquanto para o leite fermentado as análises realizadas foram de gordura, acidez, proteínas, lactose e extrato seco total.

A determinação da acidez titulável consistiu na titulação de 10 g de amostra dissolvida em 10 mL de água destilada por uma solução de NaOH 0,1N (*Merck*), utilizando como indicador a fenolftaleína, até o aparecimento da coloração rósea persistente. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido láctico.

O teor de gordura foi determinado segundo método butirométrico. Transferiram-se 10 mL de ácido sulfúrico (*Vetec*) em um butirômetro de Gerber; posteriormente, adicionaram-se 11 mL da amostra a ser analisada e acrescentou-se 1 mL de álcool isoamílico (*Vetec*). Após agitação, o

butirômetro foi submetido à centrifugação a 1.000-1.200 rpm por cinco minutos e transferido para banho-maria a 65 °C por cinco minutos. A leitura da porcentagem de gordura foi feita diretamente, na escala graduada do butirômetro.

A análise de proteína foi feita pelo método Kjeldahl. Cinco mL da amostra foram submetidos à digestão com 3,0 mL de ácido sulfúrico (*Vetec*), a quente, em presença de 1,5 g de sulfato de potássio (*Vetec*) e 0,1 g de sulfato de cobre (*Casa Americana de Artigos para Laboratório-CAAL*), que foram adicionados como catalisadores. A digestão promoveu o rompimento da estrutura proteica e a liberação do nitrogênio sob a forma de sais de amônio. O resíduo obtido foi destilado por arraste de vapor com 15 mL de hidróxido de sódio (*Merck*) 35% (m/v) e recolhido em um erlenmeyer contendo 10 mL de solução de ácido ortobórico 4% (m/v) (*Isofar*) e indicadores. O sal formado (metaborato de amônio) foi titulado com solução de ácido clorídrico 0,05 N (*Vetec*), até a mudança da coloração verde para a roxa. Os resultados foram expressos em teor percentual de proteína total.

A determinação do extrato seco total e desengordurado foi feita pelo método gravimétrico. Consistiu na perda da umidade de 5 g de amostra por dessecação a 102 ± 2 °C em estufa por três horas e pesagem do extrato seco total. A porcentagem de extrato seco desengordurado foi obtida pela diferença entre a porcentagem de extrato seco total e a porcentagem de gordura na amostra.

Para se determinar a densidade, transferiram-se 500 mL de leite para uma proveta e introduziu-se cuidadosamente um termolactodensímetro, girando-o para romper a tensão superficial. Após estabilização, foi feita a leitura de densidade na cúspide do menisco, corrigindo a leitura para a temperatura de 15 °C.

O ponto de congelamento do leite foi determinado em crioscópio eletrônico da marca CAPI, modelo KP-7000. As leituras foram obtidas na escala Hortvet (°H).

Para obtenção das cinzas, 5 g de leite foram pesados em cadinhos de porcelana e submetidos a aquecimento em estufa a 100 °C por três horas. Posteriormente, foram incinerados a 550 °C em mufla até completa carbonização. Após obtenção das cinzas esbranquiçadas, a mufla foi

desligada para que o resíduo mineral atingisse temperatura de aproximadamente 200 °C. Atingida esta temperatura, o cadinho foi colocado em dessecador para esfriar e, em seguida, pesado. O teor de cinzas foi calculado por diferença entre as massas inicial e final (após incineração), e o resultado foi expresso em porcentagem de cinzas (m/m) (PEREIRA et al., 2001).

A determinação do teor de lactose foi realizada pelo método enzimático para determinação de lactose e galactose em leite e produtos lácteos, segundo metodologia descrita por Wehr e Frank (2004). O método baseia-se na hidrólise da lactose em glicose e galactose na presença de β -galactosidase e água. A β -galactose é oxidada pelo NAD (Dinucleótido de Nicotinamida-Adenina) em ácido galactônico na presença de β -galactose desidrogenase, e o NADH formado, que é estequiometricamente proporcional ao conteúdo de lactose, é medido por leitura espectrofotométrica de absorvância a 340 nm. O resultado do teor de lactose é obtido pela diferença de densidade ótica (DO) do ensaio de determinação de lactose + galactose e do ensaio de determinação de galactose. Utilizou-se o kit Lactose/Galactose (Cat. nº. 014), da BioSentec (Toulouse, França), e o teste foi realizado conforme instruções do fabricante (Tabela 1).

Tabela 1 - Procedimentos para realização e cálculos para análise do teor de lactose dos leites fermentados

	Lactose		Galactose	
	Branco	Amostra	Branco	Amostra
Tampão pH 4,5	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL	0,2 mL
B-galactosidase 100U	0,05 mL	0,05 mL	0	0
Amostra	0	0,1 mL	0	0,1 mL
Agitar e esperar 20 min				
Tampão 8,6 e NAD 35 mg	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Água	2 mL	1,9 mL	2,05 mL	1,95 mL
Agitar e ler DO	DO ₁	DO ₁	DO ₁	DO ₁
GaIDH 40 U	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL	0,05 mL
Agitar, aguardar 30 min e ler DO	DO ₂	DO ₂	DO ₂	DO ₂
Cálculos:	<p>A partir dos dados da Galactose:</p> $\Delta DO_{\text{galactose}} = [DO_2 - DO_1]_{\text{amostra}} - [DO_2 - DO_1]_{\text{branco}}$ <p>A partir dos dados da Lactose:</p> $\Delta DO_{\text{lactose + galactose}} = [DO_2 - DO_1]_{\text{amostra}} - [DO_2 - DO_1]_{\text{branco}}$ $\Delta DO_{\text{lactose}} = \Delta DO_{\text{lactose + galactose}} - \Delta DO_{\text{galactose}}$ <p>Concentração de lactose anidra:</p> $C_{\text{lactose}} = 1,79365 \times \Delta DO_{\text{lactose}} \text{ (g/L)}$			

2.3.2. Análise Microbiológica

As formulações de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), com adição de luteína (FCL) e com adição de resveratrol (FCR) foram submetidas à análise microbiológica, para determinar o número de células probióticas viáveis ao fim do prazo de validade do produto. A contagem dos microrganismos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* LA-5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 foi realizada pela empresa Christian-Hansen (Valinhos/SP), fornecedora das culturas, após 30 dias de armazenamento do produto.

A técnica empregada para contagem de *Bifidobacterium* foi *pour plate*; para cada 1.000 mL de meio de cultura MRS ágar (Difco 288210) foram

adicionados 5 mL da solução de dicloxacilina 10% m/v (Sigma D-9016), 10 mL da solução de cloreto de lítio (2 g LiCl em 18 g de água desmineralizada) (Merck 5679) e 5 mL da solução de cisteína monoidratada a 10% m/v. As placas foram incubadas em anaerobiose a 43 °C por 72 horas.

Para contagem de *Lactobacillus acidophilus* LA-5, foram utilizados 5 mL de solução de clindamicina (Sigma C5269) para cada 1.000 mL de meio de cultura MRS-IM ágar, e o plaqueamento foi feito pela técnica *pour plate*. As placas foram incubadas em anaerobiose a 37 °C por 72 horas.

A enumeração de *Streptococcus thermophilus* foi realizada pela técnica *pour plate*, com meio de cultura Ágar M-17 (Oxoid 785), adicionado de solução de lactose 10%. A incubação foi feita a 37 °C por 72 horas.

Todos os resultados foram expressos como o número de unidades formadoras de colônia por grama (UFC/g).

2.4. Avaliação Sensorial

O teste sensorial foi realizado na Academia Ação & Água, da cidade de Viçosa-MG, com 90 provadores da faixa etária acima de 50 anos. Utilizou-se uma escala hedônica de nove pontos, sendo atribuído nota 9 para “gostei extremamente” e 1 para “desgostei extremamente”, sendo os produtos avaliados quanto à impressão global. Na Figura 1 é apresentada a ficha empregada nesse teste.

As quatro amostras (FCL, FSB, FCR e GCL) foram servidas sob luz branca, em apresentação monádica, sendo o provador orientado a lavar a boca com água potável após cada avaliação.

TESTE DE ACEITAÇÃO	
Nome: _____	Data ___ / ___ / ___
<p>Por favor avalie a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor representa seu julgamento.</p>	
Código da amostra: _____	
<input type="checkbox"/> Gostei extremamente <input type="checkbox"/> Gostei muito <input type="checkbox"/> Gostei moderadamente <input type="checkbox"/> Gostei ligeiramente <input type="checkbox"/> Indiferente <input type="checkbox"/> Desgostei ligeiramente <input type="checkbox"/> Desgostei moderadamente <input type="checkbox"/> Desgostei muito <input type="checkbox"/> Desgostei extremamente	
Comentários _____	

Figura 1 - Modelo de ficha hedônica de nove pontos.

Os resultados foram avaliados com auxílio do programa estatístico SAS, Statistical Analysis System, versão 9.1, licenciado pela Universidade Federal de Viçosa, por meio da análise de variância (ANOVA) e do teste de Tukey para comparação de médias ($p \leq 0,05$); posteriormente, foi utilizada a técnica do Mapa de Preferência Interno, a fim de considerar a resposta individual de cada consumidor e não somente a média do grupo de consumidores que avaliaram o produto.

Para obtenção do Mapa de Preferência Interno ou Análise de Preferência Multidimensional (MDPREF), os dados de aceitação (teste de consumidor) foram organizados numa matriz de amostras (em linhas) e consumidores (em colunas), a qual foi submetida à Análise de Componentes Principais (ACP). Os resultados foram expressos em um gráfico de dispersão das amostras (tratamentos), em relação aos dois primeiros componentes principais, e em outro, representando os "loadings" (cargas) da ACP (correlações dos dados de cada consumidor com os dois primeiros componentes principais) (MINIM, 2006).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização do Produto

Na Tabela 2 são apresentados os resultados das análises físico-químicas realizadas para o leite de cabra cru. Observa-se que a maioria dos parâmetros avaliados para o leite de cabra se encontra dentro dos requisitos estabelecidos pelo Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite de Cabra, Instrução Normativa nº37/2000 (BRASIL, 2000a), com exceção do teor de lactose. Esse fato se deve provavelmente à diferença de metodologia utilizada na determinação do teor de lactose, quando comparada à metodologia analítica referenciada pela Instrução Normativa nº37/2000. Esta legislação recomenda o método de Cloramina T, que expressa todos os açúcares redutores presentes no leite como lactose. Entretanto, a metodologia utilizada é específica para lactose, por se basear em reações enzimáticas.

Tabela 2 - Valores médios e desvios-padrão da caracterização físico-química do leite de cabra

	Legislação	Valor obtido
Gordura (% m/m)	Teor original	3,4 ± 0,24
Acidez (%m/v de ácido láctico)	0,13-0,18	0,16 ± 0,02
Sólidos não-gordurosos (% m/m)	Mín. 8,2	9,0 ± 0,31
Densidade 15/15 °C (g/cm³)	1,0280 – 1,0340	1,0321 ± 1,10
Índice Crioscópico, °H	-0,550°H a -0,585°H	- 0,569°H ± 0,0012
Proteína Total (N x 6,38) (%m/m)	Mín. 2,8	3,4 ± 0,08
Lactose (%m/v)	Mín. 4,3	4,2 ± 0,24
Cinzas (%m/v)	Mín. 0,7	0,8

A Resolução nº5/2000 (BRASIL, 2000b), que normatiza os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados, estabelece uma faixa de 3,0 a 5,9% m/m de gordura para o produto integral, de 0,6 a 2,0% m/m de acidez e mínimo de 2,9% m/m de proteínas. Assim, de acordo com a caracterização físico-química das quatro formulações de leite de cabra

fermentado (Tabela 3), nota-se que, para todos os produtos, foi possível atender aos parâmetros mínimos estabelecidos.

Tabela 3 - Valores médios e desvios-padrão da caracterização físico-química das formulações de leite de cabra fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) e com adição de resveratrol (FCR) e luteína de consistência líquida (FCL) e gelatinosa (GCL)

	FSB	FCR	FCL	GCL
Gordura (%m/m)	3,20±0,32	3,17±0,21	3,30±0,31	3,10±0,00
Acidez (%ácido láctico)	0,79±0,07	0,77±0,07	0,64±0,04	0,62±0,02
Proteína total (%m/m)	3,51±0,25	3,33±0,11	3,49±0,28	4,11±0,13
Extrato seco total (% m/m)	14,48±1,05	14,60±0,17	15,25±0,69	15,28±0,57
Lactose (%m/v)	0,04±0,06	0,08±0,09	0,03±0,00	0,05±0,02
Galactose (%m/v)	1,94±0,14	1,96±0,06	1,91±0,14	2,35±0,06

Ao comparar a composição do leite cru com a dos leites fermentados desenvolvidos, verifica-se que houve aumento da acidez devido principalmente à produção de ácido láctico durante o processo fermentativo. Contudo, houve redução do teor de gordura nos leites fermentados, pois o percentual de leite cru diminuiu em relação ao produto final após a adição de ingredientes não lácteos, como fibras, espessantes, edulcorantes e corantes. Foi possível verificar ainda que o teor de proteína aumentou em algumas das formulações desenvolvidas, em razão do uso de espessantes proteicos.

O conteúdo de lactose dos leites fermentados variou de 0,03 a 0,08% m/m. Isso foi possível devido à hidrólise enzimática pela lactase (LactoMAX Flex®, Prozyn), uma vez que o processo de fermentação por si só não é o suficiente para esgotar o conteúdo de lactose. Normalmente ocorre redução de aproximadamente 20% do teor de lactose do leite quando o conteúdo do ácido láctico atinge 0,9% (WALSTRA et al., 2001). Os reduzidos índices de lactose obtidos permitem a utilização do atributo “baixo teor de lactose”, termo este conferido pela Portaria nº 27/1998 do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), desde que o conteúdo absoluto deste açúcar seja de no máximo 0,5% no produto final.

A adição de 3% da inulina (*Beneo Synergy 1 - Clariant*) aos leites fermentados formulados proporcionou ao produto, além do atributo “fonte de fibras” (BRASIL, 1998), características prebióticas, relacionadas à contribuição do equilíbrio da microbiota intestinal. Essa alegação está condicionada ao fornecimento de no mínimo 3 g de inulina pela porção do produto, desde que o teor de inulina não ultrapasse 30 g na recomendação diária de consumo do produto (BRASIL, 2008).

A contagem microbiana (UFC/g) das amostras de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), com adição de luteína (FCL) e com adição de resveratrol (FCR), após 30 dias de estocagem, é mostrada na Tabela 4. A contagem de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 foi da ordem de 10^7 UFC/g, que corresponde a 10^9 UFC/dia, após 30 dias de estocagem. A Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF/ANVISA) estabelece uma quantidade mínima diária de 10^8 a 10^9 UFC para os probióticos, o que caracteriza o produto formulado como leite fermentado probiótico. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia (BRASIL, 2008).

Tabela 4 - Contagem microbiana (UFC/g) das amostras de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB), com adição de luteína (FCL) e com adição de resveratrol (FCR) após 30 dias de estocagem

	FSB	FCL	FCR
<i>S. thermophilus</i>	$7,4 \times 10^8$	$9,5 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$
<i>L. acidophilus</i> LA-5	$7,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^4$
<i>B. animalis</i> BB-12	$2,1 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$

O teor de luteína adicionado ao leite fermentado (8 mg/ 250 mL) pode proporcionar a proteção de células contra radicais livres, devido à sua atividade antioxidante. Em um estudo randomizado, duplo cego, com 17 pacientes com catarata relacionada à idade, Olmedilla et al. (2003) observaram aumento da concentração de luteína no soro e aumento do desempenho visual em indivíduos que receberam suplementação de 15 mg de luteína três vezes por semana, durante dois anos.

O conteúdo de resveratrol adicionado – 30 mg de resveratrol (Resvida™) por 250 mL de leite fermentado – pode auxiliar no controle de doenças cardiovasculares e aterosclerose. Segundo Wu et al. (2007), a ingestão de 10,95 mg de resveratrol proporciona inibição de aproximadamente 90% da agregação plaquetária em humanos.

3.2. Avaliação Sensorial

O resumo da análise de variância para os escores hedônicos do teste de aceitação de amostras de leite fermentado (Tabela 5) mostra que houve efeito ($p < 0,01$) do tratamento na aceitação do produto.

Tabela 5 - Resumo da análise de variância para os escores hedônicos do teste de aceitação de amostras de leite fermentado

FV	GL	QM
Provador	89	5,9396**
Tratamento	3	8,2852**
Resíduo	267	1,4631
CV (%)		15,97

* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

De acordo com o teste de Tukey (Tabela 6), as amostras de leite fermentado com luteína de consistência líquida (FCL) e gelatinosa (GCL) foram mais aceitas do que as de leite fermentado com resveratrol (FCR); as amostras de leite fermentado sem adição de compostos bioativos (FSB) não diferiram das demais, a 5% de probabilidade. Todas as amostras se situaram entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Tabela 6 - Média dos escores de aceitação para as amostras de leite fermentado

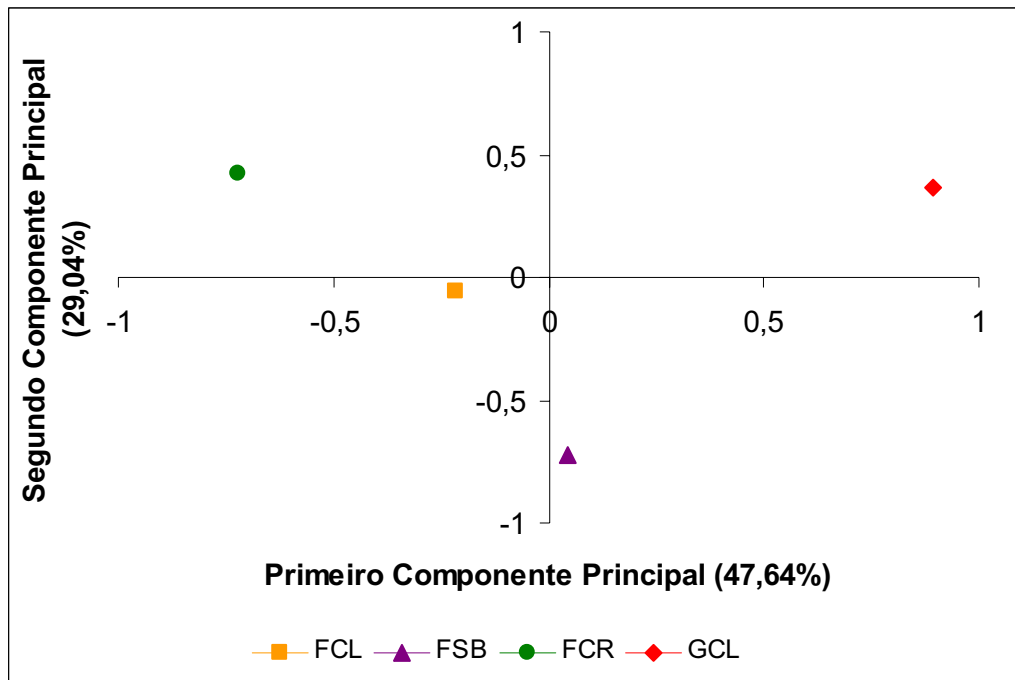
Amostras	Escores médios
GCL	7,88 a
FCL	7,77 a
FSB	7,42 a b
FCR	7,22 b

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si, quanto à aceitação, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

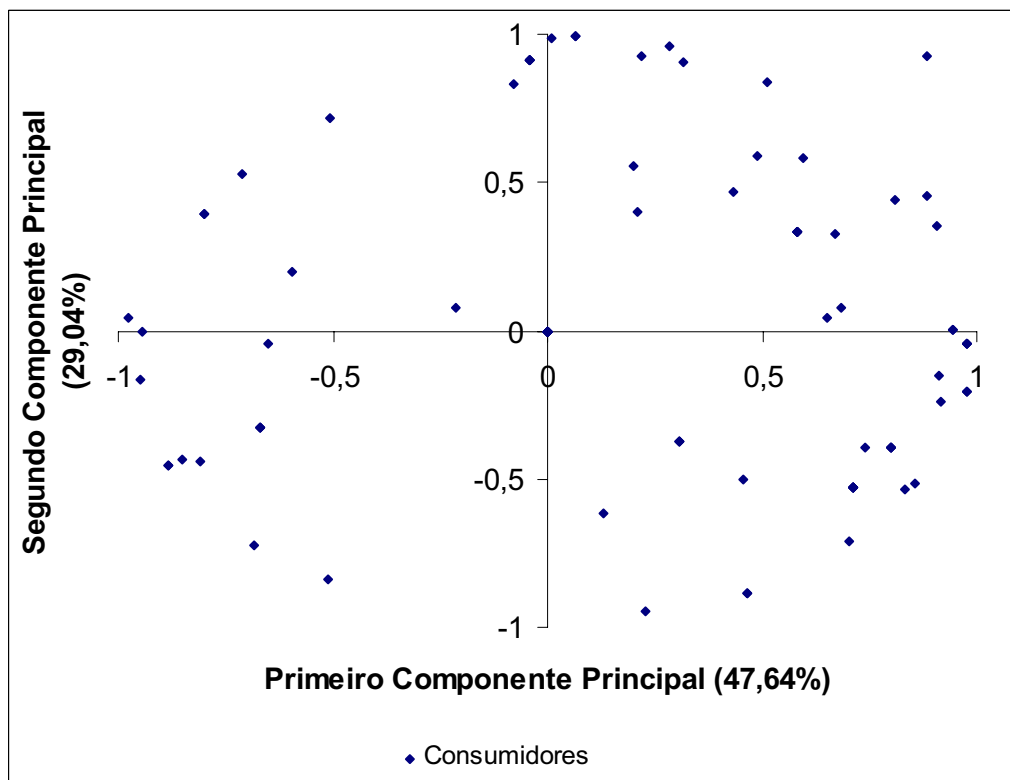
GLC - leite fermentado com luteína de consistência gelatinosa; FCL - leite fermentado com luteína de consistência líquida; FSB - leite fermentado sem compostos bioativos; FCR - leite fermentado com resveratrol.

O Mapa de Preferência Interno da Figura 2 mostra a dispersão das amostras de leite fermentado em relação à aceitação pelos consumidores (A) e a correlação entre os dados de aceitação e os dois componentes principais (B).

O primeiro componente principal explica 47,64% da variância total, e o segundo, 29,04%. Os dois explicam 76,68% da variância total dos dados de aceitação. Os dois componentes principais são considerados suficientes para representar a dispersão das amostras, pois eles explicam a maior parte da variação dos dados; portanto, tem-se uma apresentação bidimensional, de fácil interpretação.



A – Diagrama de dispersão das amostras de leite fermentado em relação à aceitação pelos consumidores.



B – Diagrama de dispersão com as correlações entre os dados de aceitação de cada consumidor e os dois componentes principais.

Figura 2 - Mapa de Preferência Interno para as amostras de leite fermentado.

Na Figura 2A pode-se observar que as amostras FCL, FSB, FCR e GCL se dividiram em quatro grupos. Na Figura 2B, nota-se que houve concentração maior dos consumidores no primeiro quadrante, indicando que a amostra de leite fermentado com adição de luteína, de consistência gelatinosa (GCL), foi a mais aceita.

4. CONCLUSÃO

As formulações de leite de cabra fermentado apresentaram ótima aceitação pelos consumidores em potencial, uma vez que a adição da luteína e do resveratrol não causou efeito negativo sobre a aceitação dos produtos.

O número de *Bifidobacterium animalis* no produto final caracteriza o produto desenvolvido como probiótico.

A utilização da enzima lactase permitiu o desenvolvimento de um produto com baixo teor de lactose (0,08%), importante para pessoas com intolerância a esse dissacarídeo.

5. REFERÊNCIAS

ALM, L. Effect of fermentation on lactose, glucose, and galactose content in milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individuals. **J. Dairy Sci.** v. 65, n. 3, p. 346-352, 1982.

BLANCHETTE, L.; ROY, D.; BELANGER, G.; GAUTHIER, S.F. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 79, p. 8-15, 1996.

BOCLÉ, J-C. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments**, p. 1-126, fev. 2005.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº37 de 31 de Outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 de Novembro de 2000a.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Resolução nº 5, de 13 de Novembro de 2000. Oficializa os Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 27 de Novembro de 2000b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Alimentos. Comissões e Grupos de trabalho. Comissão Tecnocientífica de assessoramento em alimentos funcionais e novos alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou saúde, novos alimentos/Ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **VIII – Lista das Alegações de propriedade funcional Aprovadas**, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 14 de dezembro de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 27 de 13 de janeiro de 1998. Aprova o regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar (declarações relacionadas ao conteúdo de nutrientes). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 16 de janeiro de 1998.

BUTTRISS, J. Nutritional properties of fermented milk products. **Int. J. Dairy Technol**, v. 50, n. 1, p. 21-27, 1997.

DIPLOCK, A. T., et al. Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document. **Br. J. Nutr.**, v. 81, S1-S27, 1999.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, WORLD HEALTH ORGANIZATION - FAO/WHO. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

FREUND, G. **Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre**. Niort (France), 7 novembre 1996, ed. INRA, p. 27-100, Paris 1997 (Les colloques, nº81).

FULLMER, L. Opportunities for lutein in dairy. **Dairy Foods**, v. 104, n. 3, p. 51, 2003, ABI/INFORM Global.

GARFIELD, E. The worldwide problem of lactose intolerance. **Curr. Contents**, v. 4, n. 49, p. 700-703, 1980.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

HAENLEIN, G. F. W. Goat milk in human nutrition. **Small Rum. Res.**, v. 51, p. 155-163, 2004.

HAO, H. D.; HE, L. R. Mechanisms of Cardiovascular Protection by Resveratrol. **J. Med. Food**, v. 7, n. 3, p. 290-298, 2004.

HOLDEN, J. M.; ELDRIDGE, A. L.; BEECHER, G. R. et al. "Carotenoid content of U.S. foods: an update of the database". **J. Food Comp. Anal.**, v. 12, p. 169-196, 1999.

HOLZAPFEL, W. H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Res. Int.**, v. 35, p. 109-116, 2002.

JANG, M.; CAI, L.; UDEANI, G. O.; SLOWING, K. V.; THOMAS, C. F.; BEECHER, C. W. W.; FONG, H. H. S; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.; MEHTA, R. G.; MOON, R. C.; PEZZUTO, J. M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Sci.**, v. 275, p. 218-220, 1997.

JARDIM, V. R. **Criação de caprinos**. São Paulo: Nobel, 12. ed., 1984.

JEFREMOV, V. et al. Antioxidative effects of plant polyphenols : from protection of G protein signaling to prevention of age-related pathologies. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1095, p. 449-457, 2007.

JELEN, P.; LUTZ, S. **Functional milk and dairy products**. In: MAZZA, G., Functional foods: biochemical and processing aspects. Lancaster: Technomic Publishing, p. 357- 381, 1998.

JENNESS, R. Composition and characteristics of goat milk: review 1969 – 1979. **J. Dairy Sci.**, Champaign, v. 63, n. 10, p. 1605-1630, 1980.

LARA-VILLOSLADA, F.; OLIVARES, M.; JIMÉNEZ, J.; BOZA, J.; XAUS, J. Goat Milk is less immunogenic than cow milk in a murine model of atopy. **J. Ped. Gastroenterol. Nutr.**, v. 39, p. 354-360, 2004.

MINIM, V.P.R. **Análise Sensorial: estudos com consumidores**, 1. ed. Viçosa: UFV, 2006, 225p.

OLMEDILLA, B.; GRANADO, F.; BLANCO, I.; VAQUERO, M. Lutein, but not α -tocopherol, supplementation improves visual function in patients with age-related cataracts: a 2-y double-blind, placebo-controlled pilot study. **Nutr.**, v. 19, n. 1, p. 21-24, 2003.

OMAE, M.; MAEYAMA, Y.; NISHIMURA, T. Sensory Properties and Taste Compounds of Fermented Milk Produced by *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus*. **Food Sci. Technol. Res.**, v. 14, n. 2, p. 183-189, 2008.

PARK, Y. W. Relative Buffering Capacity of Goat Milk, Cow Milk, Soy-Based Infant Formulas, and Commercial Nonprescription Antacid Drugs. **J. Dairy Sci.**, v. 74, p. 3326-3333, 1991.

PEACOCK, C. **Improving Goat Production in the Tropics: A Manual for Development**. An Oxfam/ Farm-Africa Publication, 1996, 387 p.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, P. H. F.da; JÚNIOR, L. C. G. C.; OLIVEIRA, L. L. de. **Físico-química do leite e derivados – métodos analíticos**. 2. ed. rev. ampl. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001, 234 p.

RENAUD, S.; LORGERIL, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v. 339, n. 8808, p. 1523-1526, 1992.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, p. 1682S-1687S, 2000.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Braz. J. Pharmaceut. Sci.**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SANGIOVANNI, J. P.; CHEW, E. Y.; CLEMONS, T. E., et al. The Relationship of Dietary Carotenoid and Vitamin A, E, and C Intake With Age-Related Macular Degeneration in a Case-Control Study, Report N° 22, **Arch. Ophthalmol.**, v. 125, n. 9, p. 1225-1232, 2007.

SEDDON, J. M., Ajani U. A., et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Group. **JAMA**, v. 272, n. 18, p. 1413-1420, 1994.

SHAO, A.; HATHCOCK, J. N. Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. **Regul. Toxicol. Pharmacol.**, v. 45, p. 289-298, 2006.

STAHL, W. e SIES, H. Antioxidant activity of carotenoids. **Mol. Aspects Med.**, v. 24, p. 345-351, 2003.

SWAGERTY, D. L. JR.; WALLING, A. D.; KLEIN, R. M. Lactose Intolerance. **Am. Fam. Physician**, v. 65, n. 9, p. 1845-1850, 2002.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; BOEKEL, M. A. J. S. van. **Ciência de la lache y tecnologia de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001, 730 p.

WEHR, H. M., FRANK J. F. Standard Methods for the examination of dairy products. 17. ed. Washington, DC: **Am. Public Health Assoc.**, p. 437-440, 2004.

WU, C. C., et al. Low concentrations of resveratrol potentiated the antiplatelet effect of prostaglandins. **Panta Med.**, n. 5, v. 16, p. 439-443, 2007.

6. CONCLUSÃO GERAL

A metodologia desenvolvida para extração da luteína adicionada ao leite fermentado foi eficiente. Por meio dela, foi possível eliminar grande parte das proteínas e substâncias presentes na matriz do leite fermentado, como ácidos orgânicos oriundos do processo de fermentação, além das substâncias antioxidantes presentes no produto comercial de luteína, como o ascorbato de sódio e o α -tocoferol, que poderiam superestimar a atividade antioxidante dos produtos formulados.

A redução do teor de luteína no leite de cabra fermentado em função do período de armazenamento foi observada tanto pela técnica de espectrofotometria como por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). No entanto, sugere-se que o tempo de estocagem (dias) do produto pode ter favorecido a interação de parte da luteína com as proteínas do leite de cabra fermentado, dificultando sua extração e quantificação pela metodologia utilizada.

A atividade antioxidante da luteína adicionada ao leite fermentado, a coloração e o pH do produto não se alteraram em função do período de armazenamento do produto, o que indica que a luteína utilizada apresentou boa estabilidade, sendo considerada um composto bioativo com grande potencial para suplementação de produtos lácteos fermentados.

Todas as formulações apresentaram boa aceitação pelos consumidores de faixa etária acima de 50 anos, sendo os produtos situados entre os termos hedônicos “gostei moderadamente” e “gostei muito”.

Assim, o trabalho possibilitou o desenvolvimento de produtos lácteos fermentados à base de leite caprino com características simbióticas, baixo teor de lactose e com adição dos antioxidantes luteína e resveratrol, com propriedades funcionais importantes para indivíduos idosos e com intolerância à lactose.