

**LORENA SOARES XAVIER**

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A QUALIDADE DO IOGURTE CAPRINO:  
SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA E TRATAMENTO DO LEITE POR DISPERSÃO  
DE ALTO CISALHAMENTO ASSISTIDO POR ULTRASSOM**

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*.

Orientador: Bruno Ricardo de Castro Leite Junior

Coorientadora: Alline Artigiani Lima Tribst

**VIÇOSA - MINAS GERAIS  
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

X3e  
2024

Xavier, Lorena Soares, 1996-

Estratégias para melhorar a qualidade do iogurte caprino: suplementação proteica e tratamento do leite por dispersão de alto cisalhamento assistido por ultrassom / Lorena Soares Xavier. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (56 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2024.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.359>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Iogurte - Qualidade. 2. Leite de cabra. 3. Fermentação.  
I. Leite Júnior, Bruno Ricardo de Castro, 1989-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 664.024

**LORENA SOARES XAVIER**

**ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A QUALIDADE DO IOGURTE CAPRINO:  
SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA E TRATAMENTO DO LEITE POR DISPERSÃO  
DE ALTO CISALHAMENTO ASSISTIDO POR ULTRASSOM**

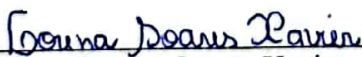
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior

Coorientadora: Alline Artigiani Lima Tribst

APROVADA: 03 de maio de 2024.

Assentimento:

  
\_\_\_\_\_  
Lorena Soares Xavier  
Autor

  
\_\_\_\_\_  
Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior  
Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por direcionar, fortalecer e abençoar todo meu caminho.

Aos meus pais, Solange e Elcy e à minha irmã Paula, por todo apoio, confiança, dedicação e amor.

Ao Pedro Feital, por ter sido meu companheiro aqui na terra, exemplo de coragem, força, perseverança e que agora é fonte de amor e amparo do céu.

Ao meu orientador, professor Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior pelos ensinamentos, incentivo, compreensão, paciência, suporte e amizade e à minha coorientadora, Alline Artigiani Lima Tribst por todo auxílio, encorajamento e conselhos.

Aos integrantes do LIPA que contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação e ampliar meus conhecimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

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

## RESUMO

XAVIER, Lorena Soares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2024. **Estratégias para melhorar a qualidade do iogurte caprino: suplementação proteica e tratamento do leite por dispersão de alto cisalhamento assistido por ultrassom.** Orientador: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior. Coorientadora: Alline Artigiani Lima Tribst.

A produção de iogurte de cabra enfrenta alguns desafios, incluindo baixa viscosidade e longo tempo de fermentação. A aplicação de processos físicos como pré-tratamento do leite e o uso de suplementação proteica são estratégias que apresentam potencial para superar essas limitações. Esse estudo avaliou a cinética de fermentação e as características do iogurte de cabra suplementado com proteína isolada do soro de leite bovino submetido a dispersão de alto cisalhamento (DAC) assistida por ultrassom (US). O leite de cabra suplementado com diferentes concentrações de proteína do soro (0%, 2,5% e 5%) foi pré-tratado por DAC (UltraTurrax® T18) a 15000 rpm assistido por US (25kHz, 38W/L) por 10 min a 40 °C. As amostras com suplementação proteica não processadas por US-DAC (amostras controle) foram mantidas em banho termostático a 40 °C por 10 min. O tamanho médio das partículas e o potencial Zeta ( $\zeta$ ) foram medidos logo após o pré-tratamento. Posteriormente, as amostras foram processadas termicamente (80 °C/30 min), seguido de inoculação da cultura de iogurte e fermentação à 42 °C até pH 4.6. Após 24h de armazenamento refrigerado, foram realizadas análises físico-químicas, microbiológicas, reológicas e microscópicas dos iogurtes produzidos. A suplementação proteica e a aplicação dos processos físicos (US-DAC) aumentaram a eletronegatividade do potencial zeta em até 60%, enquanto o tamanho das partículas foi reduzido apenas pelos processos físicos ( $\leq 42\%$ ). A adição de 2,5% de proteína do soro reduziu o tempo de fermentação do iogurte em 30 minutos. Após 24h de armazenamento a 7 °C, as contagens de bactérias lácticas não diferiram entre as amostras ( $\geq 8 \log \text{ UFC/mL}$ ) ( $p > 0,05$ ) e os iogurtes suplementados com 5,0% de proteína de soro apresentaram maior pH e menor acidez ( $p < 0,05$ ). A suplementação foi suficiente para aumentar a viscosidade aparente (até 5,65 vezes) e a capacidade de retenção de água (CRA) do iogurte (aumento  $\leq 35\%$ ). Porém, a suplementação combinada com processos físicos potencializou as melhorias nesses parâmetros (6,41 vezes na viscosidade aparente e 48% na CRA) ( $p < 0,05$ ), o que foi confirmado por aglomerados proteicos mais densos e melhor organizados, conforme verificado na avaliação microscópica. Dessa forma, ambas as estratégias (pré-tratamento por US-DAC e suplementação proteica) mostraram-se alternativas promissoras para melhorar os atributos de qualidade do iogurte caprino, destacando-se a aplicação dos processos físicos, que permitiu a redução da concentração de proteína adicionada ao iogurte. A escolha final do uso associado ou isolado dessas estratégias deve considerar o custo, demanda de mercado e as características reológicas, estruturais e sensoriais desejáveis para o produto.

Palavras-chave: Tecnologias emergentes; Leite não bovino; Fermentação; Fortificação proteica; Reologia.

## ABSTRACT

XAVIER, Lorena Soares, M.Sc., Federal University of Viçosa, April of 2024. **Strategies to improve the quality of goat yogurt: protein supplementation and ultrasound-assisted high-shear dispersion milk treatment.** Advisor: Bruno Ricardo de Castro Leite Júnior. Co-advisor: Alline Artigiani Lima Tribst.

Goat yogurt production faces some challenges, including low viscosity and long fermentation time. The application of physical processes such as milk pre-treatment or the use of protein supplementation are strategies that have the potential to overcome these limitations. This study evaluated the fermentation kinetics and characteristics of goat yogurt supplemented with bovine whey protein isolate (WPI) subjected to high shear dispersion (HSD) assisted by ultrasound (US). Goat milk supplemented with different concentrations of WPI (0%, 2.5% and 5%) was pretreated by HSD (UltraTurrax® T18) at 15000 rpm assisted by US (25kHz, 38W/L) for 10 min at 40 °C. Samples with protein supplementation not processed by US-HSD (control samples) were kept in a thermostatic bath at 40 °C for 10 min. The average particle size and Zeta potential ( $\zeta$ ) were measured immediately after pretreatment. Subsequently, the samples were thermally processed (80 °C/30 min), followed by inoculation of the yogurt culture and fermentation at 42 °C until pH 4.6. After 24 hours of refrigerated storage, physical-chemical, microbiological, rheological, and microscopic analyzes of the yogurts produced were carried out. Protein supplementation and the application of physical processes increased the electronegativity of the zeta potential by up to 60%, whereas particle size was reduced only by physical processes ( $\leq 42\%$ ). The addition of 2.5% WPI reduced the yogurt fermentation time by 30 minutes. After 24h of storage at 7 °C, lactic acid bacteria counts did not differ between samples ( $\geq 8 \log \text{CFU/mL}$ ) ( $p > 0.05$ ) and the yogurts supplemented with 5.0% WPI showed higher pH and lower acidity ( $p < 0.05$ ). The supplementation was sufficient to increase the apparent viscosity (up to 5.65 times) and water holding capacity (WHC) of the yogurt ( $\leq 35\%$  increase). However, supplementation combined with physical processes promoted greater improvements in these parameters (6.41 times in apparent viscosity and 48% in WHC) ( $p < 0.05$ ), which were confirmed by denser and better organized protein clusters as verified in the microscopic evaluation. Thus, both strategies (pre-treatment by US-HSD and protein supplementation) proved to be promising alternatives for improving the quality attributes of goat yogurt, highlighting the application of physical processes, which allowed the addition of low protein concentration in the yogurt. The final choice of associated or isolated use of these strategies must consider cost and market demand.

Keywords: Emerging technologies; Non-bovine milk; Fermentation; Protein fortification; Rheology.

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Esquema da estimulação das bactérias do iogurte no leite durante a fermentação..... 19
- Figura 2.** Ilustrações dos equipamentos de US. A - Banho ultrassônico e B - US de sonda.... 21
- Figura 3.** Princípio de cavitação ultrassônica..... 22

### CAPÍTULO 2

- Figure 1.** Decline curve of pH during yogurt fermentation produced from goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI. *US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated. Dots are experimental data; continuous lines are the predicted data using Eq. (1)*..... 45
- Figure 2.** (A) Shear stress ( $\sigma$ , Pa) versus shear rate ( $\dot{\gamma}$ ,  $s^{-1}$ ) and (B) apparent viscosity ( $\eta$ , Pa s) as a function of shear rate ( $\dot{\gamma}$ ,  $s^{-1}$ ) at 7°C of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI. *US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated*..... 48
- Figure 3.** Optical microscopy images of yogurt produced from goat milk not pretreated (A-C) and pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound (D-F) added WPI (B, E; C, F) after 1 day of storage at 7°C. *US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated*..... 52

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

<b>Tabela 1.</b> Composição do leite de cabra .....	16
<b>Tabela 2.</b> Principais estudos utilizando US como pré-tratamento do leite na produção de iogurte .....	25

### CAPÍTULO 2

<b>Table 1.</b> Mean particle size and zeta potential of goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.....	43
<b>Table 2.</b> Fermentation kinetic parameters of goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.....	45
<b>Table 3.</b> pH, acidity, and LAB count of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI after 1 day of storage at 7°C.....	47
<b>Table 4.</b> Rheological properties and WHC of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.....	49

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	10
OBJETIVOS .....	12
Objetivo geral .....	12
Objetivos específicos .....	12
CAPÍTULO 1 .....	13
REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
1. Leite de cabra.....	13
2. Iogurte.....	16
3. Tecnologia de ultrassom.....	18
3.1 Aplicação do ultrassom no processamento de iogurte.....	20
3.2 Aplicação do US em combinação com outras estratégias na produção do iogurte .....	24
3.2.1 Dispersão de alto cisalhamento .....	24
3.2.2 Suplementação proteica.....	25
Referências .....	26
CAPÍTULO 2 .....	35
Strategies to improve the quality of goat yogurt: whey protein supplementation and milk treatment with high-shear dispersion assisted by ultrasound .....	35
Graphical abstract .....	37
1. Introduction .....	38
2. Material and Methods .....	39
2.1 Goat milk, whey supplementation and cultures.....	39
2.2 Milk pretreatment by ultrasound-assisted high shear dispersion (US-HSD) .....	39
2.3 Mean particle size and zeta potential of goat milk after pretreatment by US-assisted HSD .....	39
2.4 Goat yogurt fermentation .....	40
2.5 Physicochemical analyzes and LAB viability .....	40
2.6 Rheological analyzes .....	40
2.7 Optical microscopy.....	41
2.8 Statistical analysis .....	41
3. Results and Discussion .....	41
3.1. Mean particle size and zeta potential.....	41
3.2. Fermentation kinetics .....	43
3.3. pH, acidity, and LAB count.....	44

3.4. Rheological properties.....	45
3.5. Optical microscopy.....	49
4. Conclusion.....	51
Acknowledgments and Funding.....	51
References.....	51
CONCLUSÕES GERAIS.....	56

## INTRODUÇÃO GERAL

O leite de cabra apresenta em sua composição nutrientes como proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais, o que o torna uma escolha adequada para compor uma alimentação equilibrada (Verruck *et al.*, 2019; Hammam *et al.*, 2021). Além de sua qualidade nutricional, o leite de cabra se destaca por sua alta digestibilidade, baixo potencial alergênico e pela presença de componentes bioativos como peptídeos e oligossacarídeos em sua composição. Essas características estimulam sua aplicação na produção de produtos promotores de saúde (Nayik *et al.*, 2021). Devido a esses aspectos, o mercado de leite de cabra está em constante crescimento e, visando agregar valor à matéria-prima e aumentar sua versatilidade, são produzidos diversos derivados, como queijos, doces e iogurtes (Santos *et al.*, 2022).

Apesar de todas as qualidades atribuídas a essa matriz alimentar, a produção de iogurte proveniente do leite de cabra apresenta alguns desafios. Além de possuir um longo tempo de fermentação durante seu processamento, o produto tem uma textura frágil, com menor viscosidade e capacidade de retenção de água reduzida, quando comparado ao iogurte produzido com leite de vaca (Li e Guo, 2006; Zhao *et al.*, 2022). A adição de ingredientes, como proteínas do soro do leite, além de conferir potencial funcional, é um dos procedimentos comumente utilizados para melhorar as propriedades texturais de iogurtes (Tian *et al.*, 2022). Dentro desse cenário, a suplementação proteica associada à aplicação de tecnologias emergentes, como ultrassom (US) e dispersão de alto cisalhamento (DAC), como pré-tratamento do leite de cabra apresenta-se como uma abordagem promissora para superar os desafios da fabricação do iogurte de cabra.

A tecnologia de ultrassom refere-se a ondas sonoras que apresentam frequências acima do alcance da audição humana (~20 kHz) (Zhang *et al.*, 2019). Em estudos com iogurte de vaca, a sonicação demonstrou ser capaz de promover alterações estruturais nos constituintes do leite, resultando em melhorias tanto no processo fermentativo quanto nas características do gel, como redução do tempo de fermentação; aumento da capacidade de retenção de água, viscosidade e firmeza do gel; e redução de sinérese do iogurte produzido (Abesinghe *et al.*, 2019; Akdeniz e Akalin, 2019). Em paralelo, a DAC, um equipamento que produz altas taxas de cisalhamento, pode promover redução do tamanho dos glóbulos de gordura, contribuindo também para melhorar a qualidade do gel (Da Capela *et al.*, 2022). Assim, nota-se que esses processos físicos exibem grande potencial para atuar de forma sinérgica no pré-tratamento do leite de cabra para produção de um iogurte com melhores propriedades reológicas.

Até o momento, ao nosso melhor conhecimento, nenhum estudo anterior investigou o impacto da utilização simultânea de dois processos físicos (US e DAC) em combinação com a

suplementação proteica na a produção de iogurte de leite de cabra. Portanto, percebendo esta lacuna, este trabalho objetivou avaliar o impacto do pré-tratamento do leite de cabra por dispersão de alto cisalhamento assistida por ultrassom e os efeitos da suplementação do leite com proteína do soro de leite bovino na cinética de fermentação e nas características físico-químicas, reológicas e microestruturais do iogurte produzido.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Avaliar os efeitos do pré-tratamento do leite de cabra por dispersão de alto cisalhamento (DAC) assistido por ultrassom (US) e da suplementação proteica na cinética de fermentação e nos atributos de qualidade do iogurte produzido.

### **Objetivos específicos**

- Avaliar o tamanho médio de partícula e o potencial zeta das amostras de leite de cabra suplementadas com diferentes concentrações (0%, 2,5% e 5%) de proteína isolada do soro de leite bovino após pré-tratamento por DAC assistido por US;
- Realizar a fermentação do leite de cabra suplementado com diferentes concentrações de proteína do soro e pré-tratado por US-DAC, com monitoramento de pH durante a fermentação (até pH 4,6) para avaliar a cinética de fermentação;
- Determinar pH, acidez titulável, capacidade de retenção de água (CRA) e viabilidade de bactérias lácticas do iogurte produzido após 24 h de armazenamento à 7 °C;
- Avaliar o comportamento reológico e a microscopia óptica do iogurte produzido após 24 h de armazenamento à 7 °C.

## CAPÍTULO 1

### REFERENCIAL TEÓRICO

#### 1. Leite de cabra

Segundo levantamentos da FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), o leite de cabra é a terceira variedade mais produzida no mundo, ficando atrás apenas do leite de vaca e búfala (FAOstat, 2022a). Em comparação com 2010, a produção mundial do leite de cabra dobrou em 2020, passando para aproximadamente 20,6 milhões de toneladas. Seguindo as tendências mundiais de mercado, a produção pode aumentar por volta de 53% até 2030 (FAOstat, 2022b). Apesar dessa produção ainda ser pequena na América, comparada aos continentes Asiático e Africano, houve um crescimento significativo nesse continente nos últimos anos (Pulina *et al.*, 2018).

No Brasil, a região Nordeste é a maior produtora de leite de cabra, seguida das regiões Sudeste e Sul. Em relação aos estados, a Paraíba ocupa a primeira posição, enquanto Bahia e Minas Gerais assumem a segunda e terceira posição, respectivamente (IBGE, 2017). O último censo agropecuário relacionado à caprinocultura leiteira foi realizado em 2017, onde constavam no território brasileiro 15.720 estabelecimentos agropecuários produtores de leite de cabra, sendo por volta de 98.193 cabras ordenhadas, o que acarretou em uma produção anual de aproximadamente 26,1 milhões de litros de leite (IBGE, 2017; Delgado Júnior *et al.*, 2020).

De acordo com a Instrução Normativa nº 37, de 31 de outubro de 2000 estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), leite de cabra é definido como o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de animais da espécie caprina sadios, bem alimentados e descansados (BRASIL, 2000). Neste documento constam exigências relacionadas à produção, beneficiamento, classificação e qualidade do leite de cabra, indicadores importantes para obtenção de um produto de qualidade e seguro para a saúde dos consumidores (BRASIL, 2000).

A composição do leite de cabra pode sofrer influência de fatores genéticos, fisiológicos, ambientais e de manejo (Verruck *et al.*, 2019). Aspectos como a raça do animal, o estágio de lactação, a composição da alimentação, o armazenamento e transporte após ordenha possuem capacidade de afetar significativamente não somente a composição bioquímica, como também as propriedades tecnológicas e a qualidade microbiológica do leite de cabra (Yurchenko *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2022).

O leite de cabra é uma fonte notável de vários nutrientes importantes (Nayik *et al.*, 2021). Possui uma boa proporção de proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais que apresentam atuação relevante na nutrição humana sendo considerados adequados para compor uma alimentação balanceada (Verruck *et al.*, 2019; Hammam *et al.*, 2021). Tem uma composição química próxima a do leite humano fazendo com que ele seja facilmente assimilado e tenha boa biodisponibilidade dos nutrientes (Lad *et al.*, 2017). A Tabela 1 apresenta os teores dos principais constituintes do leite de cabra.

**Tabela 1.** Composição do leite de cabra

<b>Macroconstituintes</b>	<b>(g/100mL)</b>
Proteínas	3,3
Lipídeos	3,6
Lactose	4,1
Minerais	0,7
<b>Frações proteicas</b>	<b>(%)</b>
$\alpha$ -Caseína	16
$\beta$ -Caseína	51
$\kappa$ -Caseína	8
$\alpha$ -Lactalbumina	6
$\beta$ -Lactoglobulina	17
Albumina sérica	1
<b>Frações ácidos graxos</b>	<b>(%)</b>
Ácidos graxos de cadeia média	18,6
Ácidos graxos saturados	66,9
Ácidos graxos monoinsaturados	23,6
Ácidos graxos poliinsaturados	9,4

Fonte: Adaptado de DOS SANTOS *et al.*, 2022

Os glóbulos de gordura do leite de cabra apresentam diâmetros menores e possuem maiores teores de ácidos graxos de cadeia curta e média em comparação ao leite bovino, características benéficas para melhorar o metabolismo lipídico e aumentar a digestibilidade (Prosser, 2021; Nayik *et al.*, 2021). Além disso, o leite de cabra exibe uma maior proporção de micelas de caseína de tamanho pequeno, configurando mais um fator que contribui para aumentar seu potencial digestivo (Verruck *et al.*, 2019; Dos Santos *et al.*, 2022). Outro aspecto relevante associado às proteínas do leite de cabra é a hipoalergenicidade (Verruck *et al.*, 2019). Estudos demonstraram que a alergia relacionada ao leite de vaca, na maior parte dos casos, é atribuída à caseína  $\alpha_{S1}$ , na qual no leite de cabra o nível dessa proteína é 89% menor (Lad *et al.*, 2017).

Além da alta digestibilidade e baixo potencial alergênico, o leite de cabra possui componentes bioativos como peptídeos e oligossacarídeos que apresentam inúmeras propriedades biológicas e potencial de aplicação no desenvolvimento de produtos promotores de saúde (Dos Santos *et al.*, 2022). Foi demonstrado em diversos trabalhos que a hidrólise das proteínas do leite de cabra pode fornecer peptídeos com atividades antioxidante, antimicrobiana, anti-hipertensiva (inibidora de ECA), anti-inflamatória, imunomoduladora, antiobesidade, entre outras (Ahmed *et al.*, 2015; Ibrahim *et al.*, 2017; Moreno-Montoro *et al.*, 2017; Fatchiyah *et al.*, 2015; Delgadillo-Puga *et al.*, 2020).

Já os oligossacarídeos, principalmente os fucosilados e siliados, podem atuar na modulação da microbiota intestinal por exercerem efeitos prebiótico, antiadesivo e antiinflamatório. No intestino humano esses carboidratos são fontes de nutrientes e de energia para o crescimento e desenvolvimento de bactérias benéficas como as dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, além disso, possuem a capacidade de inibir a aderência de bactérias patogênicas entéricas (Sousa *et al.*, 2019). Outros estudos também demonstraram que esses oligossacarídeos isolados do leite de cabra reduziram a inflamação intestinal em camundongos com colite induzida, diminuindo a gravidade das lesões e dos sintomas da doença e aumentando a atividade imunomoduladora (Lara-Villoslada *et al.*, 2006; Araujo *et al.*, 2017).

Outra característica interessante do leite de cabra é a presença de quantidades significativas de alguns minerais como cálcio, zinco, potássio e magnésio, os quais podem influenciar positivamente o crescimento das bactérias lácticas, visto que esses componentes constituem os complexos enzimáticos envolvidos na fermentação (Slačanac *et al.*, 2010). Além disso, as cabras são capazes de converter todo o  $\beta$ -caroteno em vitamina A e, por essa razão, o leite de cabra apresenta um teor mais elevado de vitamina A em comparação ao leite de vaca, auxiliando o sistema imunológico dos consumidores (Lad *et al.*, 2017).

Por todos esses fatores mencionados, o mercado do leite de cabra está em expansão (Dos Santos *et al.*, 2022). Em seu beneficiamento é produzida uma diversificada gama de derivados objetivando agregação de valor à essa matéria-prima. Atualmente, no mercado, além do leite integral pasteurizado e esterilizado, é possível encontrar leite de cabra em pó, sorvetes, doces, iogurtes e queijos de diversos tipos (Nayik *et al.*, 2021).

Nesse contexto, existe um grande diferencial relacionado aos derivados lácteos caprinos que envolve a denominação de produtos “*gourmet*”, sendo muitas vezes comercializados com valores superiores ao dos derivados lácteos bovinos (Delgado-Júnior *et al.*, 2020). Entre os derivados lácteos, o iogurte se destaca por ser um alimento prático, de fácil consumo e com

potencial funcional que atende as demandas crescentes de saúde e bem-estar da sociedade (Dantas *et al.*, 2022; Mazzaglia *et al.*, 2020).

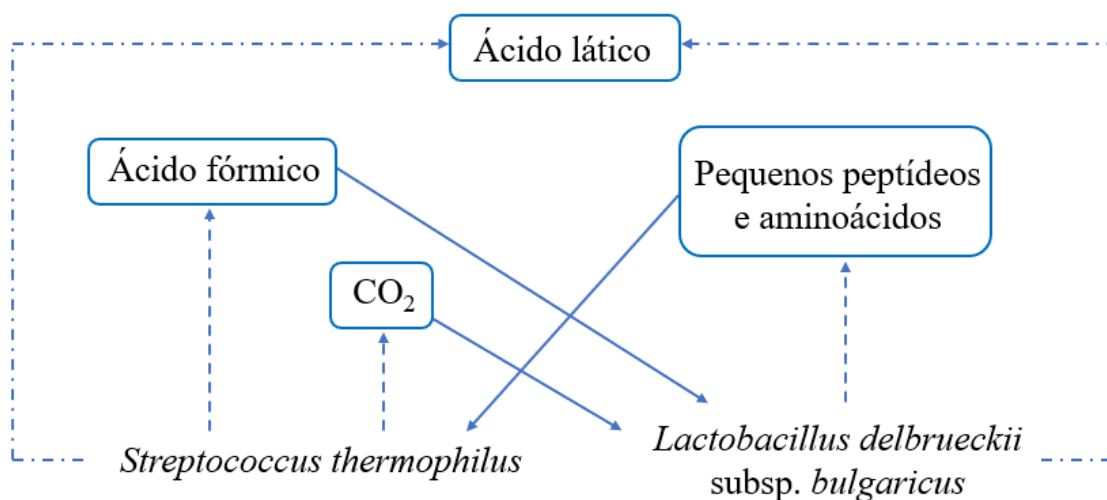
## 2. Iogurte

O iogurte é um alimento que faz parte da dieta humana há milhares de anos (Fisberg *et al.*, 2015). Acredita-se que os lácteos fermentados foram incorporados na alimentação humana por volta de 10.000 a 5.000 a.C. mediante a domesticação de animais produtores de leite (vacas, cabras, ovelhas búfalas) (Aznar *et al.*, 2013). Nessa época, a fermentação láctea foi descoberta acidentalmente, tornando-se uma ótima alternativa para aumento da vida útil do leite (Fisberg *et al.*, 2015). No decorrer dos anos, o iogurte foi bastante explorado pelas indústrias de laticínios em função de seu potencial para desenvolvimento de novos produtos. Esse desenvolvimento tecnológico envolve, por exemplo, a adição de outros ingredientes, como frutas, aromatizantes, fibras, vitaminas e probióticos (Marco *et al.*, 2017).

De acordo com a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007, estabelecida pelo MAPA, iogurte é definido como leite fermentado obtido através da fermentação láctica mediante ação de cultivos protossimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido lácticas (BRASIL, 2007). *S. thermophilus* é uma bactéria esférica/ovóide gram-positiva, termofílica e que consegue sobreviver em temperaturas de até 60 °C. Apresenta baixo poder proteolítico e elevada produção de exopolissacarídeos (Robinson, 2003; Chandan e O' Rell, 2006). O *L. bulgaricus* também é um microrganismo gram-positivo e termofílico, mas apresenta a forma de bastonete e alto poder proteolítico. Além disso é mais resistente do que o *S. thermophilus* em pH próximos a 4,5 (Chandan e O'Rell, 2006; Rault *et al.*, 2009).

Durante o processo de fermentação *S. thermophilus* e *L. bulgaricus* estimulam o crescimento um do outro por meio da troca de metabólitos em uma interação denominada protocooperação (Siewerts, 2016). *S. thermophilus* se propaga rapidamente no início da fermentação, produzindo ácido fórmico e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), compostos que estimulam o crescimento de *L. bulgaricus*. Enquanto *L. bulgaricus* hidrolisa as proteínas do leite em pequenos peptídeos e aminoácidos que auxiliam o crescimento de *S. thermophilus* (Walstra *et al.*, 2005; Nagaoka, 2018). Devido a essa mútua estimulação com o crescimento combinado dessas bactérias, o ácido láctico é produzido mais rápido do que seria esperado com base na produção individual pelas culturas puras (Walstra *et al.*, 2005).

**Figura 1.** Esquema da estimulação das bactérias do iogurte no leite durante a fermentação. --- formação de ácido láctico; ----- formação de fatores de crescimento; ——— estimulação.



Fonte: Adaptado de WALSTRA et al., (2005).

Em resumo, as culturas bacterianas produzem ácido láctico a partir da lactose, diminuindo o pH do leite, sendo desejável atingir pH 4,6, que corresponde ao ponto isoelétrico (PI) da caseína e também representa um pH importante para inibição de microrganismos patógenos. Conforme o pH diminui com a aproximação do PI da caseína ocorre a solubilização do fosfato de cálcio coloidal, a desestabilização e aumento na interação eletrostática das micelas de caseína, permitindo a agregação com conseqüente formação do gel lácteo, originando o iogurte (Walstra *et al.*, 2005). Durante a fermentação também ocorre a produção de metabólitos secundários, como acetaldeído, acetoína, diacetil e acetato, principais contribuintes para o sabor característico desse produto, que é bastante aceito sensorialmente (Nagaoka, 2018).

Segundo a legislação, o iogurte deve apresentar contagem de bactérias lácticas totais de no mínimo  $10^7$  UFC/g de iogurte até o prazo final de validade do produto. Além disso, o iogurte é classificado quanto ao teor de gordura e adição de outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2007). É válido destacar que não existe uma instrução normativa brasileira que discorre especificamente sobre iogurte produzido com leite de espécies não bovinas. Sendo assim, utiliza-se a Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007 supracitada para fins de normatização de padrões e exigências para iogurtes no geral, incluindo o iogurte de leite de cabra (BRASIL, 2007).

Os iogurtes estão sempre associados a atributos como qualidade nutricional e praticidade (Zhu *et al.*, 2021). Estudos também demonstraram o grande potencial funcional desse derivado lácteo, com melhorias na saúde gastrointestinal e imunológica de seus

consumidores (Hasegawa *et al.*, 2023). O iogurte produzido com leite de vaca é largamente comercializado, aceito e consumido em todo o mundo. Contudo, a utilização do leite de cabra na produção de iogurtes é uma opção bem interessante para obtenção de novos produtos com características nutricionais diferenciadas, especialmente relacionadas a melhor digestibilidade e hipoalergenicidade (Ranadheera *et al.*, 2012; Feng *et al.*, 2019). Além disso, a fermentação do leite de cabra é um processo que pode auxiliar na redução do aroma e sabor fortes característicos desse leite, que muitas vezes é sensorialmente rejeitado por uma parcela da população (Jia *et al.*, 2016).

No entanto, em comparação ao iogurte de leite de vaca, o iogurte produzido com leite de cabra usualmente apresenta um corpo frágil, com menor viscosidade e menor capacidade de retenção de água, que pode estar associado principalmente ao baixo teor de caseína  $\alpha_{S1}$  (Li e Guo, 2006; Zhao *et al.*, 2022). Além destes fatores que podem prejudicar as características do produto final, principalmente em termos de textura de gel e sinérese, o processo de produção de iogurte de leite de cabra também apresenta como desvantagem um longo tempo de fermentação (Miocinovic *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a aplicação da tecnologia de ultrassom (US) isolada ou em combinação com outras estratégias como a suplementação proteica ou a dispersão de alto cisalhamento (DAC), tornam-se alternativas interessantes a serem avaliadas a fim de minimizar os desafios da produção do iogurte de cabra.

### **3. Tecnologia de ultrassom**

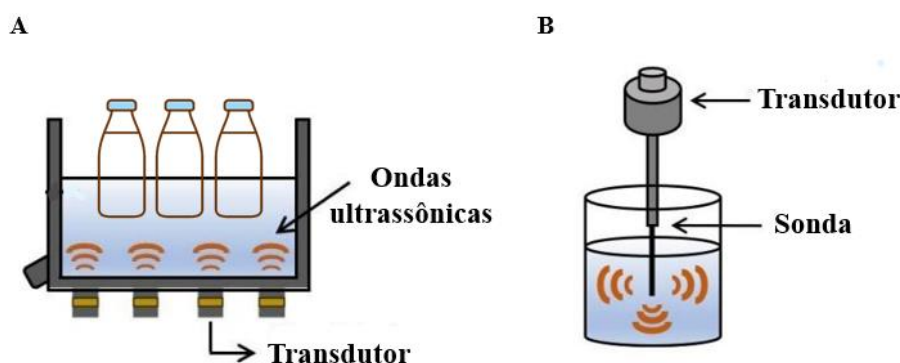
Ultrassom refere-se a ondas sonoras que apresentam frequências acima do alcance da audição humana (~20 kHz). O perfil de aplicação do US pode ser dividido em: (i) alta intensidade - baixa frequência e (ii) baixa intensidade - alta frequência. O US de alta intensidade (10-1000 W/cm<sup>2</sup>) apresenta frequências de ondas que variam entre 20-100 kHz, enquanto o US de baixa intensidade (<1 W/cm<sup>2</sup>) é caracterizado por frequências maiores que 1 MHz (Zhang *et al.*, 2019; Chávez-Martínez *et al.*, 2020).

Os equipamentos ultrassônicos apresentam três componentes essenciais: o gerador de energia; os transdutores, que podem variar em número e localização; e o emissor (sistema de distribuição). O gerador de energia é responsável por transformar a eletricidade em corrente alternada, em seguida o transdutor converte a corrente em energia mecânica na forma de vibrações ultrassônicas produzindo um campo ultrassônico e, por fim, o emissor transmite as vibrações ao meio. Essas vibrações ultrassônicas são aplicadas ao produto alimentício

diretamente utilizando sonotrodos, ou indiretamente por meio de banhos ultrassônicos (Arvanitoyannis *et al.*, 2017; Guimarães *et al.*, 2019).

O banho ultrassônico (Figura 2A) apresenta vários transdutores fixados na parte inferior de um tanque de aço inoxidável, dissipando a energia ultrassônica de forma indireta através do líquido contido no equipamento, sendo normalmente a água. Já no equipamento de ultrassom tipo sonda (Figura 2B) a transmissão da energia ocorre de forma direta em função do transdutor ser acoplado a uma sonda, amplificando o sinal ultrassônico e possibilitando sua inserção no sistema, entrando em contato direto com a amostra. Em comparação ao banho ultrassônico, o US tipo sonda permite o alcance de altas potências, em contrapartida, a intensidade do campo ultrassônico é atenuada ao se distanciar da sonda. Além disso, as sondas ultrassônicas apresentam custo mais elevado e alto nível de desgaste, fatores que podem limitar sua aplicação (Leadley e Williams, 2006; Guimarães *et al.*, 2019). A Figura 2 apresenta uma representação dos dois equipamentos de US mencionados.

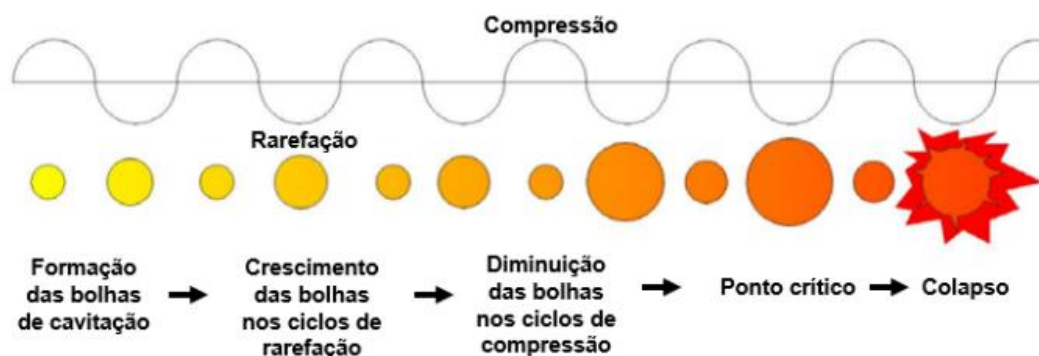
**Figura 2.** Ilustrações dos equipamentos de US. A - Banho ultrassônico e B - US de sonda.



Fonte: Próprio autor

A propagação das ondas geradas pelo US promove ciclos alternados de compressão e rarefação das partículas do meio, possibilitando a formação, expansão e colapso de microbolhas, causando o fenômeno denominado cavitação (Perera e Alzahrani, 2021). A pressão e temperatura são intensamente elevadas dentro das bolhas em implosão, gerando alta energia de cisalhamento e alta turbulência na zona de cavitação (Arvanitoyannis *et al.*, 2017). Além disso, esse violento colapso de bolhas pode promover outros efeitos como microjateamento, microfluxo, agitação, ondas de choque, geração de radicais livres, aumento da transferência de massa, ruptura de materiais celulares, entre outros (Ashokkumar, 2011; Carrillo-Lopez *et al.*, 2021). A Figura 3 demonstra o princípio da cavitação ultrassônica.

**Figura 3.** Princípio de cavitação ultrassônica



Fonte: Adaptado de Carrillo-Lopez *et al.*, (2021)

O US é uma tecnologia operacionalmente simples, de custo relativamente baixo, não tóxica e ecologicamente correta, por isso representa uma tecnologia promissora para aplicação na indústria laticínios visando a obtenção de diferentes efeitos desejáveis (Akdeniz e Akalin, 2019). Nas pesquisas dos últimos anos, o US de alta intensidade, além de ser aplicado para fins de segurança de alimentos pela inativação de microrganismos patogênicos, tem sido empregado para melhorar os parâmetros de processamento e de qualidade do leite fresco, manteiga, sorvete, preparações de proteína de soro de leite e de lácteos fermentados, especialmente o iogurte (Akdeniz e Akalin, 2019; Abesinghe *et al.*, 2019; Carrillo-Lopez *et al.*, 2021).

### 3.1 Aplicação do ultrassom no processamento de iogurte

No processamento de iogurte, a tecnologia de ultrassom é utilizada principalmente para reduzir o tempo de fermentação e promover modificações estruturais nos constituintes do leite que resultam em melhorias na qualidade do gel, como aumento na capacidade de retenção de água, redução da sinérese, aumento da viscosidade e firmeza do iogurte produzido (Akdeniz e Akalin, 2019).

O tempo de fermentação do iogurte é definido como intervalo de tempo entre a adição das culturas lácteas e o momento no qual o pH atinge o valor de 4,6 (Puvanenthiran *et al.*, 2002). Encontram-se na literatura resultados favoráveis sobre o efeito do US na redução do tempo de fermentação láctica (Abesinghe *et al.*, 2019), o que pode gerar economia de energia e redução de tempo de uso de equipamento, reduzindo o custo na produção de iogurte (Yu *et al.*, 2021). Nesse contexto, é importante destacar que os efeitos do US no tempo de fermentação do iogurte, assim como nas propriedades do gel, sofrem grande influência dos parâmetros de processo, como frequência, intensidade acústica, duração do tratamento e momento de aplicação (pré-

tratamento do leite ou fermentação assistida) (Abesinghe *et al.*, 2019), sendo exemplificado no decorrer deste tópico.

A tecnologia de US apresenta capacidade de promover alterações estruturais nos componentes do leite (Carrillo-Lopez *et al.*, 2021). Nos glóbulos de gordura, os efeitos gerados pela cavitação acústica como turbulência, mistura, cisalhamento e alta pressão podem promover a quebra desses glóbulos em diâmetros menores (Chandrapala *et al.*, 2016; Paniwnyk, 2017). A desintegração da membrana dos glóbulos permite a interação com micelas de caseína, que cobrem a superfície dos glóbulos, modificando sua estrutura e impedindo a coalescência (Akdeniz e Akalin, 2019). Karlović *et al.* (2014) submetem o leite de cabra ao tratamento ultrassônico de alta intensidade e constataram que as proteínas do leite, principalmente as caseínas, adsorvem à superfície da membrana dos glóbulos de gordura, atuando como emulsificantes naturais. Os autores concluíram que o US foi capaz de melhorar a estabilidade da emulsão e promover o efeito de homogeneização.

A dispersão da gordura em um número maior de glóbulos de tamanho menores causada pelos efeitos da cavitação permite não somente a interação dos glóbulos com as micelas de caseína, como também proporciona mais espaços livres que facilitam a interação proteína-proteína, melhorando a capacidade de retenção de água. Consequentemente essas modificações evitam o encolhimento da rede do gel lácteo, o que pode promover também uma redução da sinérese (Akdeniz e Akalin, 2019; Chandrapala *et al.*, 2016; Higuera-Barraza *et al.*, 2016).

Em relação à viscosidade, o efeito do tratamento ultrassônico também pode ser atribuído ao aumento da desnaturação das proteínas do soro e à formação de agregados entre as proteínas do soro e as frações de caseína. Os efeitos físicos gerados pela cavitação (turbulência, colisões violentas e forças de cisalhamento) e o aumento da temperatura durante a sonicação podem promover um desdobramento das cadeias peptídicas das proteínas do soro com exposição de grupos tiol. Isso permite a interação das proteínas do soro entre si e, principalmente, com caseínas (principalmente  $\kappa$ -caseína), através de ligações dissulfeto. Dessa forma, as proteínas do soro passam a fazer parte da formação da rede do gel por associação com as micelas de caseína, contribuindo para um aumento na capacidade de retenção de água, resultando em redes mais fortes, que acarreta em um gel lácteo mais firme e, consequentemente, aumenta a viscosidade do iogurte. Além disso, a diminuição do tamanho dos glóbulos de gordura pelo US mencionado anteriormente proporciona uma condição que reforça ainda mais os agregados proteicos e a consistência do gel. Nota-se então que o US tem potencial de modificar propriedades físico-químicas de macromoléculas presentes no leite, como proteínas e gordura. Essas modificações resultam em melhorias na estrutura do gel, aumentando a firmeza e

viscosidade do iogurte produzido com o leite ultrassonicado antes da fermentação (Abesinghe *et al.*, 2019; Akdeniz e Akalin, 2019; Nguyen e Anema, 2017; Shanmugam *et al.*, 2012; Sfakianakis *et al.*, 2015).

Riener *et al.* (2010) relataram que o pré-tratamento ultrassônico (24 kHz, 400W) do leite de vaca à 45 °C por 10 min, permitiu a preparação de iogurtes com propriedades reológicas superiores aos iogurtes controle submetidos ao tratamento térmico convencional (90 °C por 10 min). A análise do perfil de textura e as curvas de fluxo revelaram que os iogurtes produzidos com leite termosonicado apresentavam estruturas de gel mais fortes e exibiam maiores capacidades de retenção de água e menor sinérese.

Em outro estudo, Wu *et al.* (2000) utilizaram o US de sonda (90, 225 e 450 W), frequência de 20 kHz por 1, 6 e 10 minutos, com US sendo aplicado como pré-tratamento do leite de vaca para produção de iogurte. Os autores verificaram que o US produziu um efeito de homogeneização, aumentando de acordo com a elevação do nível de potência. Foi observado também que para ambos os tipos de aplicação (antes ou após a inoculação), o tratamento ultrassônico promoveu um aumento significativo na capacidade de retenção de água e na viscosidade do iogurte produzido, enquanto somente a sonicação após a inoculação causou uma redução do tempo total de fermentação em 0,5 h.

A maioria dos trabalhos encontrados na literatura (Tabela 2) que aplicou o US objetivando melhorias nas características estruturais do iogurte utilizou o pré-tratamento ultrassônico do leite, ou seja, tratamento ultrassônico do leite antes da inoculação das culturas de iogurte. Visto que após a fermentação, os efeitos da sonicação pode influenciar negativamente a rede do gel do iogurte.

**Tabela 2.** Principais estudos utilizando US como pré-tratamento do leite na produção de iogurte

<b>Aplicação</b>	<b>Parâmetros US</b>	<b>Principais efeitos</b>	<b>Referências</b>
Pré-tratamento do leite bovino	US sonda, 20 kHz, 90 W, 225 W e 315 W por 3 e 6 min	Melhor eficiência de homogeneização em comparação ao método convencional; aumento da capacidade de retenção de água	Şengül <i>et al.</i> (2009)
Pré-tratamento do leite bovino	US sonda, 24 kHz, 400 W por 10 min a 72 °C	pH de gelificação mais alto; capacidade de retenção de água e viscosidade aumentadas; microestrutura tipo favo de mel	Riener <i>et al.</i> (2009)

Pré-tratamento do leite bovino	Homogeneizador/disruptor celular ultrassônico, 22,5 kHz, 50 W por até 30 min	Aumento da firmeza ( $G'$ final); desnaturação das proteínas do soro; redução do tamanho das micelas de caseína	Nguyen e Anema (2010)
Pré-tratamento do leite bovino	US sonda, 20 kHz, 150 - 750 W por 10 min	Redução do diâmetro dos glóbulos de gordura; taxa de redução de pH e duração da fase lag menores; aumento na viscosidade	Sfakianakis et al. (2015)

Fonte: Próprio autor

No que se refere a utilização da tecnologia de ultrassom assistindo à fermentação, em um estudo publicado recentemente por Pacheco et al. (2023), foi avaliado o impacto do US assistindo à fermentação parcialmente (1, 2 e 3h) ou em tempo integral, na produção de iogurte de búfala. Os resultados demonstraram que a aplicação do US no início da fermentação por 1 ou 2h promoveu aumento da taxa de fermentação e melhorou a qualidade do iogurte, apresentando maior capacidade de retenção de água (até 35%), índice de consistência (até 423%) e viscosidade aparente (até 246%). Entretanto, o uso do US assistindo à fermentação por 3h ou em tempo integral trouxe impacto negativo na estrutura do iogurte, provavelmente em função da perturbação gerada pelas ondas ultrassônicas durante a formação da rede do gel ( $\text{pH} < 5,1$ ).

Em condições adequadas o US assistindo à fermentação pode potencializar o desempenho das culturas de iogurte, onde o mecanismo de estimulação ultrassônica é principalmente atribuído aos efeitos da sonoporação nas bactérias lácticas (Carrillo-Lopez *et al.*, 2021). A sonoporação refere-se à formação de poros transitórios na membrana celular microbiana em função da sonicação. Um baixo nível de sonoporação tem a capacidade melhorar a permeabilidade da membrana celular microbiana, ampliando a transferência de massa de substratos e nutrientes importantes e auxiliando a remoção de subprodutos e substâncias tóxicas. Este cenário favorece o crescimento e desempenho das bactérias, podendo reduzir o tempo de fermentação do iogurte (Ojha *et al.*, 2017).

Entretanto, quando o US é aplicado em potência muito intensa, pode ocorrer lesões celulares irreparáveis, como quebra e cisalhamento da parede celular microbiana e, conseqüentemente, queda na viabilidade das bactérias. Tal fato reforça a importância do cuidado na seleção dos parâmetros de US para aplicação no processamento do iogurte, visto que a contagem de células viáveis de BAL é um indicador crítico na determinação do prazo de

validade desse produto. Além disso, a inibição dessas culturas de iogurte pode prolongar o tempo de fermentação e acarretar defeitos no gel (Abesinghe *et al.*, 2019).

A aplicação do US no iogurte produzido com leite de cabra ainda é pouco explorada. Delgado *et al.* 2020 aplicaram o tratamento ultrassônico (20 kHz, 300 W) no iogurte de cabra probiótico, ou seja, após a fermentação, durante 3, 6 e 9 minutos. Os autores verificaram que a firmeza e a consistência foram maiores nas amostras sonicadas por 6 min no iogurte fresco comparadas ao controle, em contrapartida, no 14º dia de armazenamento todos os iogurtes tratados por US resultaram em amostras menos firmes e de consistência inferior ao controle. Por fim, atestou-se que a aplicação direta de US no iogurte interferiu negativamente na viabilidade das bactérias probióticas.

Em outro estudo, Ragab *et al.* (2023) avaliaram os efeitos do pré-tratamento ultrassônico do leite de cabra (frequência de 20 kHz, potência de saída de 4000 W e amplitude de 25% a 60°C por 5, 10 e 15 min) nas características do iogurte. Observou-se que o US de alta intensidade por 15 min foi o melhor para reduzir o diâmetro dos glóbulos de gordura. Além disso, foi verificado pela microestrutura que o iogurte produzido com o leite pré-tratado por US apresentou cadeias mais interligadas, aumento na viscosidade, diminuição da sinérese e propriedades sensoriais superiores ao controle. Nota-se então que o US apresenta grande potencial para ser utilizado para melhorar os atributos de qualidade do iogurte de cabra.

## **3.2 Aplicação do US em combinação com outras estratégias na produção do iogurte**

### **3.2.1 Dispersão de alto cisalhamento**

O ultrassom pode ser utilizado em combinação com outras tecnologias, como a homogeneização convencional ou à alta pressão, alta pressão isostática e a dispersão de alto cisalhamento (DAC). A DAC gera uma rotação rápida produzindo gradientes de velocidade com altas taxas de cisalhamento que são capazes de promover alterações nos macroconstituintes do leite, principalmente nos glóbulos de gordura (Da Capela *et al.*, 2022). Desta forma, seu uso combinado é como uma estratégia promissora para otimizar os benefícios promovidos pelo US na produção do iogurte.

Os dispersores de alto cisalhamento, também denominados misturadores rotor-estator ou homogeneizadores de alto cisalhamento têm sido aplicados em processos como dispersão, homogeneização, emulsificação e dissolução, na fabricação de alimentos e nas indústrias químicas (Zhang *et al.*, 2012). Existem muitos designs disponíveis no mercado, diferindo ligeiramente na geometria, sendo o equipamento mais utilizado em escala laboratorial o dispersor Ultra-Turrax®, fabricado pela empresa IKA. Este equipamento consiste em um rotor

dentro de um estator estacionário, no qual a alta velocidade circunferencial do dispositivo faz com que o meio a ser processado seja atraído axialmente em direção à cabeça de dispersão e posteriormente forçado a passar pelos orifícios do estator, produzindo altas forças de cisalhamento e, conseqüentemente, acarretando diversas modificações no meio processado (Cano-Sarmiento *et al.*, 2015). Os efeitos laminares e turbulentos provocados pela rotação desse equipamento são eficientes para misturar os alimentos de forma rápida e uniforme, por conseguinte, a DAC é amplamente utilizada na preparação de dispersões proteicas (Zhou *et al.*, 2019).

Estudos na literatura verificaram que a DAC é capaz de promover, principalmente, redução no tamanho de partículas. Zhou et al. (2019) observaram que o homogeneizador de alto cisalhamento (14.500 rpm) reduziu o tamanho das partículas e desdobrou as proteínas miofibrilares alterando suas estruturas secundárias, terciárias e quaternárias, o que melhorou suas propriedades emulsificantes. Da Capela et al., (2022) constatou que a DAC (25.000 rpm/5 min) foi capaz de reduzir o tamanho dos glóbulos de gordura do creme de leite de cabra, influenciando a estabilidade do creme e favorecendo a atividade enzimática da lipase. Em outro trabalho, BI et al. (2014) avaliaram a DAC (4.000 - 16.000 rpm) na homogeneização de dispersões de isolado de proteína de soja. Os resultados constataram que essa tecnologia reduziu significativamente o tamanho das partículas e reduziu também o índice de polidispersidade das dispersões. Além disso, os géis produzidos com as dispersões homogeneizadas apresentaram redução de poros em sua microestrutura, maior compactação e melhor resistência.

Dessa forma, a combinação da tecnologia de ultrassom com a dispersão de alto cisalhamento pode ser interessante para atuar de forma sinérgica na produção de iogurte, potencializando os efeitos sobre os constituintes do leite e, conseqüentemente, resultando otimização dos processos e melhorias na qualidade do gel. Entretanto, existe uma lacuna no conhecimento científico, uma vez que na literatura não houve nenhum estudo que avaliou a combinação dessas tecnologias no pré-tratamento do leite para a produção do iogurte de cabra, isso ratifica a necessidade do desenvolvimento de pesquisas com essa abordagem.

### **3.2.2 Suplementação proteica**

O procedimento mais utilizado para melhorar as propriedades reológicas de iogurtes é o aumento de sólidos totais pela adição de ingredientes, como proteínas do soro do leite (Tian *et al.*, 2022). A demanda por iogurtes suplementados com concentrado ou isolado proteico do soro de leite vem aumentando nos últimos anos devido às suas propriedades sensoriais desejáveis, especialmente em termos de textura, e aos seus benefícios à saúde (Hossain *et al.*,

2020; Gantumur *et al.*, 2024). Além de ser fonte de cálcio e aminoácidos essenciais para a saúde do corpo humano, o iogurte com alto teor proteico apresenta uma forma alternativa de fortalecer a estrutura da rede de gel dos iogurtes (Mitra *et al.*, 2022). Adicionalmente, a aplicação da tecnologia de US no pré-tratamento do leite suplementado pode promover alterações estruturais nas proteínas que podem resultar em melhorias nas propriedades texturais e técnico-funcionais do iogurte produzido (Abesinghe *et al.*, 2019; Akdeniz e Akalin, 2019).

Foi relatado que o tratamento com sonda ultrassônica (20 kHz, 600W, 15 min) no isolado proteico de soro de leite bovino foi capaz de promover redução no tamanho de partícula, aumento da superfície livre específica das proteínas do soro e alterações na composição do peso molecular das frações proteicas (Jambrak *et al.*, 2014). Verificou-se também que as modificações estruturais das proteínas do soro causada pelos efeitos da cavitação ultrassônica melhora as propriedades de gelificação, aumentando a capacidade de retenção de água e a viscosidade (Carrillo-Lopez *et al.*, 2021). Além disso, também foi constatado que o US apresenta potencial de melhorar a solubilidade, propriedades emulsificantes e espumantes de isolado de proteína de soro de leite bovino (Jambrak *et al.*, 2008).

Tendo em vista que grande parte dos trabalhos disponíveis na literatura acerca da suplementação proteica em iogurtes utilizaram leite de vaca, nota-se a necessidade do desenvolvimento de estudos com leite de cabra. Paralelamente, percebe-se também que o uso combinado da suplementação com a aplicação de processos físicos de pré-tratamento do leite como ultrassom e a dispersão de alto cisalhamento, pode ser uma alternativa extremamente interessante para melhorar, principalmente, os aspectos texturais do iogurte de cabra.

## Referências

- ABESINGHE, A. M. N. L.; ISLAM, N.; VIDANARACHCHI, J. K.; PRAKASH, S.; SILVA, K. F. S. T.; KARIM, M. A. Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v. 90, p. 1–14, 2019.
- AHMED, A. S.; EL-BASSIONY, T.; ELMALT, L. M.; IBRAHIM, H. R. Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins. **Food Research International**, v. 74, p. 80-88, 2015.
- AKDENIZ, V.; AKALIN, A.S. New approach for yoghurt and ice cream production: High-intensity ultrasound. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 392-398, 2019.

ARAUJO, D. F.; GUERRA, G. C.; PINTADO, M. M. E.; SOUSA, Y. R.; ALGIERI, F.; RODRIGUEZ-NOGALES, A.; RODRIGUEZ-CABEZAS, M. E. Intestinal anti-inflammatory effects of goat whey on DNBS-induced colitis in mice. **PLoS One**, v. 12, n. 9, p. e0185382, 2017.

ARVANITTOYANNIS, I. S.; KOTSANOPOULOS, K. V.; SAVVA A.G. Use of ultrasound in the food industry - Methods and effects on the quality, safety and organoleptic characteristics of foods: a review. **Rev Food Sci Nutr.**, v. 57, p. 109 – 128, 2017.

ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles—an overview. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 864-872, 2011.

AZNAR, L. A. M.; RAL, P. C.; ANTA, R. M. O.; MARTÍN, J. J. D.; BALADIA, E.; BASULTO, J. et al. Scientific evidence about the role of yogurt and other fermented milks in the healthy diet for the Spanish population. **Nutricion hospitalaria**, v. 28, n. 6, p. 2039-2089, 2013.

BI, C. H.; LI, D.; WANG, L. J.; GAO, F.; ADHIKARI, B. Effect of high shear homogenization on rheology, microstructure and fractal dimension of acid-induced SPI gels. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 48-55, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 37, de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. n° 205, Seção 1, p.4.

CANO-SARMIENTO, C.; ALAMILLA-BELTRÁN, L.; AZUARA-NIETO, E.; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H.; TÉLLEZ-MEDINA, D. I.; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, C.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, G. F. High shear methods to produce nano-sized food related to dispersed systems. **Food nanoscience and nanotechnology**, p. 145-161, 2015.

CARRILLO-LOPEZ, L. M.; GARCIA-GALICIA I. A.; TIRADO-GALLEGOS, J. M.; SANCHEZ-VEGA, R.; HUERTA-JIMENEZ, M.; ASHOKKUMAR, M.; ALARCON-ROJO, A. D. Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 73, p.105467, 2021.

CHANDAN, R.C.; O'RELL, K.R. Principles of yogurt processing. Manufacturing yogurt and fermented milks. **Oxford: Blackwell Publishing Ltd.**, p.211-236, 2006.

CHANDRAPALA, J.; ONG, L.; ZISU, B.; GRAS, S. L.; ASHOKKUMAR, M.; KENTISH, S. E. The effect of sonication and high pressure homogenization on the properties of pure cream. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 298-307, 2016.

CHÁVEZ-MARTÍNEZ, A.; REYES-VILLAGRANA, R. A.; RENTERÍA-MONTEERRUBIO, A.L.; SÁNCHEZ-VEGA, R.; TIRADO-GALLEGOS, J. M.; BOLIVAR-JACOBO, N. A. Low and high-intensity ultrasound in dairy products: applications and effects on physicochemical and microbiological quality. **Foods**, v. 9, p.1688, 2020.

DA CAPELA, A. P.; TRIBST, A. A. L.; AUGUSTO, P. E. D.; LEITE JÚNIOR, B. R. D. C. L. Use of physical processes to maximize goat milk cream hydrolysis: Impact on structure and enzymatic hydrolysis. **Food Research International**, v. 156, p. 111343, 2022.

DANTAS, D. L. S.; VIERA, V. B.; SOARES, J. K. B.; DOS SANTOS, K. M. O.; DO EGITO, A. S.; DE FIGUEIRÊDO; R. M. F.; DE OLIVEIRA, M. E. G. *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. **LWT**, v. 158, p. 113165, 2022.

DELGADILLO-PUGA, C.; NORIEGA, L. G.; MORALES-ROMERO, A. M.; NIETO-CAMACHO, A.; GRANADOS-PORTILLO, O.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, L. A. et al. Goat's milk intake prevents obesity, hepatic steatosis and insulin resistance in mice fed a high-fat diet by reducing inflammatory markers and increasing energy expenditure and mitochondrial content in skeletal muscle. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5530, 2020.

DELGADO JÚNIOR. I. J.; SIQUEIRA, K. B. STOCK, L. A. Produção, composição e processamento de leite de cabra no Brasil. **Circular Técnica 122**, ed. 1, Juiz de Fora MG: EMBRAPA, 2020.

DELGADO, K.; VIEIRA, C.; DAMMAK, I.; FRASÃO, B.; BRÍGIDA, A.; COSTA, M.; CONTE-JUNIOR, C. Different ultrasound exposure times influence the physicochemical and microbial quality properties in probiotic goat milk yogurt. **Molecules**, v. 25, n. 20, p. 4638, 2020.

DOS SANTOS, W. M.; GOMES, A. C. G.; NOBRE, M. S. D. C.; PEREIRA, Á. M. D. S.; PEREIRA, E. V. D.S. et al. Goat milk as a natural source of bioactive compounds and strategies to enhance the amount of these beneficial components. **International Dairy Journal**, v. 137, p. 105515, 2022.

FAOstat (2022a). Banco de dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Banco de dados de estatísticas, estatísticas de colheita. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> Acesso em: 11 abril 2023.

FAOstat (2022b). Banco de dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação. Contas de utilização de suprimentos. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/SCL>> Acesso em: 11 abril 2023.

FATCHIYAH, F.; HARDIYANTI, F.; WIDODO, N. Selective inhibition on RAGE-binding AGEs required by bioactive peptide alpha-S2 case in protein from goat Ethawah breed milk: study of biological modeling. **Acta informatica medica**, v. 23, n. 2, p. 90, 2015.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A.; WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y.; ZHANG, F. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. **Food chemistry**, v. 277, p. 238-245, 2019.

FISBERG, M.; MACHADO, R. History of yogurt and current patterns of consumption. **Nutrition reviews**, v. 73, n. suppl\_1, p. 4-7, 2015.

GANTUMUR, M. A.; SUKHBAATAR, N.; JIANG, Q.; ENKHTUYA, E.; HU, J.; GAO, C.; LI, A. Effect of modified fermented whey protein fortification on the functional, physical, microstructural, and sensory properties of low-fat yogurt. **Food Control**, v. 155, p. 110032, 2024.

GUIMARÃES, J. T.; BALTHAZAR, C. F.; SCUDINO, H.; PIMENTEL, T. C.; ESMERINO, E. A. et al. High-intensity ultrasound: A novel technology for the development of probiotic and prebiotic dairy products. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 57, p. 12-21, 2019.

HAMMAM A. R. A.; SALMAN, S. M.; ELFARUK, M. S.; ALSALEEM, K. A. Goat Milk: Compositional, Technological, Nutritional, and Therapeutic Aspects. **Preprints**, 2021.

HASEGAWA, Y.; BOLLING, B. W. Yogurt consumption for improving immune health. **Current Opinion in Food Science**, p. 101017, 2023.

HIGUERA-BARRAZA, O. A.; DEL TORO-SANCHEZ, C. L.; RUIZ-CRUZ, S.; MÁRQUEZ-RÍOS, E. Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 31, p. 558-562, 2016

HOSSAIN, M. K.; KEIDEL, J.; HENSEL, O.; DIAKITÉ, M. The impact of extruded microparticulated whey proteins in reduced-fat, plain-type stirred yogurt: Characterization of physicochemical and sensory properties. **LWT**, v. 134, p. 109976, 2020.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2017. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/9001#resultado>>. Acesso em: 11 abril 2023.

- IBRAHIM, H. R.; AHMED, A. S.; MIYATA, T. Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk. **Journal of advanced research**, v. 8, n. 1, p. 63-71, 2017.
- JAMBRAK, A. R.; MASON, T. J.; LELAS, V.; HERCEG, Z.; HERCEG, I. L. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. **Journal of food engineering**, v. 86, n. 2, p. 281-287, 2008.
- JAMBRAK, A. R.; MASON, T. J.; LELAS, V.; PANIWNYK, L.; HERCEG, Z. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. **Journal of Food engineering**, v. 121, p. 15-23, 2014.
- JIA, R.; CHEN, H.; CHEN, H.; DING, W. Effects of fermentation with *Lactobacillus rhamnosus* GG on product quality and fatty acids of goat milk yogurt. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 1, p. 221-227, 2016.
- KARLOVIĆ, S.; BOSILJKOV, T.; BRNČIĆ, M.; SEMENSKI, D.; DUJMIĆ, F.; TRIPALO, B.; JEŽEK, D. Reducing fat globules particle-size in goat milk: ultrasound and high hydrostatic pressures approach. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 28, n. 4, p. 499-507, 2014.
- LAD, S. S.; APARNATHI, K. D.; MEHTA, B.; VELPULA, S. Goat milk in human nutrition and health—a review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 5, p. 1781-1792, 2017.
- LARA-VILLOSLADA, F.; DEBRAS, E.; NIETO, A.; CONCHA, A.; GÁLVEZ, J.; LÓPEZ-HUERTAS, E.; XAUS, J. Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of dextran sodium sulfate-induced colitis. **Clinical Nutrition**, v. 25, n. 3, p. 477-488, 2006.
- LEADLEY, C. E.; WILLIAMS, A. Pulsed Electric Field Processing, Power Ultrasound and Other Emerging Technologies. **Food Processing Handbook**, cap 7., 2006.
- LI, J; GUO, M. Effects of polymerized whey proteins on consistency and water-holding properties of goat's milk yogurt. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 1, p. C34-C38, 2006.
- LI, S.; DELGER, M.; DAVE, A.; SINGH, H.; YE, A. Seasonal variations in the composition and physicochemical characteristics of sheep and goat milks. **Foods**, v. 11, n. 12, p. 1737, 2022
- MARCO, M. L.; HEENEY, D.; BINDA, S.; CIFELLI, C. J.; COTTER, P. D.; FOLIGNÉ, B. Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, p. 94-102, 2017.

- MAZZAGLIA, A.; LEGAROVÁ, V.; GIAQUINTA, R.; LANZA, C. M.; RESTUCCIA, C. The influence of almond flour, inulin and whey protein on the sensory and microbiological quality of goat milk yogurt. **LWT**, v. 124, p. 109138, 2020.
- MIOCINOVIC, J.; MILORADOVIC, Z.; JOSIPOVIC, M.; NEDELJKOVIC, A.; RADOVANOVIC, M.; PUDJA, P. Rheological and textural properties of goat and cow milk set type yoghurts. **International Dairy Journal**, v. 58, p. 43-45, 2016.
- MITRA, P.; NEPAL, K.; TAVADE, P. Effect of whey and soy proteins fortification on the textural and rheological properties of value-added yogurts. **Applied Food Research**, v. 2, n. 2, p. 100195, 2022.
- MORENO-MONTORO, M.; OLALLA-HERRERA, M.; RUFÍAN-HENARES, J. Á.; MARTÍNEZ, R. G.; MIRALLES, B.; BERGILLOS, T. et al. ACE-inhibitory and antimicrobial activity of fermented goat milk: activity and physicochemical property relationship of the peptide components. **Food & Function**, v. 8, n. 8, p. 2783-2791, 2017.
- NAGAOKA S. Yogurt Production. **Methods in Molecular Biology**, p. 45–54, 2018.
- NAYIK, G. A.; JAGDALE, Y. D.; GAIKWAD, S. A.; DEVKATTE, A. N.; DAR, A. H.; DEZMIREAN, D. S. et al. Recent insights into processing approaches and potential health benefits of goat milk and its products: a review. **Frontiers in Nutrition**, p. 1033, 2021.
- NGUYEN, N. H.; ANEMA, S. G. Effect of ultrasonication on the properties of skim milk used in the formation of acid gels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 11, n. 4, p. 616-622, 2010.
- NGUYEN, N. H.; ANEMA, S. G. Ultrasonication of reconstituted whole milk and its effect on acid gelation. **Food Chemistry**, v. 217, p. 593-601, 2017.
- OJHA, K. S.; MASON, T. J.; O'DONNELL, C. P.; KERRY, J. P.; TIWARI, B. K. Ultrasound technology for food fermentation applications. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 410–417, 2017.
- PACHECO, F. C.; DE FÁTIMA TEIXEIRA, E.; PACHECO, A. F. C.; PAIVA, P. H. C.; TRIBST, A. A. L.; JÚNIOR, B. R. D. C. L. Impact of ultrasound-assisted fermentation on buffalo yogurt production: Effect on fermentation kinetic and on physicochemical, rheological, and structural characteristics. **Applied Food Research**, v. 3, n. 2, p. 100338, 2023.
- PANIWNYK, L. Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 794-806, 2017.

- PERERA, C. O.; ALZHRANI, M. A. J. Ultrasound as a pretreatment for extraction of bioactive compounds and food safety: A review. **LWT - Food Science and Technology**, v. 142, n. February, p. 111114, 2021.
- PROSSER, C. G. Compositional and functional characteristics of goat milk and relevance as a base for infant formula. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 2, p. 257-265, 2021.
- PULINA, G.; MILÁN, M. J.; LAVÍN, M. P.; THEODORIDIS, A.; MORIN, E., et al. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. **Journal of Dairy Science**, v. 101, p. 6715-6729, 2018.
- PUVANENTHIRAN, A.; WILLIAMS, R. P. W.; AUGUSTIN, M. A. Structure and viscoelastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. **International Dairy Journal**, v. 12, n. 4, p. 383-391, 2002.
- RAGAB, E. S.; ZHANG, S.; KORMA, S. A.; BUNIEWSKA-OLEJNIK, M.; NASSER, S. A. A.; ESATBEYOGLU, T.; NASSAR, K. S. Physicochemical and Rheological Properties of Stirred Yoghurt during Storage Induced from High-Intensity Thermosonicated Goat and Cow Milk. **Fermentation**, v. 9, n. 1, p. 42, 2023.
- RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M.C.; BAINES, S.K. Probiotic viability and physic-chemical and sensory properties of plain and stired fruit yogurts made from goat's milk. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 411-418, 2012.
- RAULT, A.; BOUIX, M.; BÉAL, C. Fermentation pH influences the physiological-state dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-controlled culture. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, p. 4374-4381, 2009.
- RIENER, J.; NOCI, F.; CRONIN, D. A.; MORGAN, D. J.; LYNG, J. G. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1108-1113, 2010.
- RIENER, J.; NOCI, F.; CRONIN, D. A.; MORGAN, D. J.; LYNG, J. G. The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 905-911, 2009.
- ROBINSON, R.K. Yogurt, role of yogurt cultures. In: Roginski, H., Fuquay, J.W. and Fox, P.F., editors. **Encyclopedia of Dairy Science**, v.2, p. 1059 – 1063, 2003.
- ŞENGÜL, M.; BAŞLAR, M.; ERKAYA, T.; ERTUGAY, M. F. The effect of ultrasonic homogenization on water holding capacity of yogurt. **GIDA-Journal of Food**, v. 34, n. 4, p. 219-222, 2009.

- SFAKIANAKIS, P.; TOPAKAS, E.; TZIA, C. Comparative study on high-intensity ultrasound and pressure milk homogenization: Effect on the kinetics of yogurt fermentation process. **Food and bioprocess technology**, v. 8, p. 548-557, 2015.
- SHANMUGAM, A.; CHANDRAPALA, J.; ASHOKKUMAR, M. The effect of ultrasound on the physical and functional properties of skim milk. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 16, p. 251-258, 2012.
- SIEUWERTS, S. Microbial Interactions in the Yoghurt Consortium: Current Status and Product Implications. **SOJ Microbiology & Infectious Diseases**, v. 4, n. 2, p. 1-5, 2016.
- SLAČANAC, V.; BOŽANIĆ, R.; HARDI, J.; SZABÓ, J. R.; LUČAN, M.; KRSTANOVIĆ, V. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, p. 171-189, 2010.
- SOUSA, Y. R.; MEDEIROS, L. B.; PINTADO, M. M. E.; QUEIROGA, R. C. Goat milk oligosaccharides: Composition, analytical methods and bioactive and nutritional properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 152-161, 2019.
- TIAN, M.; CHENG, J.; WANG, H.; XIE, Q., WEI, Q.; GUO, M. Effects of polymerized goat milk whey protein on physicochemical properties and microstructure of recombined goat milk yogurt. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 6, p. 4903-4914, 2022.
- VERRUCK, S.; DANTAS, A.; PRUDENCIO, E. S. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. **Journal of functional foods**, v. 52, p. 243-257, 2019.
- WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T.; GEURTS, T. J. **Dairy science and technology**. CRC press, 2005.
- WU, H.; HULBERT, G. J.; MOUNT, J. R. Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 1, n. 3, p. 211-218, 2000.
- YU, Z.; SU, Y.; ZHU, P.; MEI, Z.; ZHOU, X.; YU, H. Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. **Food Chemistry**, v. 357, p. 129805, 2021.
- YURCHENKO, S.; SATS, A.; TATAR, V.; KAART, T.; MOOTSE, H.; JÕUDU, I. Fatty acid profile of milk from Saanen and Swedish Landrace goats. **Food Chemistry**, v. 254, p. 326-332, 2018.

ZHANG, J., XU, S., & LI, W. High shear mixers: A review of typical applications and studies on power draw, flow pattern, energy dissipation and transfer properties. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 57, p. 25-41, 2012.

ZHANG, Z. H.; WANG, L. H.; ZENG, X. A.; HAN, Z.; BRENNAN C. S. Non-thermal technologies and their current and future application in the food industry: a review. **Int. J. Food Sci. Technol.**, v. 54, p. 1-13, 2019.

ZHAO, X.; CHENG, M.; WANG, C.; JIANG, H.; ZHANG, X. Effects of dairy bioactive peptides and lotus seeds/lily bulb powder on flavor and quality characteristics of goat milk yogurt. **Food Bioscience**, v. 47, p. 101510, 2022.

ZHOU, L., FENG, X., YANG, Y., CHEN, Y., TANG, X., WEI, S., & LI, S. Effects of high-speed shear homogenization on the emulsifying and structural properties of myofibrillar protein under low-fat conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 14, p. 6500-6508, 2019.

ZHU, Y.; JAIN, N.; HOLSCHUH, N.; SMITH, J. Associations between frequency of yogurt consumption and nutrient intake and diet quality in the United Kingdom. **Journal of Nutritional Science**, v. 10, p. e85, 2021.

## CAPÍTULO 2

### **Strategies to improve the quality of goat yogurt: whey protein supplementation and milk treatment with high-shear dispersion assisted by ultrasound**

Trabalho publicado na revista Foods. Xavier, L. S.; Pacheco, F. C., Nalon, G. A.; Cunha, J. S.; Santos, F. R. D.; Pacheco, A. F. C.; Tribst, A. A. L.; Leite Júnior, B. R. D. C. Strategies to improve the quality of goat yogurt: whey protein supplementation and milk treatment with high-shear dispersion assisted by ultrasound. **Foods**, v. 13, n. 10, p. 1558, 2024.

## CAPÍTULO 2

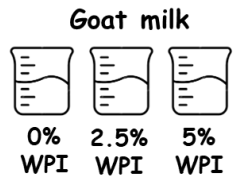
### **Strategies to improve the quality of goat yogurt: whey protein supplementation and milk treatment with high-shear dispersion assisted by ultrasound**

**Abstract:** This work investigated the fermentation kinetics and characteristics of goat yogurt supplemented with bovine whey protein isolate (WPI) (0%, 2.5% and 5.0%) subjected to high shear dispersion (HSD) assisted by ultrasound (US). Protein supplementation and the physical processes increased the electronegativity of the zeta potential ( $\leq 60\%$ ), whereas particle size was reduced only by physical processes ( $\leq 42\%$ ). The addition of 2.5% WPI reduced the yogurt fermentation time by 30 minutes. After 24h of storage at 7 °C, lactic acid bacteria counts did not differ between samples ( $\geq 8 \log \text{CFU/mL}$ ) and the supplementation was sufficient to increase the apparent viscosity ( $\leq 5.65$  times) and water holding capacity (WHC) of the yogurt ( $\leq 35\%$  increase). However, supplementation combined with physical processes promoted greater improvements in these parameters (6.41 times in apparent viscosity and 48% in WHC) ( $p < 0.05$ ), which were confirmed by denser and better organized protein clusters as verified in the microscopic evaluation. Thus, both approaches proved to be promising alternatives to improve the goat yogurt quality, especially the application of the physical process that allowed the reduction of the concentration of added protein. Therefore, the decision to adopt these strategies, either independently or in combination, should consider cost implications, the product quality, and market demand.

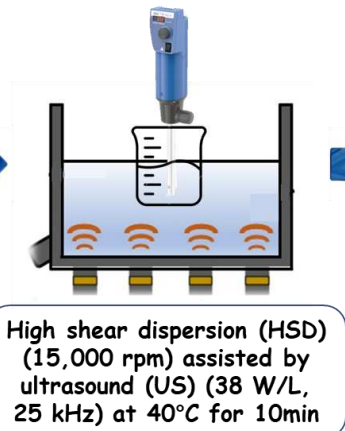
**Keywords:** emerging technologies, non-bovine milk, fermentation, protein fortification, yogurt stability, rheology.

## Graphical abstract

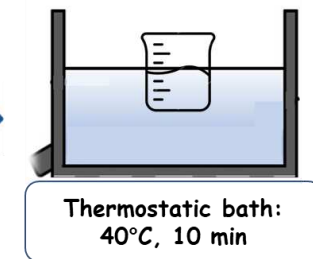
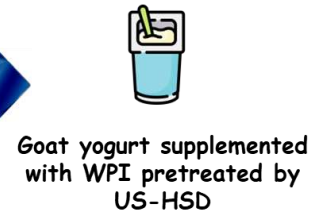
### Whey protein isolate (WPI) supplementation



### Application of physical processes in milk



### Yogurt fermentation and production



### Milk

US-HSD pretreatment reduced particle size by up to 42%

WPI and US-HSD increased the  $\zeta$  electronegativity (60%)

### Fermentation

The addition of 2.5% WPI reduced the yogurt fermentation time by 30 min

### Yogurt quality

WPI + US-HSD increased apparent viscosity (6.41 times) and water retention capacity by up to 48%

Both strategies proved to be promising alternatives to improve the goat yogurt quality

## 1. Introduction

Goat milk production is growing worldwide, and it is expected a 53%-increase by 2030 (Pulina et al., 2018; FAOstat, 2022). Compared to cow milk, goat milk has smaller fat globules and lower  $\alpha_{s1}$ -casein content, which improves milk digestibility and reduces its allergenicity, respectively, compared to cow milk (Verruck et al., 2019; Ma et al., 2023). Additionally, this milk contains health-promoting compounds such as conjugated linoleic acids, oligosaccharides, and bioactive peptides (Dantas et al., 2022).

Despite the benefits regarding lower allergenicity, the low content of  $\alpha_{s1}$ -casein in goat milk negatively affects the yogurt consistency and water holding capacity (Tian et al. 2022; Liu et al., 2023). In this scenario, different strategies have been used to improve the textural properties of goat yogurt, including the incorporation of thickeners and fibers (Bruzantin et al., 2016; Dantas et al., 2022; Zhao et al., 2022; Elkot et al., 2023), application of protein-modifying enzymes, such as microbial transglutaminases (Domagała et al., 2007), and treatment with physical processes able to alter the structure and interactions of the protein matrix and fat globules (Ma et al., 2023).

Ultrasound (US) and high shear dispersion (HSD) are potential emerging technologies to be used in goat milk to enhance the rheological aspects of yogurt produced. US is an operationally simple, relatively low-cost, non-toxic, and environmentally friendly technology (Akdeniz & Akalin, 2019). Sonication is able to alter lactic acid bacteria (LAB) porosity and cause partial denaturation of proteins and to reduce fat globule size of cow milk, reducing yogurt fermentation time and improving water retention capacity, gel viscosity and reduced syneresis (Ojha et al., 2017; Abesinghe et al., 2019; Akdeniz & Akalin, 2019; Carrillo-Lopez et al. 2021). However, the goat milk pretreatment with US to improve yogurt quality remains underexplored, with works restricted to probe ultrasonic application (Delgado et al. 2020; Ragab et al. 2023). Furthermore, the high shear dispersion (HSD), also known as rotor-stator mixer or high shear homogenizer, able to produce high shear rates due to centrifugal forces given by the equipment rotation (Zhang et al., 2012) that can reduce fat globules size of milk (Capela et al. 2022), potentially can improve the goat yogurt gel quality.

Protein supplementation is another strategy to increase yogurt consistency. The use of whey proteins has stood out for this propose, as its incorporation promotes textural improvements and provides health benefits due to its functional properties (Zhao et al., 2016; Fang & Guo, 2019; Gantumur et al., 2024).

Although these strategies are listed in the literature, no previous study has investigated the outcomes magnitude of each strategy alone or together to improve the overall quality of

goat yogurt. Therefore, considering the importance of this subject from industrial and scientific perspective, this work evaluated the effect of these strategies on the fermentation profile and physicochemical, rheological, and microstructural characteristics of the goat yogurt.

## **2. Material and Methods**

### **2.1 Goat milk, whey supplementation and cultures**

Raw goat milk was acquired from the goat farming sector of the University of Viçosa. For supplementation, a commercial bovine whey protein isolate (WPI) (NewNutrition, Ribeirão Preto, Brazil) with 90% protein was used. The commercial yogurt culture SLB 95 (Diagrama, Santa Fe, Argentina) with *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* was used for milk fermentation.

### **2.2 Milk pretreatment by ultrasound-assisted high shear dispersion (US-HSD)**

One-liter portions of goat milk were separated and WPI was added at different concentrations (0%, 2.5% and 5%) (w/v). At room temperature, samples were stirred using a magnetic stirrer (Fisatom, model 752A/ 6, Brazil) at 700 rpm for 5 min. Subsequently, the mixtures were subjected to high shear dispersion pretreatment (Ultra-Turrax®, model T-18 Basic, Ika, Germany) at 15,000 rpm assisted by ultrasound for 10 minutes at 40 °C. The ultrasonic bath (Unique, model USC 2800 A, Brazil) used to couple the high shear disperser has temperature control, volumetric capacity of 9.5 L, frequency of 25 kHz and volumetric power of 38 W/L, verified using the calorimetric method [25]. For comparative purpose, supplemented samples (0%, 2.5%, and 5% WPI) not subjected to physical processes were placed in a thermostatic bath at 40 °C for 10 minutes. The sample not supplemented (0% WPI) and not subjected to physical processes was defined as control.

### **2.3 Mean particle size and zeta potential of goat milk after pretreatment by US-assisted HSD**

The mean particle size (MPS) and zeta potential ( $\zeta$ ) of the samples were determined before heat treatment, following the procedures reported by Soares et al. (2019), but modifying the dilution to 1:100, and using water as the diluent. The analyzes were carried out at  $25.0 \pm 0.1$  °C on the Zetasizer Nano ZS equipment (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, United Kingdom).

## 2.4 Goat yogurt fermentation

After pre-treatments, the samples were pasteurized (80 °C/30 min), followed by cooling to 42°C for inoculation of the yogurt culture at 10<sup>6</sup> CFU/mL. After, the samples were fermented at 42 °C and samples pH were measured at 30-minutes intervals until samples reach pH 4.6. The pH values were adjusted using the Gompertz equation (Equation 1) adapted by De Brabandere & Baerdemaeker (1999) to obtain the lag phase ( $\lambda$ ), the maximum rate of pH decrease ( $\mu$ ) and total fermentation time (Equation 1 - Eq. 1).

$$pH = pH_0 + (pH_{\infty} - pH_0) \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{\mu e}{(pH_{\infty} - pH_0)} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \text{ (Eq. 1)}$$

where:  $pH_0$  = pH at the beginning of fermentation,  $pH_{\infty}$  = pH at the end of fermentation,  $\mu$  = maximum rate of pH decrease (h<sup>-1</sup>),  $\lambda$  = lag phase (h),  $e$  (Euler number) = mathematical constant, approximately equal to 2.71828, and  $t$  = time (h). The parameters  $\lambda$  and  $\mu$  from Equation 1 were obtained through non-linear regressions using CurveExpert Professional software (version 2.6.5, Hyams Development, Chattanooga, USA) at a 95% confidence level ( $p < 0.05$ ).

The yogurts were stored at 7 °C for 24h and then stirred using a metal spatula (30 times clockwise, 30 times counterclockwise) to homogenization (Tribst et al., 2020). Then, the viability of lactic acid bacteria and physicochemical, rheological, microstructural analyzes were determined.

## 2.5 Physicochemical analyzes and LAB viability

The pH and titratable acidity (% lactic acid) were determined based on the procedures described by AOAC (1999). Water holding capacity (WHC) was performed following the procedures described by Ercili-Cura et al. (2013). The WHC was calculated by Equation 2 – Eq.2. The LAB viability was determined according to IDF (2003).

$$WHC (\%) = \frac{\text{weight of the pellet (g)}}{\text{initial weight (g)}} \times 100 \text{ (Eq.2)}$$

## 2.6 Rheological analyzes

The rheological behavior of yogurts was evaluated following the methodology described by Pacheco et al. [19] using a concentric cylinder rotational rheometer (Brookfield, model R/S plus SST 2000). The data were fitted to the Ostwald-de-Waele model (Equation (3)) using the Curve Expert Professional (version 2.6.5, Hyams Development, Chattanooga, USA)

at a 95% confidence level ( $p < 0.05$ ). To calculate the apparent viscosity ( $\eta$ , Pa·s) of the yogurt samples, the values of  $k$  and  $n$  were used at shear rates of 50 and 100 s<sup>-1</sup>.

$$\sigma = k\dot{\gamma}^n \text{ (Eq. 3)}$$

Where  $\sigma$  is the stress (Pa),  $k$  is the consistency index (Pa·s <sup>$n$</sup> ),  $\dot{\gamma}$  is the shear rate (s<sup>-1</sup>), and  $n$  is the flow behavior index (dimensionless).

## 2.7 Optical microscopy

The microstructural characteristics of the yogurts were evaluated using a binocular optical microscope (Anatomic Opton®, Model TIM-18, Campinas, São Paulo, Brazil) coupled with an 8-megapixel portable camera. A drop of each yogurt sample was deposited on a microscope slide. Objective lens with 10x magnification was used to obtain the images.

## 2.8 Statistical analysis

The processes were performed in two repetitions and each analysis was carried out in triplicate. The results of particle size, zeta potential, pH, acidity, viability of lactic acid bacteria, shear rate, flow behavior index, apparent viscosity and WHC were expressed as mean  $\pm$  standard deviation. Analysis of variance (ANOVA) was performed to evaluate the impact of different treatments and the Tukey test was applied to evaluate significant differences between them ( $p < 0.05$ ). Statistical analyzes were performed utilizing Statistica software (StatiSoft INC).

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Mean particle size and zeta potential

Table 1 shows mean particle size and zeta potential ( $\zeta$ ) data of goat milk samples supplemented with different concentrations of WPI, pretreated or not by ultra-sound-assisted high shear dispersion (US-HSD). It was found that supplementing goat milk with WPI provided an increase of up to 47.7% in particle size, achieving greater size when supplemented with 5% WPI. In contrast, physical processes (US-HSD) promoted a particle size reduction of up to 42%, with similarly greater impact on samples without WPI or added with 2.5% of whey.

**Table 1.** Mean particle size and zeta potential of goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.

Sample		Mean particle size (nm)	Zeta potential (mV)
WPI supplementation	Pretreatment (US-HSD)		
0%	No	978.0 ± 90.1 <sup>b</sup>	-30.4 ± 5.9 <sup>c</sup>
2.5%	No	1169.5 ± 135.4 <sup>b</sup>	-41.6 ± 1.3 <sup>b</sup>
5%	No	1444.7 ± 119.0 <sup>a</sup>	-43.4 ± 1.3 <sup>b</sup>
0%	Yes	593.4 ± 30.5 <sup>d</sup>	-48.3 ± 0.9 <sup>a</sup>
2.5%	Yes	679.7 ± 35.9 <sup>c</sup>	-47.8 ± 1.7 <sup>a</sup>
5%	Yes	1049.8 ± 156.2 <sup>b</sup>	-48.8 ± 1.6 <sup>a</sup>

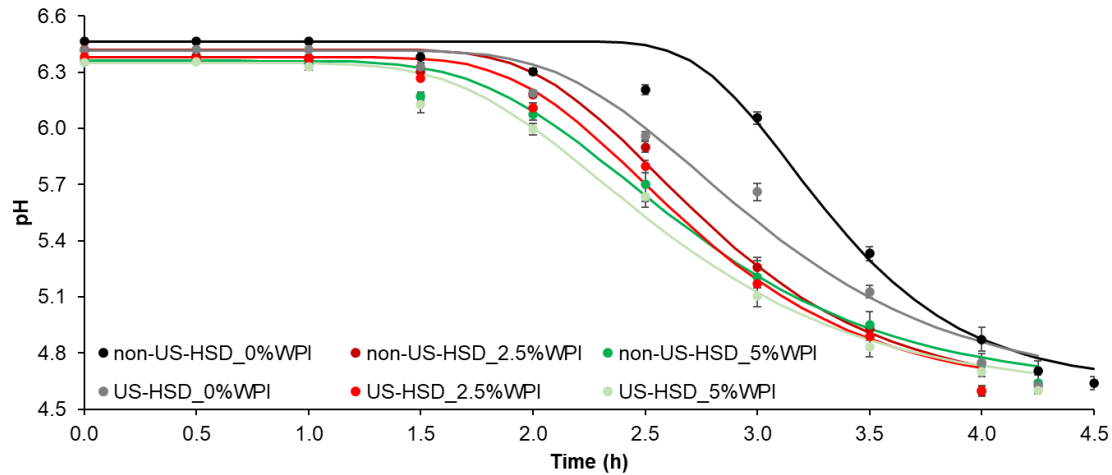
WPI: whey protein isolated; US: ultrasound; HSD: high shear dispersion. Different lowercase letters (column) indicate significant differences between different treatments by Tukey's test at 5% probability ( $p > 0.05$ ).

Such differences can be explained by the effects of US and HSD on milk. US results in turbulence, shear, and the formation of high-pressure zones that are able to reduce the diameter of fat globules, break casein micelles and denature whey proteins (Jambrak et al. 2014; Liu et al., 2014; Abesinghe et al., 2019; Zhao et al. 2023). The velocity gradient produced by HSD also breaks up milk particles, mainly fat globules (Capela et al., 2022). Thus, the association of the two processes maximizes the physical effects on the milk matrix, probably enhancing the gel quality due to greater protein interaction and strong protein network formation (Carrillo-Lopez et al., 2021). Previous results obtained with probe US (ultrasonic probe 20 kHz, 4000 W with a 25% amplitude at 60°C for 5, 10 and 15 min) showed particle size reduction similar of our results (Ragab et al., 2023). In this scenario, the solution using bath US+HSD is cost-advantageous compared to probe US (Zhang et al., 2012).

Regarding the zeta potential, it is noted that both the supplementation of goat milk with WPI and the physical processes (US-HSD) increased the electronegativity ( $p < 0.05$ ). For samples not subjected to US+HSD, the reduction of zeta potential (~36%) was achieved with 2.5% WPI supplementation, without difference of the sample supplemented with 5%. On the other hand, physical processes were able to overcome the impact of supplementation, resulting in zeta potential of approximately - 48 mV (~42% greater electronegativity compared with the control sample) for all studied samples. This parameter is an indicator of the colloidal dispersion stability, and its magnitude represents the level of electrostatic repulsion forces (Ragab et al., 2020). Therefore, the addition of WPI and mainly the application of physical processes increased the dispersion of particles by promoting greater electrostatic repulsion between them, leading to greater physical stability of the milk.

### 3.2. Fermentation kinetics

At the beginning of fermentation, goat milk showed a pH between 6.34 - 6.49 and the fermentation process was interrupted when it reached pH 4.6. The pH decline curves (Figure 1) were modeled using the Equation (1) ( $R^2 = 0.989-0.995$ ), obtaining the values of  $\lambda$  (lag phase time) and  $\mu$  (maximum rate of pH decline) shown in Table 2.



**Figure 1.** Evolution of pH during yogurt fermentation produced from goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI. US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolate. Dots are experimental data; continuous lines are the predicted data using Eq. (1).

The control sample exhibited the longest lag phase time and the highest pH de-cline rate; however, as the percentage of WPI added increased, the  $\lambda$  and  $\mu$  parameters decreased ( $p < 0.05$ ) (Table 2). Similar behavior was observed in samples pretreated by US-HSD ( $p < 0.05$ ). This demonstrates that when there was no supplementation of goat milk with WPI and there was no pre-treatment by US-HSD, the microorganisms need-ed a longer period of adaptation. This can be explained considering that supplementation increased the availability of nutrients, especially proteins and peptides important for the symbiotic growth of yogurt cultures (Walstra et al., 2005). Meanwhile, physical processes may have enhanced the bioavailability of these nutrients through partial protein denaturation and/or particle size reduction (Jambrak et al. 2014; Liu et al., 2014; Abesinghe et al., 2019; Zhao et al. 2023), facilitating the adaptation of micro-organisms to the environment.

**Table 2.** Fermentation kinetic parameters of goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.

Sample		$\lambda$ (h)	$\mu$ (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
WPI supplementation	Pretreatment (US-HSD)			
0%	No	2.73 ± 0.04 <sup>a</sup>	-1.57 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.991
2.5%	No	2.00 ± 0.03 <sup>c</sup>	-1.19 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.993
5.0%	No	1.76 ± 0.11 <sup>d</sup>	-0.97 ± 0.05 <sup>c</sup>	0.995
0%	Yes	2.11 ± 0.06 <sup>b</sup>	-1.03 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.989
2.5%	Yes	1.91 ± 0.05 <sup>c</sup>	-1.15 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.994
5.0%	Yes	1.66 ± 0.05 <sup>d</sup>	-0.98 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.994

$\lambda$ : lag phase time (h);  $\mu$ : maximum pH decline rate (h<sup>-1</sup>); US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated. Significant differences evaluated by the Tukey test ( $p < 0.05$ ) among the samples are indicated by different superscript lowercase letters.

On the other hand, the control sample exhibited the most pronounced pH decline after the adaptation step. This can be explained by considering that both WPI supplementation and the application of physical processes may have enhanced the milk buffer capacity (Tribst et al., 2020), requiring greater amount of acid to reach the same pH than control sample. Finally, from the pH reduction curves during fermentation (Figure 1), it is highlighted that, among the different treatments evaluated, the addition of 2.5% WPI (independent of the US-HSD pretreatment) reduced the fermentation time in 30 min, compared to the control sample (4h 30 min). This possibly indicates a positive balance between the increased concentration of growth-promoting factors (due to WPI addition and application of physical processes) and a lower proportion of increased buffering capacity caused by the addition of whey proteins as compared to the highest concentration.

In addition to enhancing productivity and reducing costs, this result can be interesting because a shorter fermentation time can reduce the degree of protein gel network rearrangements, limiting the formation of large pores in the protein network and, consequently, reducing syneresis (Abesinghe et al., 2019).

### 3.3. pH, acidity, and LAB count

After 24 hours of refrigerated storage (7 °C), yogurts exhibited pH values ranging from 4.35 to 4.58, with higher values noted for those supplemented with 5% WPI ( $p < 0.05$ ) (Table 3). Additionally, samples presented acidity levels ranging between 0.78-0.89% lactic acid, showing lower acidity values for samples with 5% WPI compared to those with 2.5% WPI ( $p < 0.05$ ) (Table 3).

**Table 3.** pH, acidity, and LAB count of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI after 1 day of storage at 7°C.

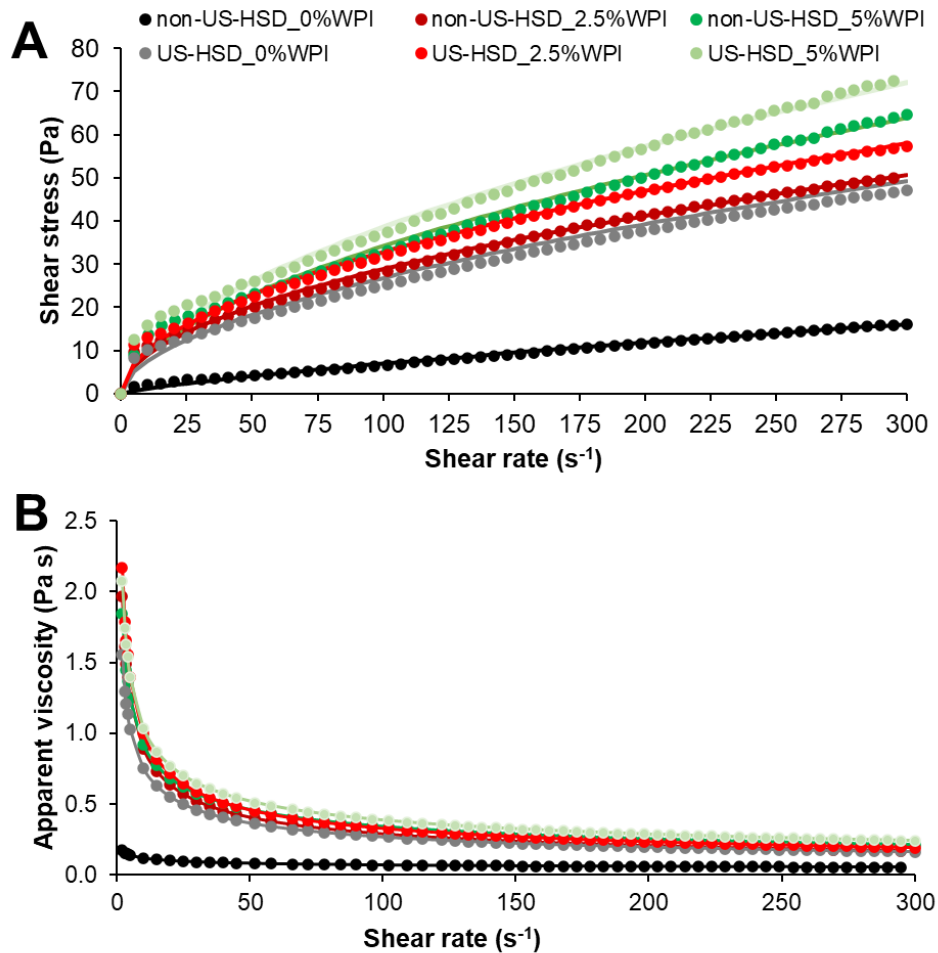
Sample		pH	Acidity (% lactic acid)	Lactic acid bacteria count (log CFU/mL)
WPI supplementation	Pretreatment (US-HSD)			
0%	No	4.37 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.86 ± 0.06 <sup>ab</sup>	8.3 ± 0.4 <sup>a</sup>
2.5%	No	4.35 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.88 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.4 ± 0.4 <sup>a</sup>
5.0%	No	4.54 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.80 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.0 ± 0.3 <sup>a</sup>
0%	Yes	4.38 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.85 ± 0.05 <sup>ab</sup>	8.0 ± 0.2 <sup>a</sup>
2.5%	Yes	4.36 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.89 ± 0.02 <sup>a</sup>	8.5 ± 0.4 <sup>a</sup>
5.0%	Yes	4.58 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.78 ± 0.05 <sup>b</sup>	8.2 ± 0.3 <sup>a</sup>

*Different lowercase letters (column) indicate significant differences between the different treatments by Tukey's test at 5% probability ( $p > 0.05$ ). US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated.*

The LAB counts did not differ among samples, showing values greater than 8 log CFU/mL ( $p > 0.05$ ) (Table 3). This suggests that, despite observed variations in the fermentation process, LAB counts reached similar levels in all samples, regardless of pre-treatment or supplementation. Thus, the increase in protein concentration and/or physical processes did not impact the final count of lactic acid bacteria.

### 3.4. Rheological properties

Figure 2 shows the flow curves that illustrate the correlation between shear stress and shear rate (Fig. 2A) and the apparent viscosity and shear rate (Fig. 2B) of yogurt samples after 24 h of refrigerated storage. The curves showed pseudoplastic behavior, in which the shear stress increased non-linearly with the increase in the shear rate, while the apparent viscosity reduced as the shear rate increased, probably due to the breakdown of the aggregates. When all aggregates are dissociated, only colloidal particles remain, and as a result, hydrodynamic forces begin to dominate over other forces, approaching Newtonian behavior, justifying the more consistent viscosity values towards the end (Li & Guo, 2006).



**Figure 2.** (A) Shear stress ( $\sigma$ , Pa) versus shear rate ( $\gamma$ , s<sup>-1</sup>) and (B) apparent viscosity ( $\eta$ , Pa s) as a function of shear rate ( $\gamma$ , s<sup>-1</sup>) at 7°C of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI. *US*: ultrasound; *HSD*: high shear dispersion; *WPI*: whey protein isolated.

The rheological evaluation data were fitted to the Equation (3), and the  $k$  and  $n$  parameters were utilized to calculate the apparent viscosity ( $\eta$ ) at two different shear rates: 50 s<sup>-1</sup> and 100 s<sup>-1</sup> (Table 4). The experimental data showed an excellent fit to the Oswald-de-Waelle model, with  $R^2 > 0.99$ . For the  $k$  parameter that represents the consistency index and is related to the protein-protein interactions, it was found that the combination of both strategies did not result in a significant increase when compared to those obtained by isolated strategies. Specifically, supplementation with WPI (independent on the concentration) increased the  $k$  value by  $\sim 13$  times, while the use of physical processes without supplementation led to a 10.6x increase. Therefore, one strategy is sufficient to enhance the consistency of goat yogurt.

**Table 4.** Rheological properties and WHC of yogurt produced with goat milk pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound added WPI.

Sample		Ostwald–De Waele Model			Apparent viscosity (mPa s)		Water holding capacity (WHC) (%)
WPI supplementatio n	Pretreatment (US-HSD)	k (Pa·s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>	γ a 50 (s <sup>-1</sup> )	γ a 100 (s <sup>-1</sup> )	
0%	No	0.20 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.77 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.997	81 ± 9 <sup>e</sup>	69 ± 6 <sup>e</sup>	43.0 ± 1.4 <sup>e</sup>
2.5%	No	2.76 ± 0.35 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.999	405 ± 2 <sup>c</sup>	288 ± 5 <sup>c</sup>	51.3 ± 1.2 <sup>d</sup>
5.0%	No	2.48 ± 0.35 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.997	458 ± 17 <sup>b</sup>	340 ± 7 <sup>b</sup>	57.9 ± 1.7 <sup>bc</sup>
0%	Yes	2.12 ± 0.80 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.998	315 ± 64 <sup>d</sup>	233 ± 40 <sup>d</sup>	54.2 ± 1.5 <sup>cd</sup>
2.5%	Yes	3.03 ± 0.61 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.998	454 ± 5 <sup>b</sup>	325 ± 7 <sup>b</sup>	60.7 ± 2.5 <sup>ab</sup>
5.0%	Yes	2.79 ± 0.27 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.996	519 ± 34 <sup>a</sup>	385 ± 23 <sup>a</sup>	63.5 ± 1.6 <sup>a</sup>

*Different lowercase letters (column) indicate significant differences between different treatments by Tukey's test at 5% probability (p>0.05). γ: Shear rate; US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated.*

Regarding the flow behavior index ( $n$ ), a pseudoplastic behavior ( $n < 1$ , Table 4) was observed for all samples (Mitra et al., 2022). The control sample had the highest value for this parameter (0.77) compared to the other samples ( $p < 0.05$ ), indicating that the non-supplemented and non-physically treated sample showed lower resistance to flow. This suggests that this sample is more fluid, and its rheological behavior approaches that of a Newtonian fluid, as also confirmed by the more linear profile in the flow curves (Figure 2).

Conversely, the other samples showed similar flow behavior indexes ( $p > 0.05$ ), ranging from 0.51 to 0.57 (Table 4). Considering that changes in the  $n$  parameter indicate alterations in the types of intermolecular forces involved in the gel network (Oliveira et al., 2014), these results suggest that both strategies (supplementation or physical processes) can achieve similar responses regarding the consistency and interactions of the gel network.

Table 4 shows the  $\eta$  values in  $\gamma$  of 50 and 100  $s^{-1}$ . Based on the obtained results, it was verified that the apparent viscosity greatly increased after 2.5% WPI supplementation and had an additional increase if the supplementation was 5% ( $p < 0.05$ ). In addition, the physical processes also improved apparent viscosity of the samples ( $p < 0.05$ ) and, contrarily to the observed for the other rheological parameters, in this case, the association of physical process and WPI supplementation had an additive response ( $p < 0.05$ ). Supplementation with 5% WPI increased apparent viscosity by 5.65 times, physical processes without supplementation increased by 3.88 times, while the association of these two strategies achieved an increase of 6.41 times (sample pre-treated by US-HSD with 5% WPI) compared to the control sample at a shear rate of 50  $s^{-1}$  ( $p < 0.05$ ). However, it is noted that there was no significant difference in  $\eta$  values between the sample with 5% WPI and the sample pre-treated by US-HSD with 2.5% WPI, thus suggesting that these conditions promoted similar responses regarding the increase in apparent viscosity in goat yogurt.

The increase in viscosity caused by the increase in the percentage of supplementation can be justified by the higher protein content and, consequently, total solids of the yogurt produced. Furthermore, this result may also be associated with the effect of heat treatment, which causes denaturation of whey proteins, mainly  $\beta$ -lactoglobulin, enabling their interaction with casein micelles through intermolecular disulfide bonds. Subsequently, these interactions positively influence gel formation, as whey proteins become part of the network formation. As a result, the water retention capacity and viscosity of the yogurt increase (Ali et al., 2023; Hovjecki et al., 2023).

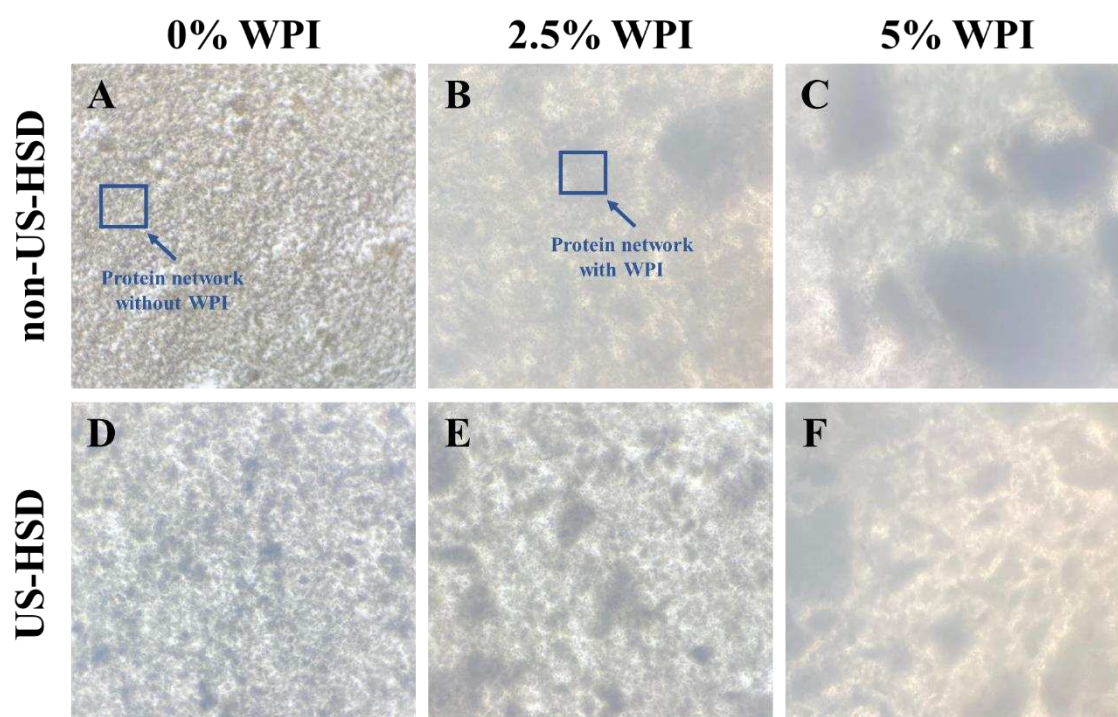
Moreover, the cavitation effects generated by US and potentiated by HSD on fat, casein, and whey proteins also contributed to the formation of a stronger network (Nguyen & Anema

et al. 2017; Abesinghe et al., 2019; Yu et al., 2021), resulting in a gel with improved rheological properties (Akdeniz & Akalin, 2019; Carrillo-Lopez et al. 2021) and, consequently, higher apparent viscosity ( $p < 0.05$ ). Thus, for this parameter, an additive effect was observed among the tested strategies, with higher apparent viscosity for supplemented products whose raw material was pre-processed by US-HSD ( $p < 0.05$ ).

The apparent viscosity results are correlated with the water holding capacity (WHC) outcomes of the samples (Table 4), where the addition of 5% WPI or the application of physical processes resulted in a WHC increase ranging from 26 to 35 % ( $p < 0.05$ ), with no difference between them ( $p > 0.05$ ) (Table 4). In addition, the combination of both strategies further promoted a significant increase in WHC (48%,  $p < 0.05$ ), suggesting, once again, an additive effect.

### 3.5. Optical microscopy

Figure 3 exhibits the optical microscopy images of the yogurt samples after 24 hours of refrigerated storage. The control yogurt showed a poorly crosslinked protein network, demonstrating that goat milk was not capable of forming a yogurt with a strong network, confirmed by the lower values of consistency index, apparent viscosity and WHC shown in Table 4. The poor textural properties of goat yogurt are mainly associated with the reduced  $\alpha$ -s1-casein content of goat milk compared to other species (Moschopoulou et al., 2018).



**Figure 3.** Optical microscopy images of yogurt produced from goat milk not pretreated (A-C) and pretreated by high shear dispersion assisted by ultrasound (D-F) added WPI (B, E; C, F) after 1 day of storage at 7°C. *US: ultrasound; HSD: high shear dispersion; WPI: whey protein isolated.*

In contrast, yogurts with WPI supplementation, as well as those subjected to pretreatment by US-HSD, showed denser and better organized protein clusters forming structures containing highly connected networks, indicating direct interactions between casein micelles and denatured whey proteins (Zhao et al., 2016; Cheng et al., 2017; Tian et al., 2022). These modifications helped to form a firmer gel with better textural properties, also confirmed by the rheological results discussed in the previous topic.

Based on the obtained results, the decision between supplementing goat yogurt with WPI (2.5% or 5.0%), applying US-HSD physical pretreatments, or combining both strategies depend on the specific priorities and strategies of each industry. On one hand, WPI supplementation demonstrated significant improvements in apparent viscosity and WHC, which can be advantageous for product quality. However, it is crucial to consider the increase in fixed costs associated with protein addition, especially at the 5% WPI level, although its positive impact in protein content. On the other hand, the application of the US-HSD process exhibited benefits, including increased physical stability of the milk (enhanced electronegativity of the zeta potential and reduced particle size), as well as improvements in rheological and structural properties of the final product. However, the combination of WPI supplementation and physical processes resulted in even more significant enhancements in apparent viscosity and WHC. The drawback here lies in potential initial costs associated with the acquisition and maintenance of equipment. Thus, the choice between these options should be based on the goals of the industry, i.e., only improve the texture profile without increase formulation cost, improve protein content of the product, or reach maximum texture improvement. While WPI supplementation may have a direct impact on fixed costs, the application of physical processes may require a higher initial investment but with the potential to reduce operational costs in the long run. Therefore, both strategies offer benefits, and the final decision will depend on the industry's priorities in terms of costs, product quality, and market positioning.

#### 4. Conclusion

Supplementation with bovine whey protein isolate and the use of combined physical processes (high shear dispersion and ultrasound) as pre-treatment of goat milk are very promising alternatives to improve the quality attributes of yogurt. Pretreatment by US-HSD was able to reduce particle size by up to 42%. Both supplementation and physical processes significantly increased the electronegativity of the zeta potential, favoring the physical stability of the milk. The addition of 2.5% WPI was sufficient and adequate to reduce the total yogurt fermentation time by 30 minutes. Supplementation increased apparent viscosity and water retention capacity, being proportional to the percentage of WPI added. However, combined use with physical processes promoted greater improvements in these parameters (increases of up to 6.41 times in apparent viscosity and 48%-higher water holding capacity). Therefore, the final decision to supplement with WPI and apply physical processes (US-HSD), associated or isolated, depends on the costs of the strategies and the desirable rheological, structural, and sensory characteristics.

#### Acknowledgments and Funding

The authors are grateful to the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Financing Code 001; the Minas Gerais Research Foundation (FAPEMIG, Brazil) for funding the project APQ-00388-21/APQ-00785-23 and the National Council for Scientific and Technological Development for funding project 429033/2018-4 and the productivity grants of B.R.C. Leite Júnior (306514/2020-6) and A.A.L. Tribst (305050/2020-6).

#### References

- Abesinghe, A.M.N.L.; Islam, N., Vidanarachchi; J.K., Prakash, S.; Silva, K.F.S.T.; Karim, M.A. Effects of ultrasound on the fermentation profile of fermented milk products incorporated with lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 2019, 90, 1-14.
- Akdeniz, V.; Akalın, A.S. New approach for yoghurt and ice cream production: High-intensity ultrasound. *Trends Food Sci Tech.* 2019, 86, 392-398.
- Ali, A.H.; Alsalmi, M.; Alshamsi, R.; Tarique, M.; Bamigbade, G.; Zahid, I.; Ayyash, M. Effect of whey protein isolate addition on set-type camel milk yogurt: Rheological properties and biological activities of the bioaccessible fraction. *J. Dairy Sci.* 2023, 106, 8221-8238.
- AOAC. Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International. *Official Methods*, Gaithersburg, MD, USA, 2005.

- Bruzantin, F.P.; Daniel, J.L.P.; Da Silva, P.P.M.; Spoto, M.H.F. Physicochemical and sensory characteristics of fat-free goat milk yogurt with added stabilizers and skim milk powder fortification. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 3316-3324.
- Capela, A.P.; Tribst, A.A.L.; Augusto, P.E.D.; Leite Júnior, B.R.C. Use of physical processes to maximize goat milk cream hydrolysis: Impact on structure and enzymatic hydrolysis. *Food Res Int.* 2022, 156, 111343.
- Carrillo-Lopez, L.M.; Garcia-Galicia, I.A.; Tirado-Gallegos, J.M.; Sanchez-Vega, R., Huerta-Jimenez, M.; Ashokkumar, M.; Alarcon-Rojo, A. D. Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties. *Ultrason. Sonochem.* 2021, 73, 105467.
- Cheng, J.; Xie, S.; Yin, Y.; Feng, X.; Wang, S.; Guo, M.; Ni, C. Physiochemical, texture properties, and the microstructure of set yogurt using whey protein–sodium tripolyphosphate aggregates as thickening agents. *J. Sci Food Agric.* 2017, 97, 2819-2825.
- Dantas, D.L.; Viera, V.B.; Soares, J.K.B.; dos Santos, K.M.O.; do Egito, A.S.; de Figueiredo, R.M.F.; de Oliveira, M.E.G. *Piloso-cereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. *LWT - Food Sci. Technol.* 2022, 158, 113165.
- De Brabandere, A.G.; De Baerdemaeker, J.G. Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. *J. Food Eng.* 1999, 41, 221-227.
- Delgado, K.; Vieira, C.; Dammak, I.; Frasão, B.; Brígida, A.; Costa, M.; Conte-Junior, C. Different ultrasound exposure times influence the physicochemical and microbial quality properties in probiotic goat milk yogurt. *Molecules.* 2020, 25, 4638.
- Domagała, J.; Sady, M.; Grega, T.; Najgebauer-Lejko, D. Changes in texture of yogurt from goat's milk modified by transglu-taminase depending on pH of the milk. *Biotechnol. Anim. Husb.* 2007, 23, 171-178.
- Elkot, W.F.; Talaat, H.; Abdeldaiem, A.M.; Alnuzaile, E.S.; Eljeam, H.A.A.; Ammar, A.F.; Elmahdy, A. Effect of using dried white sapote fruit (*Casimiroa edulis*) on the quality characteristics of bio-low-fat goat milk yoghurt drink. *Saudi J. Biol. Sci.* 2023,30, 103844.
- Ercili-Cura, D.; Lille, M.; Legland, D.; Gaucel, S.; Poutanen, K.; Partanen, R.; Lantto, R. Structural mechanisms leading to improved water retention in acid milk gels by use of transglutaminase. *Food Hydrocoll.* 2013, 30, 419-427.

Fang, T.; Guo, M. Physicochemical, texture properties, and microstructure of yogurt using polymerized whey protein directly prepared from cheese whey as a thickening agent. *J. Dairy Sci.* 2019, 102, 7884-7894.

FAOstat. Food and Agriculture Organization of the United Nations database. Statistics database, harvest statistics. Available online: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed on 10 January 2023).

Gantumur, M.A.; Sukhbaatar, N.; Jiang, Q.; Enkhtuya, E.; Hu, J.; Gao, C.; Li, A. Effect of modified fermented whey protein fortification on the functional, physical, microstructural, and sensory properties of low-fat yogurt. *Food Control.* 2024, 155, 110032.

Gogate, P.R.; Kabadi, A.M. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochem. Eng. J.* 2009, 44, 60–72.

Hovjecki, M.; Radovanovic, M.; Miloradovic, Z.; Jurina, I.B.; Mirkovic, M.; Ignjatovic, I.S.; Miocinovic, J. Fortification of goat milk yogurt with goat whey protein concentrate—Effect on rheological, textural, sensory and microstructural properties. *Food Biosci.* 2023, 56, 103393.

IDF. Yoghurt/enumeration of characteristic microorganisms – colony count technique at 37 °C. Standard no 117. In International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 2003.

Jambrak, A.R.; Mason, T.J.; Lelas, V.; Paniwnyk, L.; Herceg, Z. Effect of ultrasound treatment on particle size and molecular weight of whey proteins. *J. Food Eng.* 2014, 121, 15-23.

Li, J.; Guo, M. Effects of polymerized whey proteins on consistency and water-holding properties of goat's milk yogurt. *J. Food Sci.* 2006, 71, C34-C38.

Liu, D.; Zhao, F.; Li, L.; Zhang, J.; Wu, S.; Lü, X., Yi, Y. Enhancing the Antioxidant Capacity and Quality Attributes of Fermented Goat Milk through Synergistic Action of *Limosilactobacillus fermentum* WXZ 2-1 with Starter Culture. *J. Dairy Sci.* 2023, 107, 1928-1949.

Liu, Z.; Juliano, P.; Williams, R.P.; Niere, J.; Augustin, M. A. Ultrasound effects on the assembly of casein micelles in reconstituted skim milk. *J Dairy Res.* 2014, 81, 146-155.

Ma, J.; Wang, Q.; Dou, N.; Li, Y.; Ma, Y.; Liu, Y.; Jiang, Z. Evaporative concentration and high-pressure homogenization for improving the quality attributes and functionality of goat milk yogurt. *LWT - Food Sci. Technol.* 2023, 184, 115016.

Mitra, P.; Nepal, K.; Tavade, P. Effect of whey and soy proteins fortification on the textural and rheological properties of value-added yogurts. *Appl. Food Res.* 2022, 2, 100195.

- Moschopoulou, E.; Sakkas, L.; Zoidou, E.; Theodorou, G.; Sgouridou, E.; Kalathaki, C.; Moatsou, G. Effect of milk kind and storage on the biochemical, textural and biofunctional characteristics of set-type yoghurt. *Int. Dairy J.* 2018, 77, 47-55.
- Nguyen, N.H.; Anema, S. G. Ultrasonication of reconstituted whole milk and its effect on acid gelation. *Food Chem.* 2017, 217, 593-601.
- O'Donnell, C.P.; Tiwari, B.K.; Bourke, P.; Cullen, P.J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends Food Sci Tech.* 2010, 21, 358-367.
- Oliveira, M.M.; Augusto, P.E.D.; Cruz, A.G.; Cristianini, M. Effect of dynamic high pressure on milk fermentation kinetics and rheological properties of probiotic fermented milk. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2014, 26, 67-75.
- Pacheco, F.C.; Teixeira, E.F.; Pacheco, A.F.C.; Paiva, P.H.C.; Tribst, A.A.L.; Leite Júnior, B.R.C. Impact of ultrasound-assisted fermentation on buffalo yogurt production: Effect on fermentation kinetic and on physicochemical, rheological, and structural characteristics. *Appl. Food Res.* 2023, 3, 100338.
- Pulina, G.; Milán, M.J.; Lavín, M.P.; Theodoridis, A.; Morin, E.; Capote, J.; Caja, G. Invited review: Current production trends, farm structures, and economics of the dairy sheep and goat sectors. *J. Dairy Sci.* 2018, 101, 6715-6729.
- Ragab, E.S.; Zhang, S.; Korma, S.A.; Buniowska-Olejniak, M.; Nasser, S.A.A.; Esatbeyoglu, T.; Nassar, K.S. Physicochemical and Rheological Properties of Stirred Yoghurt during Storage Induced from High-Intensity Thermosonicated Goat and Cow Milk. *Fermentation.* 2023, 9, 42.
- Ragab, E.S.; Zhang, S.; Pang, X.; Lu, J.; Nassar, K.S.; Yang, B.; Lv, J. Ultrasound improves the rheological properties and microstructure of rennet-induced gel from goat milk. *Int. Dairy J.* 2020, 104, 104642.
- Soares, A.S.; Augusto, P.E.D.; Leite Júnior, B.R.C.; Nogueira, C.A.; Vieira, É.N.R.; de Barros, F.A.R., Stringheta, P.C.; Ramos, A.M. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase: Investigation on substrate, enzyme and kinetics parameters. *LWT - Food Sci. Technol.* 2019, 107, 164-170.
- Soares, L.S.; Milião, G.L.; Tonole, B.; de Souza, G.B.; Soares, N.D.F.F.; Teixeira, A.V.N.C.; de Oliveira, E.B. Chitosan dispersed in aqueous solutions of acetic, glycolic, propionic or lactic acid as a thickener/stabilizer agent of O/W emulsions produced by ultrasonic homogenization. *Ultrason. Sonochem.* 2019, 59, 104754.

- Tian, M.; Cheng, J.; Wang, H.; Xie, Q.; Wei, Q.; Guo, M. Effects of polymerized goat milk whey protein on physicochemical properties and microstructure of recombined goat milk yogurt. *J. Dairy Sci.* 2022, 105, 4903-4914.
- Tribst, A.A.L.; Falcade, L.T.P.; Carvalho, N.S.; Leite Júnior, B.R.C.; de Oliveira, M.M. Are stirring and homogenisation processes capable of improving physicochemical and sensory characteristics of stirred yoghurt produced with fresh, refrigerated and frozen/thawed sheep milk?. *Int. Dairy J.* 2020, 109, 104778.
- Tribst, A.A.L.; Falcade, L.T.P.; Carvalho, N.S.; Leite Júnior, B.R.C.; de Oliveira, M.M. Manufacture of a fermented dairy product using whey from sheep's milk cheese: An alternative to using the main by-product of sheep's milk cheese production in small farms. *Int. Dairy J.* 2020, 111, 104833.
- Verruck, S.; Dantas, A.; Prudencio, E.S. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. *J. Funct. Foods.* 2019, 52, 243-257.
- Walstra, P.; Wouters, J. T.; Geurts, T. J. *Dairy Science and Technology*. Publisher: CRC press. 2005.
- Yu, Z.; Su, Y.; Zhang, Y.; Zhu, P.; Mei, Z.; Zhou, X.; Yu, H. Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. *Food Chem.* 2021, 357, 129805.
- Zhang, J.; Xu, S.; Li, W. High shear mixers: A review of typical applications and studies on power draw, flow pattern, energy dissipation and transfer properties. *Chem. Eng. Process.: Process Intensif.* 2012, 57, 25-41.
- Zhao, L.L.; Wang, X.L.; Tian, Q.; Mao, X.Y. Effect of casein to whey protein ratios on the protein interactions and coagulation properties of low-fat yogurt. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 7768-7775.
- Zhao, R.; Fu, W.; Li, D.; Dong, C.; Bao, Z.; Wang, C. Structure and functionality of whey protein, pea protein, and mixed whey/pea proteins treated by pH-shift or/and high intensity ultrasound. *J. Dairy Sci.* 2023, 107, 726-741.
- Zhao, X.; Cheng, M.; Wang, C.; Jiang, H.; Zhang, X. Effects of dairy bioactive peptides and lotus seeds/lily bulb powder on flavor and quality characteristics of goat milk yogurt. *Food Biosci.* 2022, 47, 101510.

## CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho investigou a cinética de fermentação e as características do iogurte de cabra suplementado com proteína isolada de soro de leite bovino (0%, 2,5% e 5,0%) submetido a dispersão de alto cisalhamento (DAC) (15.000 rpm) assistida por ultrassom (US) (38 W/L, 25 kHz, 10 min, 40°C). Verificou-se que ambas as estratégias (aplicação dos processos físicos e suplementação proteica) apresentaram resultados promissores quanto a melhoria dos atributos de qualidade do iogurte de cabra. As duas abordagens promoveram aumento da eletronegatividade do potencial zeta e conseqüentemente aumento da estabilidade física do leite. O pré-tratamento por processos físicos reduziu o tamanho das partículas. A associação da suplementação com os processos físicos proporcionou melhorias na viscosidade aparente e na capacidade de retenção de água quando comparadas aos resultados isolados dessas estratégias, ressaltando que a aplicação dos processos físicos permitiu a redução da concentração de proteína adicionada ao iogurte. Dessa forma, nota-se que tanto a suplementação quanto a aplicação do pré-tratamento do leite por dispersão de alto cisalhamento assistido por ultrassom são abordagens vantajosas para melhorar as características reológicas do iogurte de cabra, sendo a escolha dependente de fatores como custo e demanda do consumidor. Com isso, os resultados encontrados se constituem como base para estudos futuros, visto que dentre as tecnologias não convencionais, o banho ultrassônico e o dispersor de alto cisalhamento apresentam maior viabilidade a serem aplicados em escala industrial, abrindo caminhos para novas pesquisas e descobertas.