

**UFRJ**

**INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**Uso de cepa nativa de *Lactiplantibacillus plantarum* e farinha da casca de  
jabuticaba no desenvolvimento de  
Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico e prebiótico**

**WELISON OLIVEIRA SANTOS**

**2022**



**UFRRJ**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

**USO DE CEPA NATIVA DE *Lactiplantibacillus plantarum* E  
FARINHA DA CASCA DE JABUTICABA NO DESENVOLVIMENTO DE  
LEITE FERMENTADO CONCENTRADO POTENCIALMENTE  
PROBIÓTICO E PREBIÓTICO**

**WELISON OLIVEIRA SANTOS**

*Sob a orientação da Professora*

**Dr<sup>a</sup>. Caroline Mellinger Silva**

*Co-orientação da Professora*

**Dr<sup>a</sup>. Karina Maria Olbrich dos Santos**

*e Co-orientação da Professora*

**Dr<sup>a</sup>. Ana Carolina Sampaio Doria Chaves**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos** no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de concentração em Ciência de Alimentos.

Seropédica, RJ  
Setembro, 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S237u Santos, Welison Oliveira, 1996-  
Uso de Cepa Nativa Lactiplantibacillus Plantarum e  
Farinha da Casca de Jabuticaba no Desenvolvimento de  
Leite Fermentado Concentrado Potencialmente  
Probiótico e Prebiótico / Welison Oliveira Santos. -  
Rio de Janeiro, 2022.  
71 f.

Orientadora: Caroline Mellinger Silva.  
Coorientadora: Karina Maria Olbrich dos Santos.  
Coorientadora: Ana Carolina Sampaio Doria Chaves.  
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, PPGCTA-Programa de Pós  
Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2022.

1. Lactiplantibacillus plantarum. 2. Alimentos  
funcionais. 3. Probióticos. 4. Leite fermentado  
concentrado. 5. Jabuticaba. I. Silva, Caroline  
Mellinger, 1976-, orient. II. dos Santos, Karina  
Maria Olbrich, 1962-, coorient. III. Chaves, Ana  
Carolina Sampaio Doria, 1968-, coorient. IV  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. PPGCTA  
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos. V. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS



TERMO Nº 1038/2022 - PPGCTA (12.28.01.00.00.00.41)

Nº do Protocolo: 23083.061385/2022-28

Seropédica-RJ, 03 de outubro de 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

WELISON OLIVEIRA SANTOS

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, área de Concentração em Ciência de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 30/09/2022

CAROLINE MELLINGER DA SILVA, (Dra) EMBRAPA (orientador)  
JULIA HAUCK TIBURSKI, (Dra) UFRRJ  
CAROLINA BERES (Dra) UERJ

*Documento não acessível publicamente*

*(Assinado digitalmente em 06/10/2022 13:12)*

JULIA HAUCK TIBURSKI  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DTA (12.28.01.00.00.00.46)  
Matrícula: 2230482

*(Assinado digitalmente em 10/10/2022 12:02)*

CAROLINE MELLINGER SILVA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 026.909.329-03

*(Assinado digitalmente em 05/10/2022 12:23)*

CAROLINA BERES  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: 101.193.317-99

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **1038**, ano: **2022**, tipo: **TERMO**, data de emissão: **03/10/2022** e o código de verificação: **8a451491fb**

## AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele nada seria possível!

Aos meus Pais Maria Geraci de Jesus Santos e Genaldo Oliveira Santos, aos meus irmãos Carlos Henrique, Edo, Jane, Luciana, Marcelo, Roseane e *in memoriam* (Carleane), e a todos meus familiares pelo apoio e paciência, por sempre acreditarem em mim. Obrigado!

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Caroline Mellinger por ter me aceitado como seu orientando, por ter acreditado em meu crescimento. Obrigado pelos seus ensinamentos, paciência, paixão pelo trabalho, estímulos e amizade. Pelo incentivo de fazer pós-graduação. Obrigado!

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Karina Maria Olbrich dos Santos, pelo projeto confiado a mim e no meu potencial. Pela parceria e amizade que desenvolvemos! Pela sua atenção durante os experimentos e estímulos nas horas mais difíceis. Pelo incentivo de fazer pós-graduação. Obrigado!

À minha co-orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Carolina Sampaio Doria Chave, pela sua amizade, ensinamento durante o desenvolvimento do experimento, por sempre está disponível a ajudar. Pelo incentivo de fazer pós-graduação!

Agradeço também a Dr<sup>a</sup> Leda Maria Fortes Gottschlk, pesquisadora da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela sua amizade, ensinamentos durante toda a pós-graduação!

Agradeço à Susanna Von Bulow Ulson, produtora de jabuticaba, por ter cedido as jabuticabas da sua produção a ser utilizada no presente estudo.

A companheira de trabalho, Isabel Hilda. Obrigado pela parceria, pela ajuda, pela troca de conhecimento, pelo apoio em cada momento e por dividir essa jornada comigo. Foi um enorme prazer trabalhar e aprender com você. Obrigado pela amizade!

Aos queridos (as), Érika, Agnelli Holanda, Ana Paula, Adriano, Simone, Zé Carlos, Henriqueta, Mariana e Tania por toda a ajuda na realização das análises. Obrigado por cada ensinamento!

Aos queridos amigos que estiveram ao meu lado, André, Rafah, Milana, Rodrigo, Paula e Junior, por fazer os dias mais leves!

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

À Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela oportunidade e cessão de suas Instalações para realização da pesquisa!

## RESUMO

A procura por alimentos funcionais vem crescendo nos últimos anos, portanto é importante desenvolver produtos que atendam essa demanda. Neste trabalho foi desenvolvido um leite fermentado concentrado potencialmente probiótico a partir de leite bovino (LFFCJ), com *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) CNPC 003 (cultura nativa, isolada de leite caprino e potencialmente probiótica) em co-cultura com *Streptococcus thermophilus* (TA-40<sup>®</sup>, DuPont) adicionado de 1% de farinha da casca de jabuticaba. Foi verificado o efeito da adição de farinha da casca de jabuticaba na viabilidade da bactéria probiótica. Foram produzidos dois tipos de leite fermentado concentrado, a formulação controle (LFC), sem adição de farinha da casca de jabuticaba (FCJ) e a formulação teste (LFFCJ), leite fermentado com 1% de farinha da casca de jabuticaba. A viabilidade das bactérias lácticas foi monitorada durante 28 dias de armazenamento a 4 °C. A determinação do pH, da acidez titulável e a análise microbiológica foram realizadas com 1 e 28 dias de armazenamento. Foi também determinada a composição centesimal da FCJ e dos leites fermentados concentrados. A capacidade antioxidante, os teores de compostos fenólicos e de antocianinas totais da farinha da casca de jabuticaba e dos dois leites fermentados concentrados foram analisadas. O presente estudo mostrou que o leite fermentado concentrado com farinha da casca de jabuticaba é tecnologicamente viável. O mesmo apresentou qualidade físico-química, sendo que o teor de acidez (0,68%), umidade (78,19%), lipídios (3,89%), proteínas (3,10%) atenderam a legislação vigente. As contagens de *L. plantarum* permaneceram acima de 10<sup>6</sup> UFC/ g e de *S. thermophilus* por volta de 10<sup>7</sup> UFC/ g ao longo do período estudado. O leite fermentado concentrado com FCJ apresentou 58,75 mg/100 g de composto fenólicos totais, 12,34 mg/100 g de antocianinas totais e a capacidade antioxidante *in vitro* foi de 3,92 µmol trolox/ g. A sobrevivência do *L. plantarum* após simulação da passagem pelo trato gastrointestinal *in vitro* foi de 4,47 UFC/ g e não foi influenciada pela adição de FCJ. Os produtos formulados foram considerados microbiologicamente seguros segundo a legislação vigente e apresentaram uma vida útil de 28 dias. Os resultados desse estudo evidenciaram a possibilidade de desenvolvimento de um leite fermentado concentrado contendo uma cepa nativa com potencial probiótico adicionado da casca de farinha de jabuticaba, gerando um produto inovador para o mercado nacional.

**Palavras chave:** *Lactiplantibacillus plantarum*, alimentos funcionais, probióticos, leite fermentado concentrado, jabuticaba.

## ABSTRACT

The demand for functional foods has been growing in recent years, therefore, it is important to develop products that meet this demand. In this work, a potentially probiotic fermented milk concentrate was developed, with *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) CNPC 003 (native culture, isolated from goat milk and potentially probiotic), in co-culture with *Streptococcus thermophilus* (TA-40, DuPont®) added with jabuticaba peel flour. The effect of adding jabuticaba peel flour on the viability of the probiotic bacteria was verified. Two types of concentrated fermented milk were produced, the control formulation (LFC), without jabuticaba peel flour (FCJ) and the test formulation (LFFCJ), fermented milk with 1% jabuticaba peel flour. The viability of the starter culture and the probiotic were monitored during 28 days of storage at 4 °C. The determination of pH, titratable acidity and microbiological analysis were performed at 1 and 28 days of storage. The proximate composition of FCJ and concentrated fermented milks was also determined. The antioxidant capacity, phenolic compounds and total anthocyanins of jabuticaba peel flour and concentrated fermented milk were analyzed. The present study showed that concentrated fermented milk with jabuticaba peel flour is technologically viable. It presented physicochemical quality, with acidity content (0.68%), moisture (78.19 g/100 g), lipids (3.89 g/100 g), proteins (3.10 g/100 g) and suitable for the type of product formulated. Counts *L. plantarum* remained above 10<sup>6</sup> CFU/g and *S. thermophilus* around 10<sup>7</sup> CFU/g throughout the study period. Concentrated fermented milk with FCJ showed 58.75 mg/100g of total phenolic compounds, 12.34 mg/100g of total anthocyanins and the *in vitro* was 3.92 µmol trolox/g. Regarding to the presence of pathogens, the counts were within the microbiological standards required by Brazilian legislation. The survival of *L. plantarum* after of the passage through the gastrointestinal tract *in vitro* was 4.47 CFU / g and was not influenced by the addition of FCJ. The results obtained in this study showed the possibility of developing a concentrated fermented milk containing a native strain with probiotic potential added to jabuticaba peel flour generating an innovative product for the national market.

**Keywords:** *Lactiplantibacillus plantarum*, functional foods, probiotics, concentrated fermented milk, jabuticaba.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ilustração do processamento industrial da jabuticaba e dos produtos de valor agregado gerados. ....	14
<b>Figura 2:</b> Possibilidades de rotas tecnológicas para a valorização dos subprodutos do processamento da jabuticaba e obtenção de compostos bioativos. ....	17
<b>Figura 3:</b> Fluxograma das principais atividades realizadas para esse estudo. ....	21
<b>Figura 4:</b> Fotografias das principais etapas do processamento da farinha da casca de jabuticaba. ....	23
<b>Figura 5:</b> Fluxograma de elaboração do leite fermentado concentrado. ....	24
<b>Figura 6:</b> Fluxograma ilustrativo da elaboração do LFC (A) e LFFCJ (B). ....	25
<b>Figura 7:</b> (A) leite fermentado (LFC) e (B) leite fermentado (LFFCJ). ....	36
<b>Figura 8:</b> Sobrevivência de <i>L. plantarum</i> CNPC 003 (média $\pm$ DP) nos LFC e LFFCJ, com 7 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração. ....	43

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Identificação e caracterização dos diferentes composto de interesse presente na jabuticaba (compostos, metodologia utilizada e publicação científica). ....	11
<b>Tabela 2:</b> Determinação da composição centesimal, pH e acidez da farinha da casca de jabuticaba, valor médio $\pm$ DP. ....	30
<b>Tabela 3:</b> Contagem de microrganismos indicadores de contaminação na farinha da casca de jabuticaba. ....	31
<b>Tabela 4:</b> Teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante (Média $\pm$ DP) da farinha da casca de jabuticaba. ....	32
<b>Tabela 5:</b> Composição centesimal valor médio $\pm$ DP dos leites fermentados concentrados, LFC e LFFCJ. ....	33
<b>Tabela 6:</b> Valores médios $\pm$ DP de acidez titulável de LFC e LFFCJ com 1, 14 e 28 dias de armazenagem refrigerada ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ). ....	34
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros de cor dos leites fermentados concentrados LFC e LFFCJ à temperatura de refrigeração de ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) durante os 28 dias. ....	35
<b>Tabela 8:</b> Teor de compostos fenólicos (Média $\pm$ DP) do LFFCJ ao longo do armazenamento refrigerado nos tempos 1, 14 e 28. ....	37
<b>Tabela 9:</b> Teores de antocianinas e capacidade antioxidante (média $\pm$ DP) do leite fermentado concentrado ao longo da armazenagem sob refrigeração ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ). ....	38
<b>Tabela 10:</b> Contagens (média $\pm$ DP) de <i>S. thermophilus</i> e <i>L. plantarum</i> nos LFC e LFFCJ nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento refrigerado. ....	40

<b>Tabela 11:</b> Resultado das análise microbiológica dos produtos LFC e LFFCJ com 7 e 28 dias de armazenamento refrigerado. ....	41
<b>Tabela 12:</b> Teor de antocianinas (média ± DP) do tratamento LFFCJ com 7 e 28 dias de armazenamento. ....	42
<b>Tabela 13:</b> Taxa de sobrevivência (Média ± DP) de <i>L. plantarum</i> CNPC 003, no LFC e LFFCJ na simulação da passagem pelo TGI. ....	44

### LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1:</b> Carboidratos totais, por diferença.....	26
<b>Equação 2:</b> Taxa de sobrevivência (TS%). ....	28

## LISTA DE ABREVIÇÕES

A*	Tom <sup>(Hue)</sup>
ABTS <sup>+</sup>	2,2 AZINO BIS (3-ethylbenzo thiazoline 6 sulfonic acid
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APT	Água Peptonada Tamponada
b*	Saturação da cor
DVS	Direct Vat Sed
FAO	Food and Agriculture Organization
FCJ	Farinha da Casca de Jabuticaba
HE	Ágar Hektoen-Enteric
IN	Instrução Normativa
ISAPP	International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics
L*	Luminosidade
LFC	Leite Fermentado Controle
LFFJ	Leite Fermentado com Farinha da Casca de Jabuticaba
Log UFC.g-1	Logaritmo unidade formadora de colônias por grama
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MRS	De Man, Roggosa & Sharpe
RJ	Rio de Janeiro
RV	Caldo Rappaport-Vassiliadi
SBA	Ágar Sulfito de Bismuto
SP	São Paulo
TA-40	<i>Streptococcus thermophilus</i>
TEAC	Capacidade Antioxidante Total pelo método do ABTS <sup>+</sup>
TGI	Sobrevivência gastrintestinais simuladas in vitro
TI	Simulação Fase Gástrica
TII	Fase Entérica 2
TS%	Taxa de Sobrevivência
TT	Caldo Tetrionato
UFC	Unidade Formadora de Colônias

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>2</b>
2.1	Objetivo Geral	2
2.2	Objetivos Específicos	2
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
3.1	Alimentos funcionais	3
3.2	Probióticos	4
3.2.1	Probióticos em alimentos	5
3.2.2	Lactobacilos	6
3.3	Prebióticos	7
3.4	Antioxidantes	8
3.5	Compostos fenólicos	9
3.6	Antocianinas	10
3.6.1	Compostos fenólicos e antocianinas de jabuticaba	10
3.7	Fibras alimentares	13
3.8	Jabuticaba	13
3.8.1	Aproveitamento das diferentes partes da jabuticaba	15
3.9	Leite fermentado	18
3.10	Leite fermentado concentrado	19
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>19</b>
4.1	Local da pesquisa	19
4.2	Material	19
4.2.1	Culturas lácticas e leite	19
4.2.2	Jabuticaba	20
4.3	Processo de obtenção da cepa CNPC 003	21
4.4	Produção da farinha da casca de jabuticaba	22
4.5	Produção do leite fermentado concentrado	23

4.6	Análise da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrados.	26
4.7	Determinação da cor instrumental .....	26
4.8	Composição centesimal da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrados .....	26
4.9	Análises Microbiológicas .....	26
4.9.1	Viabilidade do <i>L. plantarum</i> CNPC 003 e <i>S. thermophilus</i> nos leites fermentados concentrados .....	26
4.9.2	Análise microbiológica da Farinha da Casca de Jabuticaba e dos leites fermentados concentrados .....	27
4.10	Sobrevivência do <i>L. plantarum</i> na simulação da passagem pelo trato gastrintestinal in vitro .....	27
4.11	Teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante .....	28
4.12	Determinação de Antocianinas totais .....	29
4.13	Capacidade antioxidante .....	29
4.14	Tratamento Estatístico .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
5.1	Caracterização da farinha da casca de jabuticaba (FCJ).....	30
5.1.1	Determinação da composição centesimal, pH e Acidez titulável.....	30
5.1.2	Caracterização microbiológica da FCJ .....	31
5.1.3	Compostos bioativos da FCJ .....	32
5.2	Caracterização e monitoramento do leite fermentado concentrado durante a estocagem .....	33
5.2.1	Composição centesimal dos leites fermentados concentrados .....	33
5.2.2	Parâmetros físico-química: pH e acidez titulável .....	34
5.2.3	Cor instrumental .....	35
5.2.4	Teor de compostos fenólicos LFFCJ .....	37
5.2.5	Atividade antioxidante e antocianinas .....	38
5.2.6	Análises microbiológicas.....	39

5.2.7	Teor de antocianinas <i>in vitro</i> ao longo da simulação da digestão gastrointestinal.....	42
5.2.8	Sobrevivência do probiótico frente à simulação de passagem pelo trato gastrointestinal <i>in vitro</i> .....	43
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atenta às tendências de mercado e segmentações de consumidores, a indústria de alimentos tem buscado estratégias criativas para diferenciar seus produtos com base na funcionalidade e melhoria da qualidade. Na elaboração de produtos lácteos, a produção de iogurtes e outros leites fermentados funcionais apresentam ampla aprovação pelo público em geral, sendo bons veículos para o consumo de probióticos (AL et al., 2018).

Os produtos lácteos fermentados apresentam grande potencial econômico, permitindo lucros consideráveis. Neste contexto, o desenvolvimento de processos tecnológicos que envolvam a adição de culturas probióticas na obtenção de produtos alimentícios funcionais, com sabor e textura apropriados e aceitação sensorial, é bastante promissora. Aliado a isso, há o crescente interesse por produtos alimentícios saudáveis, devido ao aspecto nutritivo (AL et al., 2018).

A viabilidade de bactérias probióticas na matriz alimentícia é um pré-requisito para garantir o efeito benéfico sobre a saúde dos hospedeiros. Os probióticos têm sido empregados em produtos lácteos fermentados, que podem incluir polpas de frutas para incremento de sabor e aroma. A adição de ingredientes funcionais contendo alto teor de fibras alimentares e compostos bioativos pode ampliar ainda mais o interesse dos consumidores por esses produtos (MAGALHÃES; DELLA TORRE, 2018).

Nesse sentido, a jabuticaba se destaca no campo das frutas funcionais, com potencial econômico e excelente valor nutricional. A casca de jabuticaba apresenta compostos com potencial prebiótico, provavelmente devido à presença de compostos fenólicos e de fibras. Além disso, desenvolver um alimento saudável e rico em nutrientes com potencial antioxidante, que pode promover benefícios à saúde do consumidor é interessante para a indústria de alimentos (ALVES *et al.*, 2017).

Neste contexto, o desenvolvimento de um leite fermentado concentrado adicionado de farinha de casca de jabuticaba (FCJ), potencialmente probiótico e prebiótico, pode constituir uma ótima opção de um novo produto lácteo funcional, carreador de microrganismos probióticos vivos, resistentes à passagem pelo trato gastrointestinal e ingrediente rico em antocianinas e fibras que pode contribuir para a saúde do consumidor.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o uso da cepa nativa de *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC003 e da farinha da casca de jabuticaba no desenvolvimento de um leite fermentado concentrado, potencialmente probiótico e prebiótico.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a farinha da casca de jabuticaba quanto à composição centesimal, teor de compostos fenólicos totais, de antocianinas totais e capacidade antioxidante *in vitro*;
- Otimizar as condições de fermentação do leite por uma cepa nativa *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) em co-cultura *Streptococcus thermophilus*, adicionado de farinha da casca de jabuticaba;
- Avaliar a qualidade do produto final com base na composição centesimal, parâmetros físico-químicos e microbiológicos durante a vida útil do produto;
- Determinar a viabilidade da *L. plantarum* no produto e a resistência às condições de passagem pelo trato gastrointestinal *in vitro* ao longo da vida útil estimada;
- Determinar a bioacessibilidade *in vitro* das antocianinas presentes no produto após simulação da digestão gástrica e intestino delgado.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Alimentos funcionais**

Os consumidores estão cada vez mais preocupados e com as saúde alegações funcionais que os componentes alimentares podem oferecer e isso tem impulsionado o interesse por alimentos funcionais (BAKSHI, CHHABRA, KAUR, 2020). Embora não haja um consenso, os alimentos funcionais podem ser considerados como alimentos que possuem, além dos nutrientes, componentes bioativos, cujo consumo pode resultar em um efeito benéfico específico para saúde (DÍAZ, FERNÁNDEZ-RUIZ, CÁMARA, 2020).

Os alimentos de competência da ANVISA que veiculem afirmações sobre efeitos benéficos à saúde, devem ser enquadrados e registrados na categoria de alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde (Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999) ou na categoria de substâncias bioativas e probióticas isolados (BRASIL, 2019).

Segundo Gul, Singh e Jabeen (2016), a partir do processo de produção dos alimentos funcionais, é possível dividi-los em categorias distintas como: (1) alimentos básicos, os que contém naturalmente o composto bioativo; (2) alimentos processados, no qual ocorre a adição de bioativos ocorre durante a produção e (3) alimentos aprimorados, em que o componente bioativo existe naturalmente, entretanto é modificado ou concentrado por engenharia genética ou pelo processamento.

Alguns alimentos ou componentes listados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde são: ácidos graxos, como eicosapentaenoico (EPA) e docosaexaenoico (DHA), que auxiliam positivamente na manutenção dos níveis normais de triglicerídeos; carotenoides como licopeno e luteína, com alegação de ação antioxidante, protegendo as células de danos oxidativos promovidos por radicais livres; fibras alimentares, que auxiliam no funcionamento intestinal; proteína de soja e fitosteróis, que auxiliam na redução de colesterol; probióticos e prebióticos como a inulina e frutooligossacarídeos (FOS), que contribuem para o equilíbrio da microbiota (ANVISA, 2008).

Em específico, os probióticos possuem influencia na saúde humana com ações positivas principalmente sobre o trato gastrointestinal (TGI), função imunológica e prevenção de câncer. O mercado de alimentos funcionais no Japão e na Europa é predominantemente de produtos probióticos, em função da imagem positiva dos probióticos entre os consumidores e das características intrínsecas dos produtos, normalmente armazenados em baixas temperaturas. Em países como o Brasil, a demanda por alimentos funcionais é crescente e os produtos lácteos probióticos predominam nesta categoria. Com a finalidade de desenvolver produtos

alimentícios probióticos, com atribuições benéficas à saúde e propriedades sensoriais satisfatórias aos consumidores, muitas pesquisas vem sendo realizadas (BARCELLOS, LIONELLO, 2011; BIGLIARDI, GALATI, 2013).

Uma dieta rica em alimentos funcionais acarreta em uma maior disposição e energia para os indivíduos, contribuindo assim, para melhoria da qualidade de vida. Estes alimentos devem ser consumidos, preferencialmente, em sua forma original, inseridos dentro da alimentação, de forma que possam ter real benefício (VIDAL *et al.*, 2012).

O aumento da consciência dos consumidores sobre a adoção de hábitos saudáveis, seguros e convenientes impulsionou a utilização do termo “alimento funcional” (DE SOUSA, 2016). Diante disso, os produtos lácteos atendem à essa demanda, sendo uma categoria de alimento consolidada no mercado brasileiro, o que justifica o crescimento e a popularidade da indústria de produtos lácteos.

### **3.2 Probióticos**

Desde o início de seu estudo, os probióticos foram associados aos lácteos fermentados pelo pesquisador russo Ylya Metchnikoff, que observou que o consumo desses produtos elevava a expectativa e qualidade de vida dos búlgaros (LIMA, 2017). Atualmente, os produtos lácteos representam uma parte significativa dos produtos probióticos disponíveis no mercado mundial, sendo considerados o principal grupo veiculador alimentícios de probióticos (SIMEONI *et al.*, 2014; MEYBODI & MORTAZAVIANI, 2017). Probióticas que são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, possuem o potencial de conferir benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2013; HILL *et al.*, 2014; ANVISA 2018).

Os probióticos podem conferir vários benefícios à saúde do hospedeiro como atividade antioxidante, anticancerígenas, de prevenção de diarreia e de modulação do sistema imunológico (HAN *et al.*, 2020; JANG *et al.*, 2020; JEON *et al.*, 2016; KIMOTO-NIRA *et al.*, 2015; VITALI *et al.*, 2012). Dentre os alimentos probióticos fermentados destacam-se os leites fermentados e iogurte (ASPRI; PAPADEMAS; TSALTAS, 2020).

Para ser considerado probiótico, os microrganismos precisam sobreviver ao processo digestivo, apresentando estabilidade aos ácidos da biliares, e promover efeitos benéficos à saúde do hospedeiro (BALCIUNAS *et al.*, 2013; SILVA, 2015; ANVISA, 2021). A capacidade de produzir substâncias antimicrobianas com ação bactericida ou bacteriostática, como

bacteriocinas, é uma propriedade desejável de uma cepa probiótica, pois pode proporcionar uma vantagem na competição e colonização do trato gastrointestinal (MARTINEZ *et al.*, 2013).

Vários probióticos são bactérias lácticas que apresentam tolerância a acidez, capazes de converter a lactose em ácido lático, podendo ser aeróbias, microaerófilas, anaeróbias facultativas ou anaeróbias (LIMA, 2017). As culturas probióticas empregadas na produção de produtos lácteos devem apresentar propriedades tecnológicas desejáveis que permitam uma boa multiplicação no leite com características sensoriais adequadas, como aroma e textura (LIMA, 2013; WENDLING, WESCHNFELDER, 2013).

Para que possam promover os benefícios a eles associados, o consumo dos produtos probióticos deve ser frequente e em quantidade adequada de bactérias probióticas viáveis, para que possam sobreviver ao trato gastrointestinal e desempenhar o seu papel no intestino (ERTEM; ÇAKMAKÇI, 2018). Para que um alimento possa ter alegação probiótica é necessário que ele possua entre  $10^6$  e  $10^7$  UFC/g ou superior de células viáveis no momento do consumo, os benefícios à saúde, ou efeito probiótico, devem ser comprovados e reconhecidos (OZCAN *et al.*, 2016; ANVISA 2018).

O interesse pelos probióticos vem ampliando o seu mercado, tornando o potencialmente probiótico a ser aplicado em diferentes categorias de alimentos funcionais. Diante de estudos prévios realizados já demonstraram inocuidade, propriedades probióticas e tecnológicas promissoras. Além disso, estudos clínicos estão sendo iniciados para avaliar a capacidade desse microrganismo de sobreviver frente a passagem pelo trato gastrointestinal.

### **3.2.1 Probióticos em alimentos**

O consumo de alimentos tradicionais e fermentados naturalmente, com culturas vivas potencialmente benéficas, vem ocorrendo há anos (FIOCCO *et al.*, 2020). Dentre os alimentos probióticos, o iogurte é o mais consumido pela população. Este, juntamente com outros alimentos como queijos, sobremesas, fórmulas infantis e ingredientes probióticos atingiu 50 bilhões de dólares em vendas em 2020, com estimativa crescente de 8% ao ano (COLOMBO *et al.*, 2018; MIN *et al.*, 2018).

Durante muito tempo o setor de laticínios era o único probióticos. Os iogurtes com adição de probióticos representam 80% da produção global de produtos probióticos (BEHERA, PANDA, 2020). Com o aumento da alergia à proteína do leite, intolerantes à lactose e do veganismo entre outras questões relacionadas à saúde, alimentos não lácteos também são utilizados para veicular probióticos (BEHERA, PANDA, 2020). Segundo Min *et al.* (2018),

cereais, frutas, carnes e soja podem ser utilizados para produção de alimentos probióticos não lácteos, garantido a viabilidade dos microrganismos benéficos.

A viabilidade da microbiota pode ser afetada por uma série de fatores intrínsecos dos alimentos com pH, acidez titulável, atividade de água e oxigênio, e extrínsecos relacionados ao processamento e estocagem (TERPOU et al., 2019).

### 3.2.2 Lactobacilos

As bactérias lácticas são geralmente “reconhecidas como seguras” e constituem um importante grupo de bactérias em produtos fermentados. O grupo das bactérias lácticas incluem gêneros como *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Lactococcus sp.*, *Weissella sp.* e *Pediococcus sp.* entre outros (JANG et al., 2019). São relatadas propriedades incluindo não patogenicidade, tolerância ao ácido e bile, atividade antimicrobiana e a possibilidade de serem adequados para processos industriais. Vem ganhando cada vez mais atenção e são utilizadas como probióticos de várias maneiras na indústria alimentícia, como em culturas iniciadoras, suplementos alimentares e preservação de alimentos (ARTI et al., 2017; LEE et al., 2014; SON et al., 2018).

Os lactobacilos são classificados de acordo com suas características fermentativas. Em homofermentativos, são os que produzem ácido lático como principal produto da fermentação. Eles são encontrados e isolados de diversos nichos, incluindo produtos lácteos, carnes e vegetais, residem no trato gastrointestinal dos seres humanos e de outros animais. Existem vários lactobacilos importantes e de interesse na área de alimentos, tais como: *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*), *L. acidophilus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. delbrueckii*, *L. crispatus*, *L. salivarius* e *L. helveticus*. Existem também os lactobacilos heterofermentativos além do ácido lático, também produzem outras substâncias, como o dióxido de carbono, ácido acético e etanol (NASCIMENTO, 2017; SILVÉRIO, 2014)

Até março de 2020, o gênero *Lactobacillus*, proposto em 1901 por Beijerinck, tinha 261 espécies que diferiam muito, em relação aos aspectos genotípicos, fenotípicos e ecológicos. Por isso, para manter agrupadas as espécies que apresentavam mais afinidade, Zheng et al. (2020) propôs uma nova organização taxonômica “A taxonomic note on the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae”. De acordo com a nova taxonomia proposta por Zheng et al. (2020), o *Lactobacillus plantarum* passou a ser classificado como *Lactiplantibacillus plantarum*, que é uma das espécies mais conhecidas do gênero *Lactobacillus*, sendo encontrado em vegetais, alimentos fermentados e na mucosa intestinal humana saudável (SIEZEN et al., 2010). A espécie *Lactiplantibacillus plantarum* pode ser

utilizado em fermentação láctica, devido à elevada taxa de conversão de açúcares (glicose, frutose e sacarose) em ácido láctico. Pertencem ao mesmo grupo do *L. plantarum*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. brevis* e *L. reuteri* (NASCIMENTO, 2017).

*Lactiplantibacillus plantarum* é uma bactéria láctica, Gram-positiva, não móvel, não formadora de esporos, microaerofílica e mesofílica. É uma das espécies mais versáteis, colonizando o trato gastrointestinal e vaginal, laticínios e alimentos fermentados (GARCIA-GONZALES et al., 2021). O interesse pela utilização de *L. plantarum* foi reforçado por suas propriedades funcionais e promotoras de saúde documentadas (SEDDIK et al., 2017; BEHERA et al., 2018). Dentre as propriedades benéficas atribuídas a *L. plantarum* destacam-se atividade de reduzir colesterol (KUMAR; GROVER; BATISH, 2011), aumento da barreira intestinal e modulação da microbiota comensal (YANG et al., 2014).

Com relação aos benefícios à saúde, atribuídos ao *L. plantarum*, destacam-se a redução da distensão abdominal e da flatulência, além de ser utilizado no tratamento da síndrome do intestino irritável (CAVALHEIRO et al., 2019).

A cepa nativa *L. plantarum* CNPC003 utilizada nesta pesquisa, foi isolada a partir de leite de cabra, selecionada com base na segurança, no potencial como probiótico e nas características tecnológicas avaliadas *in vitro*. A *L. plantarum* tem capacidade de acidificação e coagulação do leite, apresenta atividade proteolítica e produz diacetil (composto aromático) durante a fermentação. Ele sobrevive à simulação da passagem pelo trato gastrointestinal *in vitro*, tem atividade de  $\beta$ -galactosidase e aptidão para produção de queijo. Com base nestas propriedades, a cepa apresenta potencial para ser um probiótico e aptidão tecnológica para produção de leite fermentado concentrado (DE MORAES et al., 2017).

### 3.3 Prebióticos

Os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, que influenciam benéficamente a saúde, estimulando seletivamente a multiplicação ou o aumento de atividade da microbiota benéfica. Os prebióticos podem ser compostos fenólicos, fibras alimentares, açúcares não-digeríveis, álcoois e oligossacarídeos, sendo o último encontrado como componente natural de frutas, vegetais, leite e mel (GIBSON et al., 2017).

A principal ação dos prebióticos é estimular a multiplicação e/ou ativar o metabolismo de alguns grupos de bactérias benéficas da microbiota intestinal. Os prebióticos têm a capacidade de melhorar a sobrevivência, multiplicação, o metabolismo e as atividades benéficas dos probióticos no sistema digestivo (KHANGWAL, SHUKLA, 2019).

Os prebióticos têm sido associados a uma variedade de benefícios à saúde, incluindo um aumento na biodisponibilidade de minerais, particularmente cálcio, modulação do sistema imunológico, prevenção da incidência ou melhora na gravidade e duração das infecções gastrointestinais, como diarreia grave, diarreia aguda e diarreia associada a antibióticos, além da modificação de condições inflamatórias, como a síndrome do intestino irritável (SII), colite ulcerativa e doença inflamatória intestinal (DII), regulação de distúrbios metabólicos relacionados à obesidade e redução do risco de câncer (CHARALAMPOPOULOS, RASTALL, 2012).

A demanda global por prebióticos cresceu sensivelmente nos últimos 10 anos, dentre os prebióticos os principais são: dissacarídeos como lactulose e lactitol; os oligossacarídeos, como fruto-oligossacarídeos (FOS), galacto-oligossacarídeos (GOS), xilo-oligossacarídeos (XOS), isomalto-oligossacarídeos, oligossacarídeos de soja e oligossacarídeos pécticos; e os polissacarídeos como inulina e os amidos resistentes (MOHANTY et al., 2018).

Segundo a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics – ISAPP), os produtos alimentícios que possuem probióticos e prebióticos podem ser considerados como simbióticos. O conceito de simbiótico foi atualizado recentemente, e distingue dois grupos de produtos, que dependem da interação entre os probióticos e prebióticos presentes. A combinação deve possibilitar a sobrevivência do probiótico no alimento e nas condições do ambiente gástrico e intestinal, possibilitando sua ação no cólon intestino. Os prebióticos podem atuar de forma complementar ou sinérgica com os probióticos, apresentando assim fator multiplicador sobre ações isoladas (SWANSON *et al.*, 2020).

Portanto, o consumo de prebióticos pode trazer efeitos benéficos, tais como: melhorar a biodisponibilidade de minerais, reduzir a presença de metabólitos tóxicos, modular os grupos microbianos intestinais benéficos, reduzir os níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos, fatores esses que contribuem para a redução do risco de câncer de cólon. A atratividade dos produtos simbióticos é crescente, pois combinam as ações probióticos e prebióticos, estimulando o desenvolvimento e a atividade metabólica dos probióticos, potencializando os efeitos e expandindo a gama de aplicação em novos alimentos funcionais (GÓMEZ, 2019).

### **3.4 Antioxidantes**

Compostos naturais com atividade antioxidante incluem os compostos fenólicos. (antocianinas, flavonóides e ácidos orgânicos), dentre muitas outras classes de biomoléculas (GRANATE, 2016; LIN et al., 2016; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA,

2010). Para ser considerado antioxidante, a substância deve ser capaz de prevenir a oxidação de compostos reativos, estimular o mecanismo de defesa do organismo e fornecer uma grande quantidade de moléculas com propriedades sequestrantes de radicais livres (MUNHOZ et al., 2014).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está relacionada com a presença de grupos hidroxila, que são capazes de doar íons  $H^+$  aos radicais livres, impedindo a formação de reações em cadeia de oxidação (LOSADA-BARREIRO; BRAVO-DÍAZ, 2017).

A função do antioxidante é inibir a oxidação de outras moléculas, prevenindo assim, os danos oxidativos aos lipídios, proteínas, RNA e DNA (CHRISTENSEN, 2018). No organismo humano, os antioxidantes são divididos em dois grupos, os antioxidantes endógenos (enzimático ou não enzimático) e os antioxidantes exógenos, provenientes de frutas e vegetais como os carotenoides, vitamina E, A e C, flavonoides (NEHA et al., 2019; CÖMERT; GÖKMEN, 2020; WALL-MEDRANO; OLIVAS-AGUIRES, 2020).

### **3.5 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são substâncias com ampla distribuição na natureza, que fazem parte da composição dos vegetais, sendo sintetizados como produtos do metabolismo secundário para sinalização e defesa das plantas. Em geral, apresentam-se como moléculas responsáveis pela coloração dos alimentos. Estes compostos agem como antioxidantes, tanto pela habilidade em doar elétrons ou hidrogênio, como também pela ação sobre os radicais intermediários que impedem a oxidação nos alimentos (QUIDEAU *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos têm grande diversidade química, desempenhando papel muito importante na saúde humana, devido ao potencial nutricional, antioxidante, antibacteriano e antifúngico. Nas plantas, além de exercer o papel de defensivos naturais, os compostos fenólicos desempenham função de agentes atrativos para a polinização e disseminação de sementes (LIN *et al.*, 2016; MEDINA *et al.*, 2011; VUOLO; LIMA; MARÓSTICA JUNIOR, 2019).

Os compostos fenólicos que mais se destacam em alimentos são os fenilpropanóides, os flavonóides e os taninos, que são compostos dotados de propriedades biológicas e químicas benéficas à saúde. Normalmente são responsáveis pela cor, sabor e aroma de frutas, flores, vegetais e especiarias (CHIKEZIE; IBEGBULEM; MBAGWU, 2015; NUNES, BESTEN, 2016; FERREIRA, 2017).

### 3.6 Antocianinas

As antocianinas fazem parte família dos flavonoides, sendo consideradas compostos bioativos, principalmente devido às propriedades antioxidantes que exercem. As antocianinas são pigmentos naturais de frutas, flores, folhas, responsáveis pelas cores variando de tons de rosa, vermelho a roxo e azul. São solúveis em água e sofrem alterações de cor, de acordo com o pH em que se encontram. As antocianinas são as responsáveis pela coloração escura da casca da maioria das espécies de jabuticaba. (TARONE; CAZARIN; MAROSTICA JUNIOR, 2020; THORNTHWAITE; THIBADO; THORNTHWAITE, 2020).

As antocianinas também podem ser utilizadas como conservantes naturais, por possuírem efeito antibacteriano e capacidade antioxidante (GONG *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2019; SUN *et al.*, 2018; TIAN *et al.*, 2020; YONG; LIU, 2020). O grande interesse nas antocianinas pode ser verificado no relatório do Mercado Global de antocianinas de 2020-2025, que destaca que existe uma previsão aumento de aplicação de antocianinas, com crescimento anual em torno de 4,5% até 2025.

Quanto ao benefício das antocianinas na saúde humana, destaca-se a atividade antioxidante, antialérgica, anti-inflamatória, antiviral, antiproliferativa, antimicrobiana, antimutagênica, antitumoral, melhora da microcirculação capilar periférica, também estão associadas a baixa prevalência ou alívio de alguns distúrbios do câncer, de doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade e declínio cognitivo (CASSIDY, 2018; FAKHRI *et al.*, 2020; FALLAH *et al.*, 2020; GOMES *et al.*, 2019; GOWD; BAO; CHEN, 2019; KIRAKOSYAN *et al.*, 2018; SAKAKI; MELOUGH; CHUN, 2020; XIE *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2019; KANG *et al.*, 2019).

#### 3.6.1 Compostos fenólicos e antocianinas de jabuticaba

Os compostos fenólicos provenientes da jabuticaba possuem diferentes propriedades, tais como capacidade antioxidante, antimicrobiana, antiproliferativa e anti-inflamatória. (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; LEITE-LEGATTI *et al.*, 2012). Além disso, os compostos fenólicos da jabuticaba melhoram o perfil lipídico plasmático e a sensibilidade à insulina, diminuem a peroxidação lipídica no plasma e no cérebro, aumentam a atividade de enzimas antioxidantes em diversos órgãos, em modelos animais, contribuindo para o controle do diabetes e obesidade (ALEZANDRO *et al.*, 2013; LENQUISTE *et al.*, 2019). Em um estudo com seres humanos, foi avaliado o papel preventivo da casca de jabuticaba em doenças metabólicas, observando-se a redução dos níveis de insulina de glicose (PLAZA *et al.*, 2016).

Os compostos fenólicos encontrados na jabuticaba são produzidos como metabólitos secundários e fazem parte dos mecanismos de defesa da planta contra raios ultravioleta, ataques de insetos, animais ou patógenos (ALARA; ABDURAHMAN; UKAEGBU, 2021).

A casca da jabuticaba tem coloração violeta escura e a polpa da fruta é branca e gelatinosa na maturidade. A fruta pode ser consumida *in natura*, mas grande parte da produção é processada sendo transformada em geleia, polpa, suco, licores e outras bebidas alcoólicas. A casca representa até 35% da massa da fruta *in natura* e devido a rigidez e adstringência, em geral, ela é consumida, porém as cascas são a parte da fruta, mas rica em compostos fenólicos, principalmente em antocianinas, flavonóis e taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos) (WU; LONG; KENNELLY, 2013; MORALES et al., 2016; PLAZA et al., 2016; PEREIRA et al., 2017; NEVES et al., 2018).

Na Tabela 1 podem ser observados os diferentes compostos de interesse identificados e caracterizados provenientes de jabuticaba, com as metodologias utilizadas para a caracterização dos mesmos.

**Tabela 1:** Identificação e caracterização dos diferentes compostos de interesse presente na jabuticaba (na tabela foram listados os compostos, as metodologias utilizadas e a publicação científica).

Compostos	Método	Referência
Ácido 3,4-dihidroxibenzóico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Ácido 4-hidroxibenzóico	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Ácido cafeico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Catequina	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Ácido clorogênico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Ácido elágico	Extração com metanol, água e solução de ácido acético (70:30:0,5, v/v/v) e detecção com HPLC-PDA	Alezandro et al (2013)
Ácido felúrico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Ácido gálico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Ácido siríngico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)

	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Ácido p-cumárico	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
	Extração com água e etanol (80:20) (v/v) e detecção por HPLC-PDA-ESI/MS	Albuquerque et al (2020)
Cianidina-3-O-glicosídeo	Extração com metanol, água e solução de ácido acético (70:30:0,5, v/v/v) e detecção com HPLC-PDA	Alezandro et al (2013)
	Maceração com etanol acidificado com HCl 1,5 mol L <sup>-1</sup> (85:15, v/v) e quantificação por HPLC-PDA	Lima et al (2013)
	Extração com água e etanol (80:20) (v/v) e detecção por HPLC-PDA-ESI/MS	Albuquerque et al (2020)
Delfinidina-3-O-glicosídeo	Extração com metanol, água e solução de ácido acético (70:30:0,5, v/v/v) e detecção com HPLC-PDA	Alezandro et al (2013)
	Maceração com etanol acidificado com HCl 1,5 mol L <sup>-1</sup> (85:15, v/v) e quantificação por HPLC-PDA	Lima et al (2013)
Isoquercitrina	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Isorhamnetina	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Kaempferol	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Luteolina	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Miricetina	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Naringenina	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
Pinobanksin	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)
	Extração com VS-MSPD e detecção por UHPLC- MS/MS	Senes et al (2021)
Quarcetina	Hidrólise ácida com HCl e detecção por LC-ESI- MS/MS	Serralho et al (2018)

Fonte: ROSA et al (2022), com modificação.

### **3.7 Fibras alimentares**

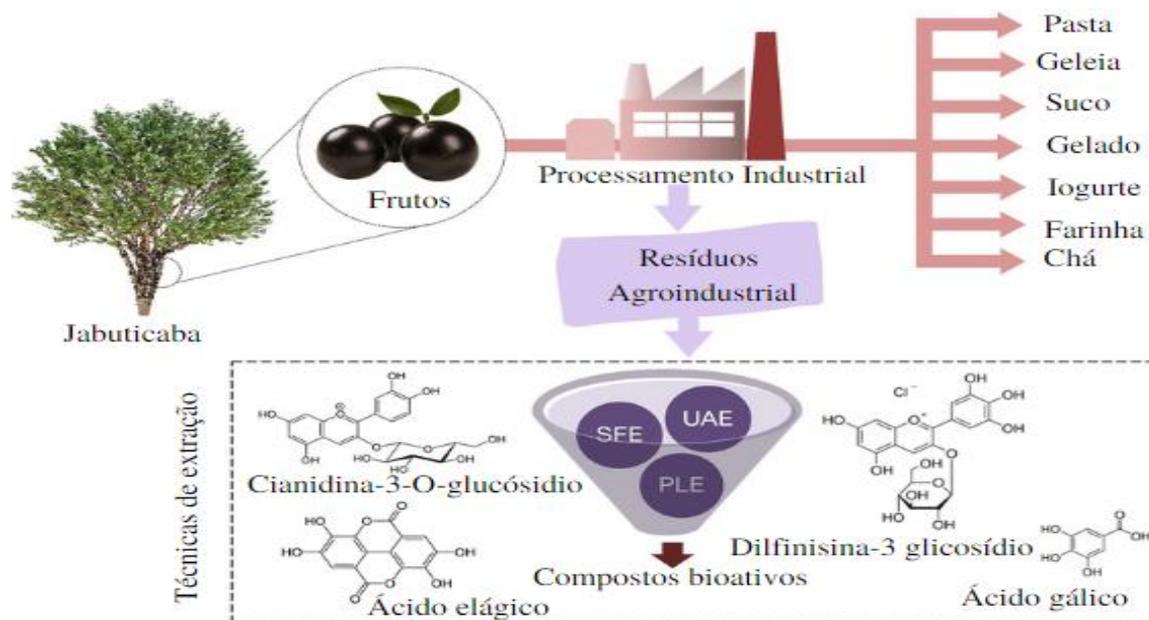
O *Codex Alimentarius* da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), define fibra dietética como sendo moléculas constituídas de polímeros de carboidratos com dez ou mais unidades monoméricas, que não são hidrolisadas por enzimas endógenas no intestino delgado de seres humanos (CODEX, 2013).

Os compostos presentes nas fibras alimentares são: polissacarídeos (celulose, hemicelulose, pectinas, gomas e mucilagens), lignina, carboidratos análogos (amido resistente e maltodextrinas resistentes), oligossacarídeos (frutanos), compostos associados aos polissacarídeos (fenólicos, carotenoides, fitosteróis, proteínas da parede celular, ceras, cutina e suberina) e fibras de origem animal (quitosana, quitina, colágeno e condroitina) (DHINGRA et al., 2012).

São muitas as fontes de fibras disponíveis no mercado brasileiro, além das fontes naturais, como as frutas, verduras e legumes, as fibras também estão presentes nos grãos, cereais e farelos. As indústrias de ingredientes buscam novas fontes de fibras para o mercado nacional, em especial, as provenientes da biodiversidade brasileira (CIUDAD-MULERO *et al.*, 2019).

### **3.8 Jabuticaba**

A jabuticabeira (*Myrciaria* sp.) é uma planta frutífera nativa da Mata Atlântica brasileira, encontra-se presente em toda extensão territorial, e se adapta desde o clima tropical ao subtropical úmido, como em Minas Gerais, Espírito Santos, São Paulo e Rio de Janeiro que são os estados que apresentam maior produção (ALMEIDA, 2018; OLIVEIRA, 2018). Das espécies, destaca-se a Sabará por ser mais comum e mais estudada e demonstrar valor econômico interessante mediante as características favoráveis dos seus frutos tanto para o processamento (geleias, bebidas fermentadas, licores) como para o consumo *in natura* (ALMEIDA, 2018; MIRANDA, 2019). A Figura 1 ilustra o processamento industrial e as possibilidades de produtos que podem ser gerados a partir da fruta de jabuticaba.



**Figura 1:** Ilustração do processamento industrial da jabuticaba e dos produtos de valor agregado gerados. Fonte: ROSA et al (2022), com adaptação.

A jabuticaba, consiste em uma baga globosa de até 3 cm de diâmetro contendo de 1 a 4 sementes (OLIVEIRA et al., 2020). A casca é fina e muito frágil de cor avermelhada a preta, com polpa mucilaginosa de cor esbranquiçada a translúcida e geralmente é doce com leve acidez (OLIVEIRA 2018). A safra tem uma curta duração, em geral, ocorre no final do inverno e início da primavera, porém é abundante (OLIVEIRA, 2018). A jabuticaba é muito perecível devido ao elevado teor de água, açúcares, vitaminas, minerais presentes na polpa, e portanto, apresenta um curto período de comercialização *in natura* após a colheita, durando até três dias (OLIVEIRA et al., 2020).

Geralmente, na fabricação de produtos de jabuticaba, as cascas e semente são descartadas, sendo que representam aproximadamente 50% da massa do fruto *in natura*, levando à problemas, como geração de resíduos agroindustriais e impacto ambientais devido ao descarte inapropriado (ZAGO, 2014; MIRANDA, 2019). Estudos com jabuticabas têm identificados substâncias bioativas (ou compostos bioativos), em quantidades significativas e benéficas à saúde humana (DEL RIO, 2013). Dentre elas estão as antocianinas, carotenoides, vitamina C e outros polifenóis (RIGOLON 2017; DEL RIO, 2013).

Diante disso, concluiu-se que é bastante interessante a produção de farinhas, com as casca para elaborações de bolos, pães, cookies, bolachas, dentre outros, uma vez que os compostos bioativos encontram-se concentrados na casca da jabuticaba (BAPTISTELLA, COELHO, 2019).

Os efeitos para a saúde das cascas de jabuticaba têm sido investigados e apresentam resultados promissores que serão listados. Leite-Legatti et al. (2012) observaram que extrato de cascas de jabuticaba apresentou efeito antiproliferativo contra a leucemia sem provocar danos no DNA e efeitos mutagênicos em estudo com camundongos. Alezandro, Granato e Genovese (2013) observaram redução de 32% no colesterol total e 50% do triacilglicerol, além do aumento da atividade antioxidante plasmática entre 2 e 2,5 vezes, em ratos diabéticos alimentados por 40 dias com 1,0 e 2,0 g de casca de jabuticaba (peso seco) kg de peso corporal. Batista et al. (2014), induziram a obesidade por meio de uma dieta hiper lipídica em ratos e notaram a redução da peroxidação lipídica no fígado e no cérebro, além de aumento da atividade antioxidante, com a ingestão de casca de jabuticaba liofilizadas.

Em um estudo clínico piloto, Plaza et al. (2016) observaram maior capacidade antioxidante sérica e redução sérica da insulina, 4 horas após a ingestão de uma segunda refeição contendo 27,6 g de pó de casca de jabuticaba liofilizada, em indivíduos saudáveis. Observou-se também redução da resistência à insulina periférica e preservação de funções cognitivas, além de redução do ganho de peso, também foram observadas por Batista et al. (2018).

Em outro estudo, um extrato de cascas de jabuticaba demonstrou melhora da sensibilidade à insulina, redução do colesterol total e LDL, melhora do HDL e redução da esteatose hepática e inflamação em camundongos envelhecidos, alimentados com alto teor de gordura (LAMAS et al., 2018). Extratos de casca de jabuticaba também preveniram a obesidade e altas concentrações de glicose sérica de jejum, além de atenuar a hiperinsulinêmica, em camundongos alimentados com dieta rica em sacarose, especialmente um extrato com altas concentrações de taninos, conforme relatam Moura et al. (2018). Efeitos no sistema imunológico de ratos com Diabetes mellitus induzidas também foram observadas pela administração de extrato de casca de jabuticaba (CALLONI et al., 2020).

Em estudo clínico, o extrato fenólico de casca de jabuticaba presente em uma bebida à base de proteína de soro de leite aumentou a capacidade antioxidante plasmática de atletas, auxiliando na atenuação do estresse oxidativo em indivíduos treinados (FERREIRA et al., 2020).

### **3.8.1 Aproveitamento das diferentes partes da jabuticaba**

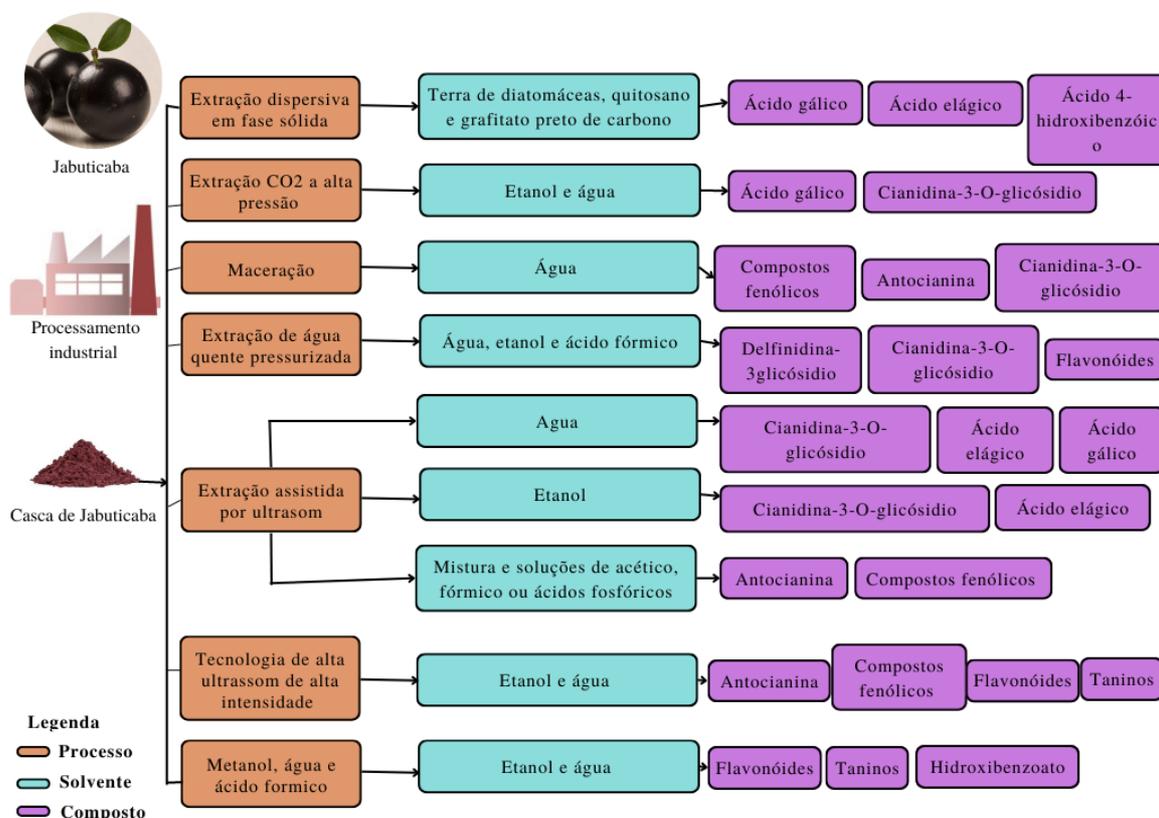
Os resíduos do processamento de alimentos por uma variedade de fonte, principalmente têm impactos ambientais, sociais e econômicos. Durante muito tempo, os resíduos foram

tratados apenas como um problema ambiental, pois, são lançados em aterros sanitários ou queimados para a produção de energia. No entanto, recentemente os resíduos obtidos no processamento de alimentos têm sido valorizados pela comunidade científica devido ao potencial uso na produção de ingredientes e/ou aditivos alimentares, prebióticos, biocombustíveis, óleos, na fortificação de alimentos e no desenvolvimento de alimentos funcionais (CAMPOS et al., 2020; TRIGO et al., 2020).

Os maiores produtores mundiais de resíduos alimentares são as indústrias de processamento de frutas, e a quantidade varia de acordo como produto de origem, chegando até 50% da fruta inteira, *in natura* (GÓMEZ; MARTINEZ, 2018). De 40 a 50% das frutas e hortaliças são desperdiçadas em todo mundo (FAO, 2015). Vários estudos indicam que esses resíduos, que são compostos por cascas, caule, semente e/ou bagaço, contêm teores mais elevados de compostos bioativos e nutricionais do que nas partes comestíveis das frutas (CAMPOS et al., 2020; SILVA et al, 2014).

Dentre os resíduos agroindustriais com potencial para utilização em alimento, encontram-se as cascas e sementes de jabuticaba. A casca da jabuticaba apresenta propriedades adstringentes, sendo eficaz contra a irritação de pele e prevenindo diarreia (WU; LONG; KENNELLY, 2013). As cascas e sementes de jabuticaba são fontes de compostos bioativos, com elevada capacidade antioxidante, podendo ser uma opção para o desenvolvimento de ingredientes funcionais, para a fabricação de alimentos e/ou ração animal, contribuindo para a redução dos resíduos produzidos no processamento industrial de jabuticaba.

Dentre as possibilidades de aproveitamento da casca de jabuticaba, uma alternativa simples e barata é a produção de farinha, em que as cascas são desidratadas e trituradas. Essa farinha pode ser incorporada em diferentes produtos alimentícios, como em pães, biscoitos, bebidas lácteas e embutidos, tendo sido aplicada com sucesso em diferentes produtos alimentícios (MORALES *et al.*, 2016). Recentemente, a FCJ também foi utilizada em sorvete de jabuticaba e em leite fermentado probiótico (PINHO, 2019; ZIN, 2018). Como pode ser observado, a Figura 2 apresenta diversas rotas tecnológicas para valorização dos subprodutos da jabuticaba e obtenção de compostos bioativos.



**Figura 2:** Possibilidades de rotas tecnológicas para a valorização dos subprodutos do processamento da jabuticaba e obtenção de compostos bioativos. Fonte: Rosa et al (2022), adaptada.

A alta concentração de antocianinas na casca de jabuticaba possibilita a utilização desta como corante natural (DALLABONA *et al.*, 2020), que pode ser incorporado em produtos alimentícios (OLIVEIRA; ALENCAR; STEEL, 2018) com alegação de funcionalidade (MORALES *et al.*, 2016). O isolamento dos compostos bioativos é utilizado para elaboração de fármacos, bem como na indústria química (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020). Como exemplo, a cianidina-3-O-glicosídeo e a delfinidina-3-O-glicosídeo, isoladas com elevado grau de pureza,

acima de 95%, que são produzidas pela Sigma-Adrich® para serem utilizadas como padrões analíticos em análises.

Nos últimos anos, observou-se um interesse crescente da indústria de alimentos pela substituição dos aditivos artificiais por compostos naturais. Por exemplo, a casca de jabuticaba possui capacidade de conferir cor aos produtos alimentícios, e apresenta alta capacidade antioxidante (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020), além de apresentar ação anti-inflamatória, antimutagênica, antimicrobiana e antiproliferativa (TARONE *et al.*, 2021).

A obtenção de corantes naturais a partir da casca da jabuticaba é uma alternativa viável, devido à elevada concentração de antocianinas quando comparada a outras frações da fruta. Neste sentido, a utilização da casca de jabuticaba no desenvolvimento de produtos lácteos probióticos e prebióticos aparece como uma alternativa inovadora (FERREIRA, 2017).

Além das características já descritas, estudos têm demonstrado que a casca da jabuticaba pode apresentar potencial prebiótico, favorecendo a manutenção dos probióticos no produto (FERREIRA, 2017).

### **3.9 Leite fermentado**

A Instrução Normativa N° 46 de 23 de outubro de 2007, do MAPA, define Leites Fermentados como:

“os produtos adicionados ou não, de substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de microrganismos específicos. Estes microrganismos específicos devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto final durante seu prazo de validade.”

Dentro dessa normativa observa-se a existência de diferentes tipos de leites fermentados, tais como: iogurte, leite fermentado ou cultivado, coalhada, Kefir e Kumys (BRASIL, 2007).

Os leites fermentados devem conter como ingredientes obrigatórios, o leite e/ou leite reconstituído padronizado em seu conteúdo de gordura e cultivos de bactérias lácticas e/ou cultivos de bactérias lácticas específicas. Em relação aos ingredientes opcionais, eles podem conter: leite concentrado, creme, manteiga, gordura anidra de leite ou butteroil, leite em pó, caseinatos alimentícios, proteínas lácteas, outros sólidos de origem láctea, soros lácteos e concentrados de soros lácteos. Podem ainda conter frutas em formas de pedaços, polpa, suco e outros preparados a base de frutas, maltodextrinas e outras substâncias alimentícias tais como: mel, cereais, frutas secas, chocolate, especiarias, café e outras, de forma combinada ou não,

açúcares e/ou glicídios, cultivo de bactérias lácticas secundárias. Os ingredientes opcionais não lácteos, podem estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final (BRASIL, 2007).

Os alimentos fermentados são populares devido as propriedades sensoriais agradáveis e elevado valor nutricional. Além disso, os alimentos fermentados são reconhecidos como fonte de diversas substâncias bioativas com atividade promotora de saúde, como peptídeos bioativos e vitaminas, que podem ser produzidas devido à atividade metabólica de microrganismos envolvidos na fermentação (MELINI et al., 2019). A produção de produtos lácteos fermentados vem crescendo a cada ano, e o mercado em expansão (SAKANDAR; ZHANG, 2021).

O consumo regular de leite fermentado probiótico é interessante para manutenção de uma microbiota intestinal saudável, com elevada concentração de probióticos é um produto amplamente apreciado e consumido por suas características sensoriais e nutricionais (NERES; SOUZA; BEZERRA, 2016).

### **3.10 Leite fermentado concentrado**

É possível observar um aumento de oferta e variedade no mercado dos iogurtes e de leites fermentados concentrados no Brasil, que tem crescido por demanda dos consumidores (MAGALHÃES; DELLA TORRE, 2018). Os leites fermentados concentrados são produtos mais consistentes, com concentração das proteínas e/ou lipídios, são mais cremosos e consistentes quando comparados aos leites fermentados/iogurtes. (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Os leites fermentados são muito utilizados como veículos de microrganismo probiótico e de ingredientes prebiótico.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local da pesquisa**

O experimento foi realizado no Laboratório de Leite, na Planta 1 da Embrapa Agroindústria de Alimentos, localizada na Avenida das Américas 29501, Guaratiba-RJ.

### **4.2 Material**

#### **4.2.1 Culturas lácticas e leite**

O leite integral esterilizado (marca Nestlé Ninho<sup>®</sup>) foi adquirido no mercado local.

A cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* CNPC 003 potencialmente probiótica pertence à coleção de microrganismos da Embrapa Agroindústria de Alimentos. O *L. plantarum* foi

isolado de soro de leite e escolhido para esta pesquisa, por ter apresentado em estudos anteriores, inocuidade e propriedades probióticas e tecnológicas promissoras.

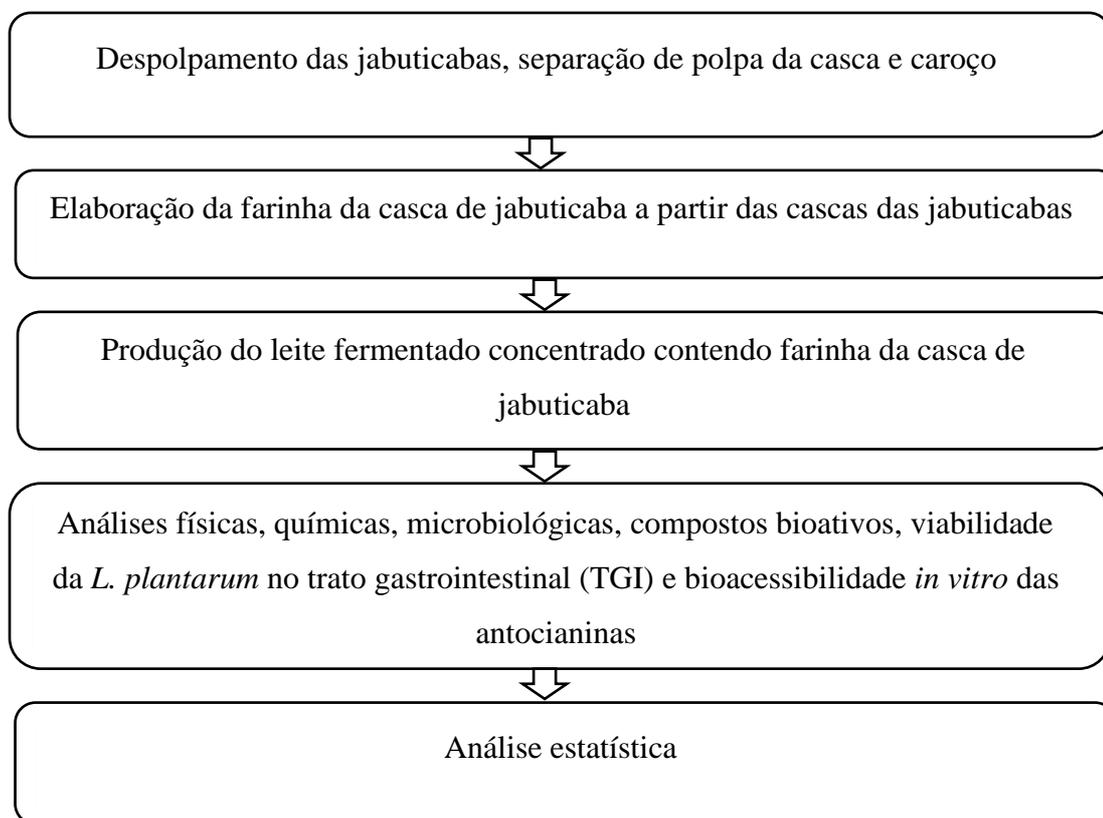
A cultura de *Streptococcus thermophilus* utilizada foi a TA-40<sup>®</sup> linhagem comercial da Danisco/DuPont do tipo DVS (Direct-Vat Set, direto ao tanque). Foi utilizada por ser uma bactéria iniciadora que auxiliou no processo fermentativo.

#### **4.2.2 Jabuticaba**

As jabuticabas utilizadas no presente estudo pertencem à variedade Sabará (*Plinia sp.*). Elas foram gentilmente cedidas por Susanna Von Bulow Ulson, produtora de jabuticaba, Fazenda Santa Maria, em Joaquim Egídio, Campinas, SP.

As jabuticabas orgânicas foram colhidas, colocadas em sacos plásticos (com um quilograma de fruta) e congeladas para o transporte até à Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ) em caixas térmicas. As jabuticabas foram mantidas sob congelamento até o momento do processamento final.

A Figura 3, apresenta fluxograma, mostrando as principais etapas realizadas na caracterização das jabuticabas, desenvolvimento e caracterização do leite fermentado concentrado.



**Figura 3:** Fluxograma das principais atividades realizadas para esse estudo. Fonte: Autor, (2022).

#### 4.3 Processo de obtenção da cepa de *L. plantarum* CNPC 003

A cepa selecionada (mantida a 80 °C) foi descongelada e ativada a 37 °C por 24 horas em Erlenmeyer de 500 mL em 200 mL de caldo MRS para ser usada como um fermento. O *L. plantarum* ativado (2% v/v) foi transferido para o Biorreator Tecnal® BIO-TEC-PRO (volume 10L) contendo 50 g/L de concentrado proteico de soro de leite em pó WPC35 (30 % de proteína, 56 % de carboidratos, 7% de gordura e 6,5% de cinzas). O pH foi ajustado para 6,0 e mantido sob agitação em 150 rpm. A fermentação foi conduzida por 20 horas.

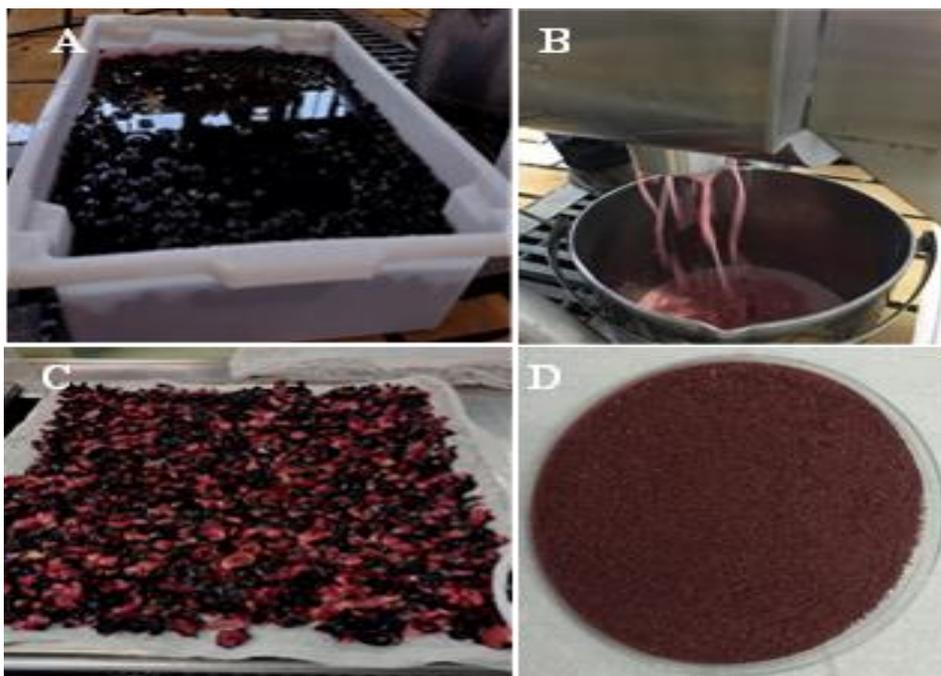
O fermentado filtrado (passado por uma malha filtrante, 150 mm) para retirar possíveis partículas que poderiam obstruir o atomizador. A atomização foi realizada em um *Spray Dryer* (Niro®), com temperatura de entrada de 140 °C, temperatura de saída de 85 °C, vazão de ar de 460 m/s e vazão do processo de 10 L/h.

O fermento desidratado obtida foi acondicionado em embalagens laminadas do tipo PET-PE (polietileno-poliéster) metalizadas, seladas a vácuo e mantidas sob congelamento (-15°C).

#### **4.4 Produção da farinha da casca de jabuticaba**

O processamento das jabuticabas foi realizado na Embrapa Agroindústria de Alimentos, conforme descrito por Zin (2018). As jabuticabas foram descongeladas sob refrigeração. Inicialmente, as frutas foram lavadas e, subsequentemente, sanitizadas por imersão em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 5% (concentração de 200 ppm do cloro ativo), por 20 minutos para redução da contaminação inicial da superfície da fruta (Figura 4A). Posteriormente, as jabuticabas foram enxaguadas em uma mesa com aspersores de água para retirar o resíduo da solução sanitizante.

Logo após a etapa de higienização, foi realizado o despulpamento em uma despulpadeira horizontal (Bonina 0,25df) (Figura 4B). No despulpamento, foram obtidas duas frações: uma líquida (polpa) e outra sólida (cascas e caroços). As cascas e caroços de jabuticabas foram submetidas à desidratação convectiva em um secador de bandeja com circulação forçada de ar, com temperaturas entre 40 a 45 °C, por 36 horas (Figura 4C). O resíduo desidratado passou novamente pela despulpadeira para separação das cascas dos caroços.



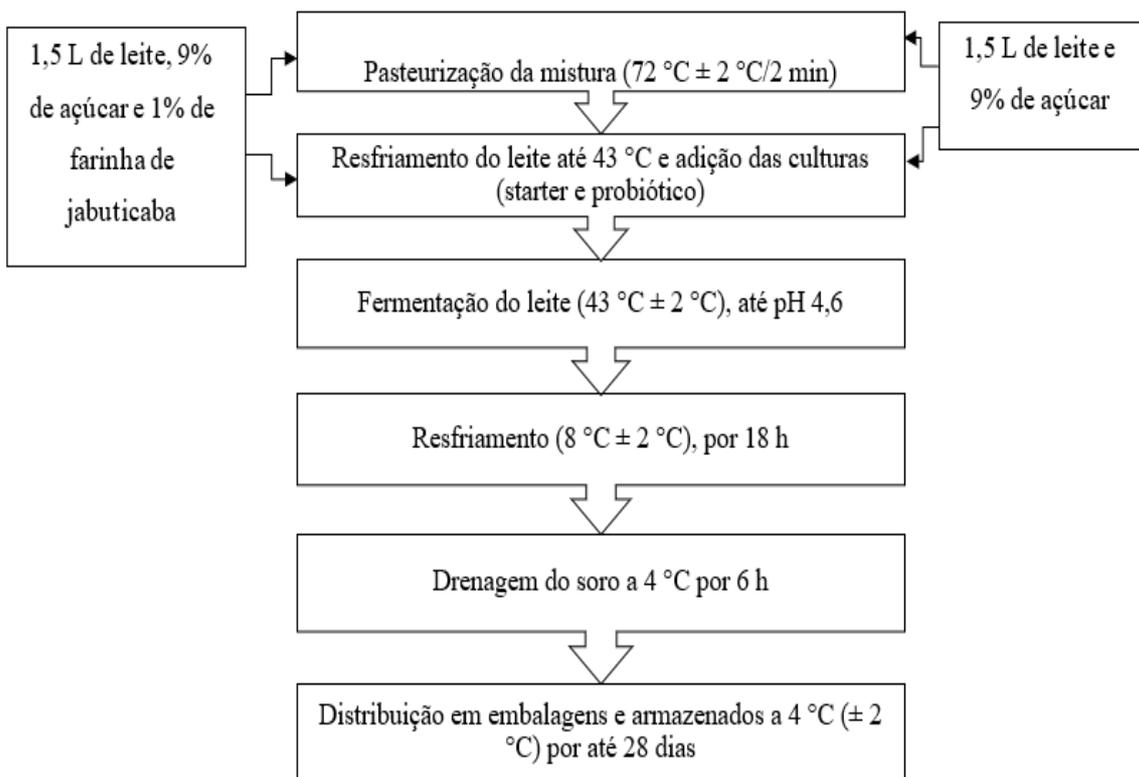
**Figura 4:** Fotografias das principais etapas do processamento da farinha da casca de jaboticaba. Fonte: Autor, (2022).

Em seguida, as cascas desidratadas foram trituradas em moinho de martelo (Modelo 3100<sup>®</sup>, Perten Instruments AB, Huddinge, Suécia), e passaram em um conjunto de peneiras (Mesh 20 e 35) para uniformizar o tamanho das partículas (Figura 4D). Foi utilizada a fração de 20 mesh na elaboração do produto. A farinha de casca de jaboticaba (FCJ) foi acondicionada em embalagens de polietileno metalizada, seladas a vácuo e armazenadas sob congelamento a -18 °C, até o momento da utilização.

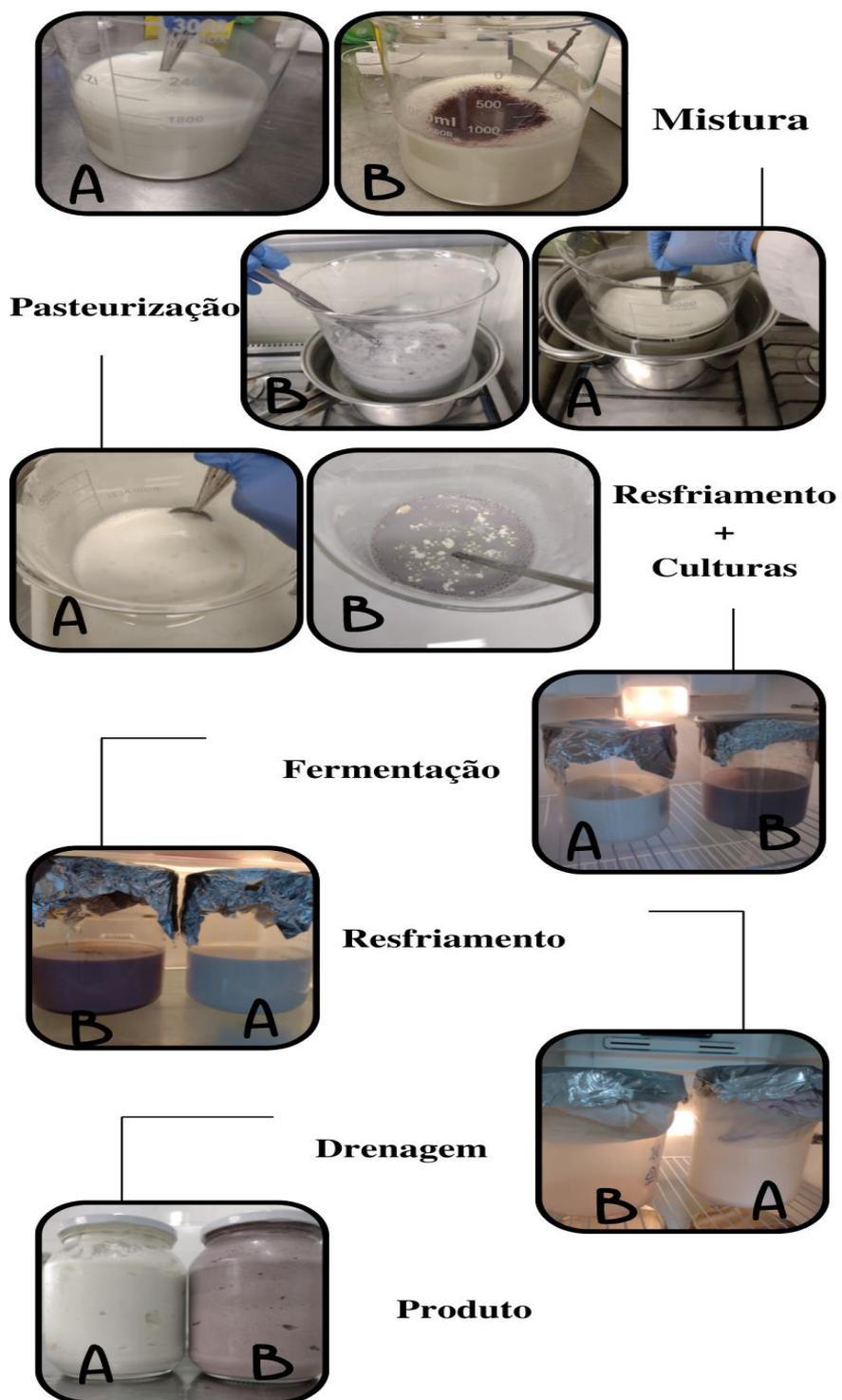
#### **4.5 Produção do leite fermentado concentrado**

No processamento do leite fermentado utilizou-se leite integral esterilizado com adição do *L. plantarum* (1 g por litro de leite) em co-cultura com *S. thermophilus* TA-40 inoculada na concentração de 0,03 g por litro de leite. A farinha da casca de jaboticaba foi adicionada na concentração de 1% e o açúcar 9%, ambos adicionada no início da pasteurização do leite até 72 °C. O processamento foi realizado em duplicata, ou seja, foram produzidas em 2 lotes e os valores apresentados são as médias destes dois processamentos, conforme descrito na Figura 5.

Foi realizada a mistura dos ingredientes leite, açúcar e FCJ (menos na formulação controle), aquecida a 72 °C e o tratamento térmico mantido durante 2 minutos, sendo o LFFCJ o produto com adição de 1% de FCJ e o LFC (formulação controle sem adição da FCJ). Em seguida, o resfriamento até a temperatura de 43 °C para inoculação das bactérias lácticas. Após a mistura de todos os ingredientes, a temperatura foi mantida a 43 °C para a fermentação que ocorreu em uma BOD (SL – 200, Solab<sup>®</sup>), até atingir o pH 4,6. A fermentação durou cerca de cinco horas, e para reduzir a atividade das bactérias lácticas, o produto foi colocado sob refrigeração a 8 °C por 18 h. Em seguida, ocorreu o processo de concentração do leite fermentado, realizado da seguinte forma: o produto foi transferido para um saco de tecido previamente esterilizado para que ocorresse a dessoragem, que foi realizada à 4 °C por 6 h. O leite fermentado concentrado foi pesado e foram separadas as porções para as diferentes análises. Nas Figuras 5 e 6 podem ser observados os fluxogramas com as principais etapas de elaboração do leite fermentado concentrado.



**Figura 5:** Fluxograma de elaboração do leite fermentado concentrado.



**Figura 6:** Fluxograma ilustrativo da elaboração do LFC (A) e LFFCJ (B). Fonte: Autor, (2022).

#### **4.6 Análise da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrados.**

Foram realizadas análises físico-químicas para a caracterização da farinha da casca de jabuticaba (FCJ) e dos produtos elaborados (LFFCJ e LFC). As análises foram realizadas no dia seguinte ao processamento (dia 1) e aos 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado para o produto ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

A determinação de pH e de acidez titulável total foram realizadas em um titulador automático, modelo 785 DMP Tritino, Metrom, Suíça de acordo com AOAC (2012).

#### **4.7 Determinação da cor instrumental**

A determinação da cor instrumental foi realizada por meio de colorímetro digital de bancada modelo (CR400, Konica Minolta) no dia 1 e 28 dias do produto sobre armazenamento, a leitura foi realizada diretamente na superfície da amostra, a partir da emissão de um feixe de luz da lente do colorímetro, medido por refletância, sob um adaptador, com superfície de vidro, encaixado no potinho de borracha, onde se encontra a amostra ( $\pm 30$  g). Os resultados foram expressos nas coordenadas CIE/LAB que incluem as variáveis  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

#### **4.8 Composição centesimal da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrados**

A composição centesimal da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrado foi determinada de acordo com os métodos oficiais da AOAC (2010) no dia 28 sobre armazenamento. O teor de umidade (009), cinzas (011), proteína (012), lipídios (922.06), fibra alimentar (050) e o teor de carboidrato total foi calculado por diferença de acordo com a Equação 1

$$\text{Equação 1: } \text{Carboidratos (\%)} = 100 - (\text{umidade} + \text{cinzas} + \text{proteínas} + \text{lipídios})$$

#### **4.9 Análises Microbiológicas**

##### **4.9.1 Viabilidade do *L. plantarum* CNPC 003 e *S. thermophilus* nos leites fermentados concentrados**

As análises foram realizadas no dia seguinte ao processamento dia 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado para o produto ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Para avaliar a viabilidade de *L. plantarum* CNPC 003, amostras de um grama dos leites fermentados foi coletado, diluído em 9 ml de água peptonada esterilizada (diluição  $10^{-1}$ ), seguido de homogeneização em vórtex e repouso de 30 minutos. Diluições decimais seriadas foram preparadas utilizando a primeira diluição do fermento ( $10^{-1}$ ), seguida de semeadura de

um mililitro em profundidade (*Pour plate*) em ágar MRS (Neon, NCM0035A, Reino Unido). Segundo a recomendação do International Dairy Federation (1995), o meio foi acidificado com ácido acético glacial 1M para atingir o pH 5,4. Procedendo-se a adição de 20 mL do ágar (45 °C), por placa de Petri estéril, homogeneização e solidificação do ágar, seguido de incubação em aerobiose a 37 °C/48 h em estufa bacteriológica (Fanem, 502). Após 48 h, foram realizadas as contagens das colônias características, com a utilização de contador de colônias (Phoenix Luferco, CP 608).

Para a contagem de *S. thermophilus*, as diluições decimais foram preparadas conforme anteriormente descrito. O plaqueamento das amostras foi realizado em ágar M17 (Oxoid®, CM0785, Reino Unido) suplementado de solução de lactose (Synth) a 10% (50 mL/L) e incubação em aerobiose a 37 °C/48h de acordo com Richter e Vedamuthu (2001).

#### **4.9.2 Análise microbiológica da farinha da casca de jabuticaba e dos leites fermentados concentrados**

As análises microbiológicas da FCJ incluíram a pesquisa de *Salmonella* sp., a contagem de *Escherichia coli* (*E. coli*) e a contagem de bolores e leveduras, conforme estabelecidos pela Instrução Normativa IN N° 161 de 01 de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2022) tanto para a farinha de casca de jabuticaba como dos leites fermentados concentrados.

#### **4.10 Sobrevivência do *L. plantarum* na simulação *in vitro* da passagem pelo trato gastrointestinal**

A avaliação da sobrevivência de *L. plantarum* nos leites fermentados concentrados foi realizada aos 7 e 28 dias de armazenamento refrigerado ( $4 \pm 2$  °C). Amostras dos produtos foram submetidas à simulação de passagem *in vitro* pelo trato gastrointestinal, adaptado do método consensual Infogest que foi realizada conforme Minekus et al (2014).

Para simular a fase gástrica (TI), foram preparados tubos Falcon estéreis contendo 10 mL das amostras e o pH foi ajustado entre 2,0 e 2,6 com solução de HCl 1 N. Em seguida foram adicionadas soluções de pepsina e de lipase padronizadas com concentrações de 3 g/L e 0,9 mg/L, respectivamente. Após, os tubos foram incubados a 37 °C, em banho de água (Banho Dubnoff) com agitação constante (150 rpm durante 2 horas). Alíquotas das amostras foram coletadas e plaqueadas para contagem de *L. plantarum*. Após duas horas de incubação, iniciou-se a fase entérica 1 (TII) com o ajuste do pH para 5,4 a 5,7 por meio da adição da solução alcalina estéril de NaOH 1N e, em seguida, as amostras receberam a solução de bile bovina e

de pancreatina padronizadas para atingir concentrações de 10 g/L e 1 g/L, respectivamente. As amostras foram novamente incubadas a 37 °C por 2 horas. Ao final da fase entérica 1 (TII), o pH foi ajustado entre 6,8 a 7,2, com solução alcalina, bile e pancreatina e as amostras foram novamente incubadas a 37 °C por mais 2 horas, sob agitação constante, o que correspondeu à fase entérica 2 (TIII). Alíquotas das amostras foram coletadas e plaqueadas para contagem de *L. plantarum*.

As taxas de sobrevivências (TS%) foi calculada de acordo Wang et al. (2009), para *L. plantarum* após a simulação das fases gástrica e entérica, de acordo com a Equação 2.

$$\text{Equação 2 - Taxa de sobrevivência (TS\%): } TS\% = \frac{\text{Log UFC N1}}{\text{Log UFC N0}} \times 100$$

Onde:

N1 = contagem de *L. plantarum* após simulação gástrica (TI) e/ou entérica (TIII);

N0 = contagem de *L. plantarum* nos produtos, antes das simulações gastrintestinais (T0).

#### 4.11 Teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante

As análises foram realizadas no dia seguinte ao processamento dia 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado para o produto ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) para o teor de compostos fenólicos.

Amostras do LFCFJ foram pesadas em triplicatas em tubo Falcon de 15 mL, foi adicionado 10 mL de metanol 50%, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente por uma hora, centrifugadas a 2000 rpm por 15 minutos (centrífuga Marca Thermo Scientific, modelo TX 150). O sobrenadante foi transferido para balão volumétrico de 25 mL. A seguir, 10 mL de acetona 70% foi adicionado ao precipitado, que foi mantido em temperatura ambiente por uma hora e centrifugado nas mesmas condições. O extrato de acetona foi combinado com o extrato de metanol no mesmo balão volumétrico, que foi calibrado para 25 mL de água destilada, de acordo com o método de Larraure, Rupérez e Soura-Calixto (1997), com modificação.

O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (OLANDA, OWUOR E TAYLOR, 1997) com adaptações. Uma curva padrão com ácido gálico foi preparada. Diluições do produto foram preparadas 1:5 do extrato de cada amostra em balão volumétrico de 5 mL e calibrado com água destilada. Em tubos de ensaio foi adicionado 250 uL da amostra, 1,25 mL do reagente Folin-Ciocalteu e 1 mL de solução carbonato de sódio a 20 %, a mistura foi mantida em banho-maria (Banho Ultratermostático, Nova Técnica) durante 17 minutos.

Em seguida, procedeu-se à determinação da absorvância a 760 nm em espectrofotômetro (Marca Shimadzu, modelo UV-1800). Os resultados foram expressos em mg equivalente para ácido gálico.

#### **4.12 Determinação de Antocianinas totais**

A análise foi realizada no dia seguinte ao processamento dia 1 e 28 dias de armazenamento refrigerado para o produto ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

O teor de antocianina total foi determinado por meio do método do pH diferencial, utilizando duas soluções, tampão a pH 1,0 (cloreto de potássio (0,2 mol/L) e ácido clorídrico (0,2 mol/L)) e tampão a pH 4,5 (Acetato de sódio (2 mol/L) e ácido clorídrico (0,2 mol/L)). Após a extração, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm durante 5 minutos. Alíquotas dos extratos foram diluídas na proporção 1:5 ml. A absorvância de cada amostra foi determinada a 510 nm e 700 nm no espectrofotômetro (Marca Bel Photonics, modelo UV-M51). O teor de antocianina total foi expresso em Cianidina-3-glicosídeo mg/L.

#### **4.13 Capacidade antioxidante**

A análise foi realizada no dia seguinte ao processamento dia 1 e 28 dias de armazenamento refrigerado para o produto ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

A capacidade antioxidante da farinha da casca de jabuticaba e do leite fermentado concentrado foi determinado somente pelo método ABTS<sup>+</sup> de acordo com Serpen et al. (2007).

Os extratos foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por Rufino et al. (2007) e a quantificação foi realizada de acordo com Re et al. (1999). Os resultados foram expressos em TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g.

#### **4.14 Tratamento Estatístico**

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, um fatorial 5x2x2, constituído da adição do probiótico (sem nível de variação), adição de farinha da casca de jabuticaba (sem nível de variação) e de 5 tempo de armazenamento (1, 7, 14, 21 e 28 dias após o processamento) cinco níveis de variação, com 2 repetições.

Os dados foram submetidos ao teste de Cochran C, adotando-se um valor de  $\alpha$  de 0,05 para verificar os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade. A comparação entre as médias foram realizadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância. O software estatístico utilizado para as análises foi o programa estatístico Release 8<sup>®</sup>.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização da farinha da casca de jabuticaba (FCJ)

#### 5.1.1 Determinação da composição centesimal, pH e Acidez titulável

A Tabela 2 apresenta os valores médios das análises de composição centesimal, pH e acidez na farinha da casca de jabuticaba.

Tabela 2: Determinação da composição centesimal, pH e acidez da farinha da casca de jabuticaba, valor médio  $\pm$ DP.

Constituintes	Farinha da casca de jabuticaba (g/100g)
Umidade	7,14 $\pm$ 0,04
Cinzas	2,23 $\pm$ 0,07
Proteínas	4,65 $\pm$ 0,01
Lipídios	0,84 $\pm$ 0,07
Fibra Alimentar	31,90 $\pm$ 0,03
Carboidratos totais	53,24 $\pm$ 0,03
Acidez	10,47 $\pm$ 0,37
pH	3,61 $\pm$ 0,05

De acordo com a legislação brasileira, as farinhas podem conter um teor máximo de umidade de 15% (BRASIL, 2005). Desta forma, a farinha da casca de jabuticaba (FCJ) encontra-se em conformidade com a referida legislação, uma vez que apresentou 7,14 g/100 g de umidade.

De acordo com estudos realizados por Zago (2014) na caracterização da FCJ, observou-se 11,1% de umidade, Leite-Legatti et al. (2012) observaram um valor mais alto de 15,33%. Alves et al. (2014) observaram valores que variam de 9,28 para 14,01 ao estudar a FCJ desidratada ao longo de 12 meses de estocagem. E Zin (2018) encontrou valor bem próximo ao observado neste estudo de 6,19%.

O teor de cinza da farinha da casca de jabuticaba foi de 2,23 g/100 g, bem inferior ao observado por Lamounier et al. (2015) que encontrou 4,23 g/100 g.

O teor de lipídios da FCJ de 0,84 g/100 g, foi semelhante ao observado por Gurat et al. (2014), que foi de 0,83 g/100 g para a farinha da casca de jabuticaba liofilizada.

Segundo a Resolução RDC n° 54, de 12 de novembro de 2012, da ANVISA, alimentos que tenham no mínimo 6% de fibras podem ser classificadas como tendo um alto conteúdo de

fibras (ANVISA, 2012). Sendo assim, a FCJ desidratada pode ser considerada como um ingrediente com alto teor de fibras, uma vez que, a mesma possui 31,9% de fibras alimentares.

O alto teor de carboidratos totais (53,24 g/100 g) pode estar sendo superestimado na análise de composição centesimal, uma vez que as fibras solúveis e de baixa massa molecular (oligossacarídeos) não são plenamente quantificadas pelo método usado para determinação de fibras (AOAC, 2010). Assim, estima-se que, parte desses carboidratos quantificados pela diferença possam ser fibras solúveis e de baixa massa molecular. Os carboidratos que geralmente compõem esse tipo de amostra são provenientes dos açúcares livres residuais que permaneceram na fração da casca, como já por exemplo de Beres et al. (2019), ao analisar a farinha da casca de uva.

Nesta pesquisa, a FCJ apresentou um pH de 3,61 e, portanto, pode ser classificada como um ingrediente ácido. Valores semelhantes foram encontrados por Zago (2014) e Zin (2018) de 3,90 e 3,42, respectivamente. O valor de acidez observado foi de 10,47%, muito superior ao encontrado por Zin (2018), que foi de 6,61%.

### 5.1.2 Caracterização microbiológica da FCJ

A Tabela 3 apresenta as contagens de microrganismos indicadores de contaminação da farinha da casca de jaboticaba.

**Tabela 3:** Contagem de microrganismos indicadores de contaminação na farinha da casca de jaboticaba.

Microrganismos	Contagem (Log UFC/g)	Contagem máxima (Legislação UFC/g)
<i>Escherichia coli</i>	$<1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^2$
Bolores e Leveduras	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^4$
<i>Salmonella sp.</i> (em 25 g)	Ausência	Ausência

A contagem de *Escherichia coli* (*E. coli*) foi inferior a  $1,0 \times 10^1$ , ficando abaixo do máximo permitido que é de  $10^2$  UFC/g. A contagem de bolores e leveduras foi de  $1,0 \times 10^2$  UFC/g, ficando abaixo do limite máximo permitido que é  $10^4$  UFC/g, além de ter ausência de *Salmonella* em 25 g, desta forma a FCJ atendeu aos padrões exigidos pela legislação vigente. Os padrões microbiológicos estão de acordo com a RDC N° 724 e a IN N° de 01 de setembro de 2022 (BRASIL, 2022).

Os resultados das análises microbiológicas demonstraram a qualidade microbiológica da FCJ, evidenciando as boas condições higiênico-sanitárias de processamento, estando apta para consumo e podendo ser utilizada como ingrediente na formulação do leite fermentado concentrado.

### 5.1.3 Compostos bioativos da FCJ

A Tabela 4 apresenta os valores médios de antocianinas (mg/100 g), de compostos fenólicos (mg /100 g) e a capacidade antioxidante *in vitro* ( $\mu\text{mol Trolox/ g}$ ) da farinha da casca de jabuticaba.

**Tabela 4:** Teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante (Média  $\pm$  DP) da farinha da casca de jabuticaba.

Compostos Bioativos	Farinha da casca de jabuticaba
Antocianinas monoméricas (mg /100 g)	37,46 $\pm$ 2,69
Compostos fenólicos totais (mg /100 g)	1264 $\pm$ 22,17
Capacidade antioxidante ( $\mu\text{mol trolox/ g}$ )	97,79 $\pm$ 6,30

Como pode ser observado na Tabela 4, o conteúdo fenólico da FCJ foi 1264  $\pm$  22,17 mg de ácido gálico/100 g. A capacidade antioxidante foi de 97,79  $\pm$  6,30  $\mu\text{mol trolox/ g}$  e teor de antocianinas 37,46  $\pm$  2,69 mg/100 g.

Estudo realizado por Almeida et al. (2019) encontrou valores de 99,23 mg/100 g de antocianinas, compostos fenólicos 1054,63 mg/100 g e capacidade antioxidante de 287,98  $\mu\text{mol trolox/g}$ . Enquanto Zin (2018) encontrou teor de compostos fenólicos de 544,37 mg/100 g bem mais baixo do que o observado nesta pesquisa, porém, em relação ao teor de antocianinas (601,88 mg/100 g) e capacidade antioxidante 1084,12  $\mu\text{mol trolox/ g}$  foram observados valores bem superiores.

Isso pode ser explicado em razão das diferentes condições de extração envolvidas, como solvente extrator, pH, tempo de extração e relação casca/solvente, uma vez que as mesmas cascas foram utilizadas (BERES et al., 2016). O teor de antocianinas aqui encontrado para casca de jabuticaba foi maior que o descrito por outros autores ao avaliar polpa de açaí, morango, repolho roxo e berinjela, que são reconhecidos como alimentos rico nesse corante.

## 5.2 Caracterização e monitoramento do leite fermentado concentrado durante a estocagem

### 5.2.1 Composição centesimal dos leites fermentados concentrados

A composição centesimal dos dois leites fermentados concentrados, um controle (LFC) e outro adicionado de farinha de casca de jabuticaba (LFFCJ) pode ser observada na Tabela 5.

**Tabela 5:** Composição centesimal dos leites fermentados concentrados, LFC e LFFCJ valor médio  $\pm$  DP.

Constituintes	Composição centesimal	
	LFC	LFFCJ
Umidade	77,56 <sup>A</sup> $\pm$ 1,92	78,19 <sup>A</sup> $\pm$ 0,11
Cinzas	0,72 <sup>A</sup> $\pm$ 0,02	0,72 <sup>A</sup> $\pm$ 0,01
Proteínas	3,39 <sup>A</sup> $\pm$ 0,73	3,10 <sup>A</sup> $\pm$ 0,12
Lipídios	4,47 <sup>A</sup> $\pm$ 0,82	3,89 <sup>A</sup> $\pm$ 0,16
Fibras alimentares	NQ	NQ
Carboidrato total	13,86 <sup>A</sup> $\pm$ 0,03	14,10 <sup>A</sup> $\pm$ 0,03

LFC = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico controle.

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com incorporação de farinha da casca de jabuticaba.

Letras maiúsculas sobrescritas distintas na mesma linha indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes leites fermentados concentrados para um mesmo dia de armazenamento.

NQ: Quantidade abaixo do limite de quantificação do método utilizado.

Com relação à composição centesimal não se observou diferença significativa entre os leites fermentados.

Em relação ao teor de proteínas dos leites fermentados concentrados observou-se (3,10 a 3,39 g/100 g), valores em conformidade com a legislação vigente, que estabelece um mínimo de 2,9 g/100 g, para leites fermentados.

Com relação ao teor de lipídio a Instrução Normativa n° 46 do MAPA estabelece que os leites fermentados podem ser classificados em: com creme (mínimo de 6,0 g/100 g), integral (mínimo de 3,0 g/100 g), parcialmente desnatado (máximo de 2,9 g/100 g) e desnatado (máximo de 0,5g/100 g) (BRASIL, 2007). Dessa forma, os leites fermentados concentrados deste estudo são classificados como produtos integrais, pois tem mais de 3% de gordura e menos do que os produtos com creme, que devem ter um mínimo de 6%.

O valor de fibras alimentares ficou abaixo do limite mínimo de quantificação do método utilizado, uma vez que foi adicionada de 1% de farinha de casca de jabuticaba.

## 5.2.2 Parâmetros físico-química: pH e acidez titulável

A Tabela 6 apresenta os valores médios de acidez titulável dos leites fermentados concentrados, com farinha da casca de jabuticaba (LFFCJ) e controle (LFC), durante os 28 dias de armazenamento refrigerado ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

**Tabela 6:** Valores médios  $\pm$  DP de acidez titulável de LFC e LFFCJ com 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerada ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

Parâmetros	Tempo (Dias)	Leite fermentado concentrado	
		LFC	LFFCJ
Acidez titulável (mg de ácido/ g)	1	0,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,68 <sup>b</sup> $\pm$ 0,04
	14	0,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,67 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02
	28	0,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02	0,68 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02
pH	1	4,60 <sup>b</sup> $\pm$ 0,16	4,92 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02
	14	4,53 <sup>b</sup> $\pm$ 0,02	4,78 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01
	28	4,45 <sup>b</sup> $\pm$ 0,01	4,74 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01

LFC = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico controle.

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com farinha da casca de jabuticaba.

Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo leite fermentado concentrado.

A acidez titulável é um importante indicador de qualidade em produtos lácteos, e quando a acidez aumenta normalmente ocorre diminuição do pH. O aumento da acidez ao longo da estocagem se justifica, pois mesmo sob refrigeração as bactérias continuam fermentando lentamente a lactose e produzindo ácido lático (BARBOSA, GALLINA, 2017; JANUÁRIO et al., 2017).

Os produtos formulados não apresentaram acidificação ao longo dos 28 dias de estocagem refrigerada, sendo um bom indicativo para preservar a qualidade sensorial dos produtos. Em consequência, também não houve variação significativa do pH ao longo do armazenamento refrigerado. O LFC variou de 4,61 a 4,45 e o LFFCJ de 4,92 a 4,78.

Os valores de acidez titulável dos produtos ficaram na faixa de 0,68 a 0,79 mg de ácido lático/ g, estando de acordo com a norma vigente, que exige valores de acidez titulável entre 0,6 e 1,5 para leites fermentados (MAPA, 2007).

Sah et al. (2016) observaram redução significativa de pH em todas as amostras de iogurtes probióticos analisadas durante o período de 28 dias sob refrigeração, sendo que nas formulações adicionadas de farinha de cascas de abacaxi, o declínio do pH foi maior quanto comparadas às formulações controle. Zin et al. (2018) ao estudar o efeito bifidogênico da

farinha de casca de jabuticaba em leite fermentado probiótico observou valores de pH de 4,79 próximo ao observado nesta pesquisa.

### 5.2.3 Cor instrumental

A Tabela 7 apresenta as coordenadas de cor instrumental dos leites fermentados concentrados, com farinha da casca de jabuticaba (LFFCJ) e o controle (LFC) durante 28 dias de armazenamento a  $(4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$ .

**Tabela 7:** Parâmetros de cor dos leites fermentados concentrados LFC e LFFCJ à temperatura de refrigeração de  $(4 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C})$  durante os 28 dias.

Parâmetros	Tempo (Dias)	Cor instrumental	
		LFC	LFFCJ
Luminosidade (L*)	1	86,86 <sup>b</sup> ±0,27	52,18 <sup>a</sup> ±0,29
	14	87,41 <sup>a</sup> ±0,01	51,92 <sup>a</sup> ±0,07
	28	87,74 <sup>a</sup> ±0,16	51,40 <sup>b</sup> ±0,15
(a*)	1	-1,63 <sup>b</sup> ±0,07	8,39 <sup>a</sup> ±0,04
	14	-2,02 <sup>c</sup> ±0,13	7,85 <sup>b</sup> ±0,01
	28	-0,94 <sup>a</sup> ±0,03	7,85 <sup>b</sup> ±0,06
(b*)	1	5,35 <sup>b</sup> ±0,42	0,04 <sup>b</sup> ±0,02
	14	10,17 <sup>a</sup> ±0,34	0,06 <sup>b</sup> ±0,00
	28	10,94 <sup>a</sup> ±0,21	0,19 <sup>a</sup> ±0,00

LFC = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico controle.

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com incorporação de farinha da casca de jabuticaba.

Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento.

Os leites fermentados concentrados diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) nos valores dos parâmetros L\*, a\* e b\* ao longo do armazenamento. A característica da cor branca do leite fermentado controle ocorre devido à dispersão das micelas de caseínas, fostato de cálcio e dos glóbulos de gordura responsável pela difusão da luz incidente, com maior refletância elevando os valores de L\*.

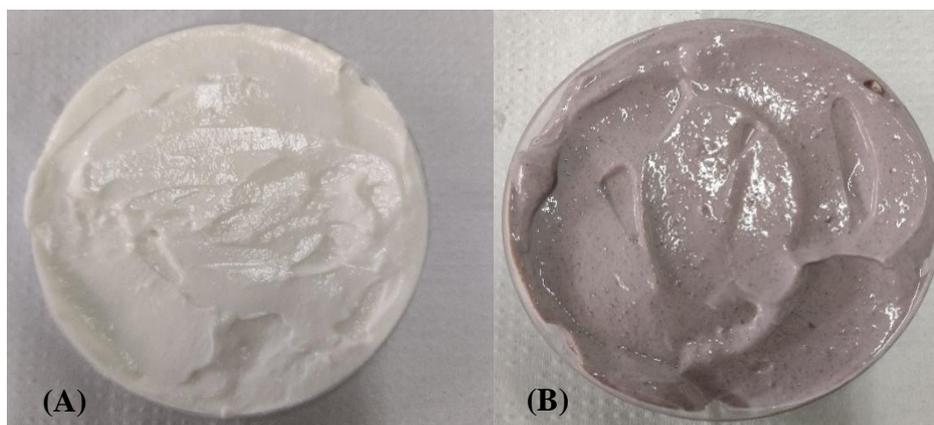
Comparando o LFC e o LFFJ, observa-se que a L\* é muito mais alto no LFC que em LFFCJ, ou seja, a formulação controle tem uma luminosidade muito superior ao com farinha da casca de jabuticaba que torna o produto mais escuro (roxo).

A coordenada colorimétrica a\* mostra a intensidade da cor que varia de vermelho a cor verde. Os valores obtidos para os leites fermentados concentrados para a coordenada a\*

(Tabela7) diferiram significativamente ( $p < 0,05$ ) durante todo o período de armazenamento estudado. A intensidade da cor vermelha está mais presente no LFFCJ, devido à incorporação da farinha da casca de jabuticaba (1%), visto que a intensidade da cor vermelha é mensurada pelos valores positivos, desse modo, quanto maiores os valores, mais vermelho serão os leites fermentados concentrados.

A coordenada  $b^*$  correspondem à intensidade de cores que variam do amarelo ( $b^*$  positivo) ao azul ( $b^*$  negativo). Os leites fermentados concentrados apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) durante os 28 dias de armazenamento.

Na Figura 7 pode-se observar a fotografia dos produtos estudados, o leite fermentado (LFFCJ) e o controle (LFC). Verifica-se que a incorporação da farinha da casca de jabuticaba conferiu ao produto uma coloração roxa, enquanto o LFC apresenta uma coloração branca.



**Figura 7:** (A) leite fermentado (LFC) e (B) leite fermentado (LFFCJ). Fonte: Autor, (2022).

Durante os dias de armazenamento observou-se no LFFCJ que a coloração foi sutilmente alterada, especialmente após 28 dias de armazenamento e a predominância da cor roxa é devido a concentração de antocianinas presente na casca da jabuticaba, pigmentos que conferem a cor características da jabuticaba. Esse resultado é muito interessante do ponto de vista tecnológico, uma vez que as antocianinas são compostos que podem sofrer degradação e promover alteração de cor mediante alterações de pH (KOOP et al., 2022). O fato da cor dos produtos terem sido preservadas, é um bom indicativo de que a farinha da casca de jabuticaba pode também servir como um corante natural nessa categoria de produto.

#### 5.2.4 Teor de compostos fenólicos LFFCJ

O teor de compostos fenólicos totais do leite fermentado concentrado (LFFCJ) encontra-se na Tabela 8. Os dados mostram que o teor desses compostos reduziu significativamente ao longo do tempo de armazenamento refrigerada ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 8:** Teor de compostos fenólicos (Média  $\pm$  DP) do LFFCJ ao longo do armazenamento refrigerado nos tempos 1, 14 e 28.

Tempo (Dias)	Compostos fenólicos totais (mg/100 g)
1	77,57 <sup>a</sup> $\pm$ 3,32
14	60,14 <sup>c</sup> $\pm$ 2,72
28	58,75 <sup>c</sup> $\pm$ 1,01

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com farinha da casca de jabuticaba. Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os dias de armazenamento.

Observou-se um decréscimo significativo ( $p < 0,05$ ) no teor de compostos fenólicos até o 14º dia de armazenamento e do 14º ao 28º dia o teor permaneceu inalterado. Uma possível explicação para esse resultado é o fato da adaptação dos microrganismos frente à presença dos compostos da farinha de casca de jabuticaba e a possível metabolização desses compostos. Uma vez promovida a adaptação, que é dada em torno de 15 dias, já se não observa alteração significativa nos valores de fenólicos totais (GONÇALVES, 2017).

O leite fermentado concentrado adicionado com 1% da farinha de casca de jabuticaba apresentou, no dia 1,  $77,57 \pm 3,32$  mg/100g de fenólicos totais. Ao comparar esse resultado com o encontrado para a farinha da casca de jabuticaba ( $1264 \pm 22,17$  mg/100g) estimava-se que o teor de fenólicos totais a ser encontrado no produto final seria em torno de 12,7 mg/100g. No entanto, foi observado um valor relativo seis vezes maior. Esse dado pode ser justificado pela ação metabólica dos microrganismos frente à matriz celular da farinha de casca de jabuticaba. Os microrganismos interagem inativamente com essa matriz e podem, inclusive, liberar mais compostos fenólicos dessa matriz para o meio em que se encontra, aumentando, a detecção desses compostos (ACHAR REFERE). Ainda, uma vez que foi adicionado uma pequena quantidade da farinha, o processo de preparo de amostra também pode ter sido beneficiado, levando à redução das perdas de extração que podem ter ocorrido na própria farinha.

Comportamento semelhante foi relato por Chouchouli et al. (2013) ao estudar iogurte com extrato de semente de uva. Freire et al. (2017) encontraram valores superiores de compostos fenólicos ao estudar um leite fermentado adicionado de extrato de casca de uva. O

teor de compostos fenólicos observado no LFFCJ (com 1% FCJ) durante os 28 dias de armazenamento foi maior, do que o encontrado por Zin (2018) que incorporou 2% de farinha de casca de jabuticaba em leite fermentado (32,71 mg/100 g), a concentração dos compostos fenólicos pode ser devido a drenagem do soro no processamento do leite fermentado concentrado.

Os ácidos fenólicos têm atividade antioxidante provavelmente devido á ocorrência de um grupo carboxila facilmente ionizável na sua estrutura, que é eficiente doador de hidrogênio (PALAFOX-CARLOS; YAHIA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2012). A atividade antioxidante desempenhada por essa classe de compostos bioativos pode impactar a saúde humana e apresentar efeitos positivos na microbiota humana após a ingestão, desempenhando um papel regulador, por meio da interação com bactérias probióticas (SIQUEIRA et al., 2013; SILVA, 2015).

### 5.2.5 Atividade antioxidante e antocianinas

Na Tabela 9 foram apresentados os valores médios de antocianinas totais (mg/100 g) e capacidade antioxidante. Os teores médios de antocianinas totais (mg/100 g) e capacidade antioxidante do LFFCJ apresentaram diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 9:** Teores de antocianinas e capacidade antioxidante (média  $\pm$  DP) do leite fermentado concentrado ao longo do armazenamento sob refrigeração ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

<b>Compostos Bioativos</b>	<b>Tempo (Dias)</b>	<b>LFFCJ</b>
	<b>7</b>	21,10 <sup>a</sup> $\pm$ 2,23
<b>Antocianinas monoméricas (mg/100 g)</b>	<b>28</b>	12,34 <sup>b</sup> $\pm$ 0,33
	<b>7</b>	5,06 <sup>a</sup> $\pm$ 0,19
<b>Capacidade antioxidante (<math>\mu\text{mol trolox/g}</math>)</b>	<b>28</b>	3,92 <sup>b</sup> $\pm$ 0,17

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com farinha da casca de jabuticaba.

Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os dias de armazenamento.

O LFFCJ apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para os teores de antocianinas (mg/100 g), ao do período de armazenamento avaliado. O teor de antocianinas no LFFCJ não foi alto, devido à baixa adição de farinha da casca de jabuticaba na formulação, como mostra a Tabela 9. Ainda assim o valor observado no dia 1 do leite fermentado concentrado adicionado da casca de jabuticaba representa em torno de 27% da quantidade de fenólicos totais quantificados no produto, no início do armazenamento ( $77,52 \pm 3,32$ ).

Ferreira et al. (2018) formularam uma bebida hidroeletrólítica à base de permeado de leite adicionado de extrato de antocianinas da casca de jabuticaba e realizaram análises de antocianinas totais e capacidade antioxidantes pelos radicais ABTS e DPPH, apresentando  $15,98 \pm 1,16$  mg/L para antocianinas totais, pelo método ABTS foi encontrado o valor de  $2,43 \pm 0,09$   $\mu\text{mol trolox/mL}$  e pelo método DPPH foi de  $2,72 \pm 0,116$   $\mu\text{mol trolox/mL}$ .

Foi observado que a capacidade antioxidante pelo método ABTS<sup>+</sup> variou de 5,06 a 3,92  $\mu\text{mol trolox/g}$  apresentando diferença significativa ( $p < 0,05$ ) ao longo do período de armazenamento. Esse dado pode ser justificado como previamente mencionado, uma vez que a metabolização desses compostos pelos microrganismos diminui a presença dos mesmos, reduzindo a capacidade antioxidante final. No entanto, apesar da capacidade antioxidante do produto formulado ter diminuído em torno de 22% ao longo do período e armazenamento, outros tipos de metabólitos com outras bioatividades podem ter sido originados. A confirmação dessa hipótese pode ser realizada por meio de estudos futuros em que sejam caracterizados tais metabólitos.

## **5.2.6 Análises microbiológicas**

### **5.2.6.1 Contagens de *L. plantarum* e *S. thermophilus* nos leites fermentados concentrados**

Na Tabela 10 pode ser observados os resultados das contagens das bactérias lácticas ao longo do período de armazenamento. As contagens de *L. plantarum* nos leites fermentados concentrados, com incorporação de farinha da casca de jabuticaba (LFFCJ) e controle (LFC) se mantiveram estáveis ( $p > 0,05$ ) e acima de 6 log ao longo de todo período de armazenagem estudado conforme observado na Tabela 10.

As contagens de *S. thermophilus* também permaneceram a acima de 6 log no LFFCJ e controle acima de 7 log. Os resultados encontram-se em conformidades com a legislação vigente, que exige que os microrganismos utilizados em leites fermentados devam ser viáveis e ativos, e estarem em concentrações igual ou superior a  $10^6$  UFC/g no produto final e durante a vida útil (MAPA, 2007).

**Tabela 10:** Contagens (média  $\pm$  DP) de *S. thermophilus* e *L. plantarum* nos LFC e LFFCJ nos dias 1, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento refrigerado.

Microrganismos	Tempo (Dias)	Contagem dos microrganismos (Log UFC/g)	
		Leite fermentado concentrado	
		LFC	LFFCJ
<i>L. plantarum</i>	1	6,49 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,17	6,42 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,30
	7	6,44 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,06	6,70 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,12
	14	6,52 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,03	7,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,29
	21	6,24 <sup>b</sup> $\pm$ 0,18	6,70 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,04
	28	6,39 <sup>b</sup> $\pm$ 0,08	6,90 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,17
<i>S. thermophilus</i>	1	7,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,73	6,34 <sup>b</sup> $\pm$ 0,75
	7	7,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,76	6,42 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,61
	14	7,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,30	6,95 <sup>a</sup> $\pm$ 0,33
	21	7,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,83	6,42 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,54
	28	7,40 <sup>a</sup> $\pm$ 1,12	6,34 <sup>b</sup> $\pm$ 0,37

LFC = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico controle.

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com incorporação de farinha da casca de jaboticaba.

Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento.

Ao final dos 28 dias de armazenamento refrigerado, as contagens na formulação controle LFC foram de 6,49 a 6,39. Em relação à formulação LFFCJ observou-se uma maior contagem de *L. plantarum* variando de 6,42 a 6,90 no período de armazenamento.

Os resultados evidenciaram que a farinha da casca de jaboticaba não afetou a viabilidade do *L. plantarum* no leite fermentado LFFCJ no período de armazenamento estudado em comparação ao controle. As contagens do *L. plantarum* foram significativamente mais altas no LFFCJ que o LFC em todas as semanas, exceto na primeira onde não se observou diferença significativa. Silva (2015) relata que aumento da viabilidade das bactérias pode ser atribuído a disponibilidade de diferentes compostos existentes nas frutas.

Para que o produto seja considerado probiótico, as bactérias devem estar viáveis, ativas e abundantes até o final do prazo de validade do produto acima de  $10^6$  UFC/g e na porção de 200 g  $10^8$  como exigido pela legislação (BRASIL, 2020).

### 5.2.6.2 Análises microbiológicas dos leites fermentados concentrados

Na Tabela 11 observam-se as contagens de microrganismos indicadores de contaminação (*Escherichia coli*, bolores e leveduras e *Salmonella sp.*) dos leites fermentados concentrado LFC e LFFCJ durante os 28 dias de armazenamento refrigerado.

**Tabela 11:** Resultado das análises microbiológicas dos produtos LFC e LFFCJ com 7 e 28 dias de armazenamento refrigerado.

Parâmetros Microbiológicos	Período (Dias)	Leite Fermentado Concentrado (UFC/g)		Máximo exigido (Legislação UFC/g)
		LFC	LFFCJ	
<i>Escherichia coli</i>	7	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10$
	28	$<1,0 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	
Bolores e Leveduras	7	$1,0 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	$2,0 \times 10^3$
	28	$2,0 \times 10^2$	$2,0 \times 10^2$	
Bactérias aeróbias mesófilas	7	$2,5 \times 10^5$	$>2,5 \times 10^6$	-
	28	$7,5 \times 10^5$	$>2,5 \times 10^6$	
<i>Salmonella sp. (25g)</i>	7	Ausência	Ausência	Ausência
	28	Ausência	Ausência	

LFC = Leite fermentado concentrado controle.

LFFCJ = Leite fermentado concentrado com incorporação de farinha da casca de jabuticaba.

Foram realizadas as contagens de *E. coli*, de bolores e levedura e de *Salmonella sp* na primeira e na última semana de armazenamento sob refrigeração. Os resultados de quantificação de *E. coli* ( $<10^1$  UFC/g) ao longo dos 28 dias de armazenamento evidenciaram que os dois produtos atenderam a legislação vigente. As contagens de bolores e leveduras do LFC e LFFCJ ao longo dos 28 dias de armazenamento atenderam a legislação, permanecendo abaixo de  $10^2$  UFC/g). Com relação à *Salmonella sp.*, observou-se ausência em 25 g nos dois tratamentos LFC e LFFCJ ao longo de 28 dias armazenamento refrigerado atendendo a legislação vigente, IN N° 161, de 01 de julho de 2022 (BRASIL, 2022).

A ausência de contaminação no LFC e LFFCJ potencialmente probiótico, armazenados por até 28 dias, aqui estudados está relacionada com a qualidade dos ingredientes e com a aplicação das Boas Práticas de Fabricação.

O período máximo de armazenamento planejado nesse estudo foi de 28 dias. Contudo, dado os resultados obtidos, é possível que o tempo máximo pudesse ser estendido, sem a necessidade de adição de conservantes. Para isso, testes adicionais por períodos prolongados

poderão ser realizados no futuro. Por essa razão, o tempo de vida útil do leite fermentado concentrado probiótico controle e do incorporado com farinha da casca de jabuticaba foi de 28 dias. Provavelmente seria possível estender ainda mais a vida útil do produto pela adição de conservantes.

### 5.2.7 Teor de antocianinas *in vitro* ao longo da simulação da digestão gastrointestinal

Os resultados da análise de antocianinas, pelo método pH diferencial, no LFFCJ durante 28 dias de armazenamento a 4 °C ( $\pm 2$  °C) se encontra na Tabela 12. Ao final da digestão, o LFFCJ apresentou redução significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de antocianinas.

**Tabela 12:** Teor de antocianinas (média  $\pm$  DP) do tratamento LFFCJ com 7 e 28 dias de armazenamento.

Antocianinas Monoméricas (mg/100 g)	Tempo	LFFJ	
	(Dias)	Fase gástrica	Fase entérica
	7	17,69 <sup>a</sup> $\pm$ 1,30	0,70 <sup>c</sup> $\pm$ 0,49
	28	15,18 <sup>b</sup> $\pm$ 0,98	0,59 <sup>c</sup> $\pm$ 0,25

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com farinha da casca de jabuticaba.

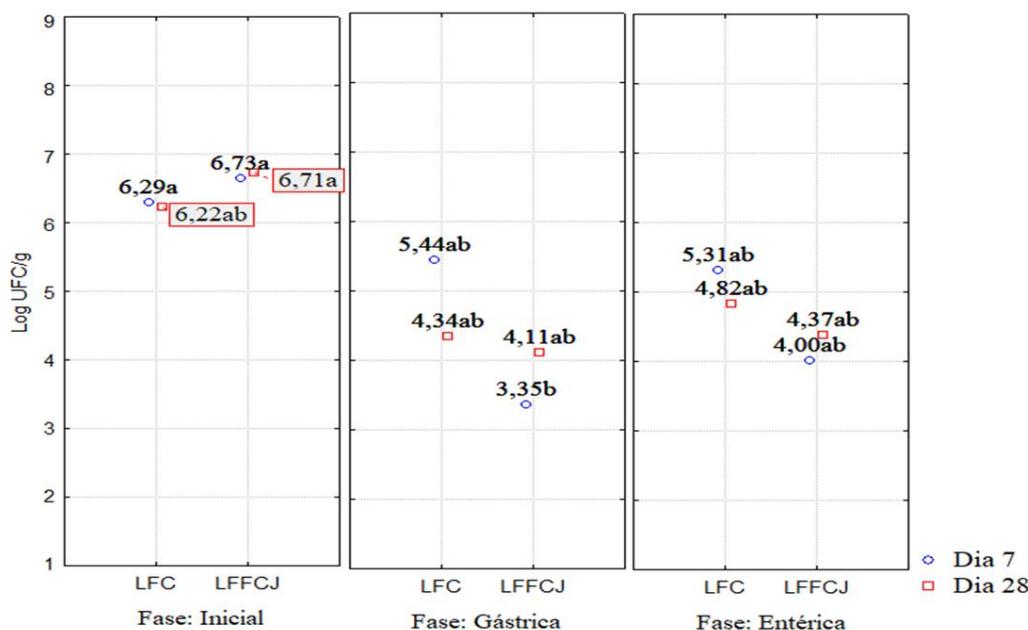
Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os dias de armazenamento.

Como pode-se observar, houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tempos avaliados na fase gástrica, já na fase entérica não houve diferença ( $p < 0,05$ ) no teor de antocianinas ao se comparar os dois produtos formulados. Em relação as antocianinas na fase gástrica os valores foram de 17,69 e 15,18 (mg/100 g), próximos ao encontrado no produto formulado no dia 1 (21,10 $\pm$ 2,23). Já os resultados apresentados para os produtos após passagem pela fase entérica da digestão, mostraram-se significativamente menores daquele observado antes da digestão. Essas alterações estão relacionadas à estrutura e estabilidade das antocianinas em diferentes condições do sistema gástrico-intestinal.

As antocianinas, geralmente são consideradas como compostos instáveis, e frequentemente sofrem degradação à medida que o pH do meio passa de ácido (pH  $\sim$  2) para alcalino (pH  $\sim$  8). A estabilidade das antocianinas, *in vitro*, depende de diversos fatores, como a natureza, o número de açúcares e de ácidos ligados à fração aglicona (CORREA-BETANZO et al., 2014; GAYOSO et al., 2016). Como pode ser observado neste estudo, a simulação da fase entérica foi realizada em pH 7,2 onde a degradação foi maior.

### 5.2.8 Sobrevivência do probiótico frente à simulação de passagem pelo trato gastrointestinal *in vitro*

As contagens de *L. plantarum* CNPC 003 nos leites fermentados concentrados (LFC e LFFCJ) submetidos à simulação *in vitro* de passagem pelo trato gastrointestinal na primeira e na última semana de armazenamento podem ser observados na Figura 8 e na Tabela 13.



**Figura 8:** Sobrevivência de *L. plantarum* CNPC 003 (média ± DP) nos LFC e LFFCJ, com 7 e 28 dias de armazenamento sob refrigeração.

As contagens do *L. plantarum* na fase inicial do teste mantiveram-se estáveis durante todo o período de armazenamento para o LFC e LFFCJ, sem diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Após a fase gástrica (2 horas de ensaio), foi observado um declínio na população de *L. plantarum* no LFFCJ, atingindo um mínimo de 3,38 ciclos logarítmicos em comparação com fase inicial, indicando uma possível sensibilidade do probiótico ao pH 2,3 a 2,6, que simulam o estômago, em comparação com a fase inicial com 7 dia de armazenamento refrigerado. Observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) das contagens no LFC após exposição às condições gástricas. No LFC foi observado um pequeno declínio nas contagens de *L. plantarum* de 0,85 ciclos logarítmico, como mostra a Figura 8.

**Tabela 13:** Taxa de sobrevivência (Média  $\pm$  DP) de *L. plantarum* CNPC 003, no LFC e LFFCJ na simulação da passagem pelo TGI.

Leite fermentado concentrado	Tempo (dias)	Fase gástrica	Fase entérica II
LFC	7	86,48 <sup>a</sup> $\pm$ 2,79	84,41 <sup>a</sup> $\pm$ 1,89
	28	69,77 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,29	77,49 <sup>ab</sup> $\pm$ 1,65
LFFCJ	7	49,77 <sup>b</sup> $\pm$ 3,41	59,43 <sup>b</sup> $\pm$ 5,37
	28	61,25 <sup>ab</sup> $\pm$ 2,23	65,12 <sup>b</sup> $\pm$ 3,91

LFC = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico controle

LFFCJ = Leite fermentado concentrado potencialmente probiótico com farinha da casca de jabuticaba.

Letras minúsculas subscritas distintas na mesma coluna indica diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes dias de armazenamento para o mesmo leite fermentado concentrado.

A Taxa de Sobrevivência (TS) calculada no dia 7 de armazenamento para LFC foi de 86,48% e para LFFCJ foi de 49,77%. Na fase entérica foi onde se observou as maiores TS de *L. plantarum* nos dois leites fermentados, mostrando que a cultura potencialmente probiótica apresenta maior resistência às condições entéricas, sendo as condições gástricas o principal desafio para sua sobrevivência à passagem pelo trato gastrointestinal em particular o baixo pH.

Após a exposição das amostras à fase gástrica, observou-se uma diminuição significativa ( $p > 0,05$ ) na contagem de células viáveis no sétimo dia de armazenagem para os dois leites fermentados concentrados. Por outro lado, na análise realizada com 28 dias de armazenagem mesma fase, as contagens de células viáveis de *L. plantarum* no LFC e LFFCJ, sofreram redução de 1,88 e 2,6 log, respectivamente, em relação às células viáveis no início da simulação.

O tempo de armazenamento influenciou significativamente ( $p < 0,05$ ) nas contagens de *L. plantarum*, após a fase gástrica os leites fermentados apresentaram diferença significativa em todos os tempos avaliados.

Na fase entérica II, após 6 horas de ensaio, as populações de *L. plantarum* no LFC e LFFCJ no sétimo dia de armazenamento, apresentaram recuperação de 0,48 e 0,26 ciclos logarítmicos, respectivamente, com contagens de até 4,82 e 4,37 log como demonstrado na Figura 8, correspondente a TS% de 84,41% e 59,43%, como mostra a Tabela 13. O LFC obteve a maior recuperação de população de *L. plantarum*.

No entanto, a restauração das populações no leites fermentados concentrados após a fase entérica II (6 horas de ensaio) pode ser resultado de uma subestimação das populações da fase anterior. Isto porque certos microrganismos facilmente cultiváveis podem se manter viáveis, preservando algumas atividades metabólicas típicas de células viáveis e voltando a ser

cultiváveis sob certas condições. Nesse caso, são chamadas de células viáveis-mas-não-cultiváveis, células dormentes ou células sub-lentamente lesadas (GUEIMONDE et al, 2012).

Comparando a análise realizada com 7 e 28 dias de armazenagem, verificou-se que as duas formulações apresentaram redução significativa ( $p < 0,05$ ) de 1,4 (LFC) e 2,34 (LFFCJ) log.

Foi observado que a incorporação de farinha da casca de jabuticaba 1% no leite fermentado concentrado LFFCJ não afetou significativamente as populações de *L. plantarum* frente ao estresse gastrointestinal simulado *in vitro*, por ter apresentado populações/TS% LFC 77,49% e LFFCJ 65,12% com até 28 dias de armazenamento estatisticamente ( $p > 0,05$ ) próximo ao tratamento controle, sem incorporação de FCJ (LFC). Bedani et al (2014) em estudo da investigação da influência da adição da polpa de frutas tropicais, mangas e goiaba na viabilidade e resistência a condições gastrointestinais simuladas *in vitro* em iogurtes simbióticos de soja com okara, observaram que a incorporação de polpas e sabores de frutas (manga e/ou goiaba, ambas com 12,5% de incorporação) diminuíram significativamente a resistência de *L. acidophilu* La-5 e *Bifidobacterium animalis* Bb-12 ao estresse gastrointestinal simulados *in vitro*.

## 5 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que o leite fermentado concentrado, com incorporação da farinha da casca de jabuticaba é tecnologicamente viável, visto que o mesmo apresentou qualidade microbiológica e físico-química e as contagens de *Lactiplantibacillus plantarum* permaneceram acima  $10^6$  UFC/g ao longo do período de armazenamento estudado.

A sobrevivência de *Lactiplantibacillus plantarum* após 6 horas de ensaio de digestão gastrointestinal *in vitro* não foi influenciada pela incorporação da farinha da casca de jabuticaba no leite fermentado concentrado.

As formulações processadas apresentaram características físico-química compatíveis com à legislação vigente. O LFC e o LFFCJ apresentaram contagem acima de  $10^6$ /g ao longo do período estudado e  $10^8$  porção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. S DE.; SILVA, R. J. N. DA. Compostos fenólicos totais e características físico-químicas de frutos de jaboticaba. **Gaia Scientia**, v, 12(1), p. 81-89, 2018.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. **Extraction of phenolic compounds: A review**. [S. l.]: Elsevier B.V., 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- ALBUQUERQUE, B. R.; PEREIRA, C.; CALHELHA, R. C.; JOSÉ ALVES, M.; ABREU, R. M. V.; BARROS, L.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, I. C. F. R. Jaboticaba residues (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) are rich sources of valuable compounds with bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 309, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125735>
- ALEZANDRO, M. R.; DUBÉ, P.; DESJARDINS, Y.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468–477, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.018>
- ALVES, A. P. C. Farinha de jaboticaba: armazenamento e aplicações. Lavras, 2014. 103 f. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, 103 f. Lavras, Minas Gerais, 2014
- ALVES, A. P. de C.; MARQUES, T. R.; DE CARVALHO, T. C. L.; PINHEIRO, A. C. M.; RAMOS, E. M.; CORRÊA, A. D. Elaboration and acceptability of restructured hams added with jaboticaba skin. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 232–238, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-457X.19016>
- ASPRI, M.; PAPADEMAS, P.; TSALTAS, D. **Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products**. [S. l.]: MDPI AG, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/fermentation6010030>
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 18th ed. Washington, DC, 2005. AOAC, 2005, rev. 2010. AOAC (2012). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (19th ed.). Gaithersburg, MD, USA: AOAC International.
- BALCIUNAS, E. M.; CASTILLO MARTINEZ, F. A.; TODOROV, S. D.; FRANCO, B. D. G. de M.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. de S. **Novel biotechnological applications of**

**bacteriocins: A review**, v. 32, n. 1, p. 134-142, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>

BARCELLOS, M. D. DE; LIONELLO, R. L. Consumer Market for Functional Foods in South Brazil. **International Journal Food System Dynamics**, v. 2, n. 2, p. 126–144, 2011. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1300/J133v01n03\\_02](http://dx.doi.org/10.1300/J133v01n03_02)

BEHERA, S. S.; PANDA, S. K. Ethnic and industrial probiotic foods and beverages: efficacy and acceptance. **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 29–36, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.01.006>

BERES, C.; FREITAS, S. P.; GODOY, R. L. DE O.; DE OLIVEIRA, D. C. R.; DELIZA, R.; LACOMINI, M.; MELLIGER, C. S; CABRAL, L. M. M. Antioxidant dietary fibre from grape pomace flour or extract; Does it make any difference on the nutritional and functional value?. **Journal of Funcional Foods**, v. 56, p. 276-285, 2019.

BERES, C.; SIMAS-TOSIN, F. F.; CABEZUDO, I.; FREITAS, S. P.; LACOMINI, M.; MELLIGER, C. S; CABRAL, L. M. M. Antioxidant dietary fibre recovery from Brazilian Pinot noir grape pomace. **Food Chemistry**, V. 201, p. 145–152, 2016.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 118–129, 2013. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.03.006>

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. (2005). Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais (Resolução RDC nº 269, de 22 de setembro de 2005). Diário Oficial da República Federativa do Brasil. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Seção1, p. 4. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília – DF. 23 de outubro de 2007. BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 nov. 2012. BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília: Diário Oficial da União, 2013. BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Instrução Normativa Nº 60, DE 23 de dezembro de 2019. Estabelece as 79 listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário oficial da união. Publicado em: 26/12/2019 | Edição: 249 | Seção: 1 | Página: 133. BRASIL 2007. MAPA –

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 46, de 23 de outubro de 2007. Art. 1º - Adota o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados.

CASAROTTI, S.N.; PENNA, A. L. B. Acidification profile, probiotic in vitro gastrointestinal tolerance and viability in fermented milk with fruit flours. **International Dairy Journal**, v. 41, p. 1-6, 2015

CASSIDY, A. **Berry anthocyanin intake and cardiovascular health**. [S. l.]: Elsevier Ltd, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.05.002>

CAVALHEIRO, C. P.; RUIZ-CAPILLAS, C.; HERRERO, A. M.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F.; PINTADO, T.; DE MENEZES, C. R.; FRIES, L. L. M. Effect of different strategies of *Lactobacillus plantarum* incorporation in chorizo sausages. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 15, p. 6706–6712, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9952>

CHIKEZIE, P. C.; IBEGBULEM, C. O.; MBAGWU, F. N. Bioactive principles from medicinal plants. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 9, n. 3, p. 88–115, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/rjphyto.2015.88.115>

CHOUCHOULI, V.; KALOGEROPOULOS, N.; KONTELES, S. J.; KARVELA, E.; MAKRIS, D. P.; KARATHANOS, V. T. Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. **LWT - Food Science and Technology**, v. 53, n. 2, p. 522–529, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.008>

CHRISTENSEN, L. P. The role of direct and indirect polyphenolic antioxidants in protection against oxidative stress. *In: Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*. [S. l.]: Elsevier,. p. 147–179, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813006-3.00013-1>

CIUDAD-MULERO, M.; FERNÁNDEZ-RUIZ, V.; MATALLANA-GONZÁLEZ, M. C.; MORALES, P. **Dietary fiber sources and human benefits: The case study of cereal and pseudocereals**. [S. l.: s. n.]. v. 90, 9 83-134, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.002>

COLOMBO, M.; TODOROV, S. D.; ELLER, M.; NERO, L. A. The potential use of probiotic and beneficial bacteria in the Brazilian dairy industry. **Journal of Dairy Research**, v. 85, n. 4, p. 487–496, 2018.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Physiological relevance of food antioxidants. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 93, p. 205–250, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2020.03.002>

CORREA-BETANZO, J.; ALLEN-VERCOE, E.; MCDONALD, J.; SCHROETER, K.; CORREDIG, M.; PALIYATH, G. Stability and biological activity of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) polyphenols during simulated in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 165, p. 522–531, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.135>

CHIKEZIE, P. C.; IBEGBULEM, C. O.; MBAGWU, F. N. Bioactive principles from medicinal plants. *Research Journal of Phytochemistry*, v. 9, n. 3, p. 88–115, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/rjphyto.2015.88.115>

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R. A. Prebiotics in foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 187-191, 2012.

DALLABONA, I. D.; DE LIMA, G. G.; CESTARO, B. I.; TASSO, I. de S.; PAIVA, T. S.; LAUREANTI, E. J. G.; JORGE, L. M. de M.; DA SILVA, B. J. G.; HELM, C. v; MATHIAS, A. L.; JORGE, R. M. M. Development of alginate beads with encapsulated jabuticaba peel and propolis extracts to achieve a new natural colorant antioxidant additive. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1421–1432, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.256>

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. Química de alimentos de Fennema. Biblioteca Artmed. Nutrição e tecnologia de alimentos. 4ª ed. Artmed, 2010.

DE MORAES, G. M. D.; DE ABREU, L. R.; DO EGITO, A. S.; SALLES, H. O.; DA SILVA, L. M. F.; NERO, L. A.; TODOROV, S. D.; DOS SANTOS, K. M. O. Functional Properties of *Lactobacillus mucosae* Strains Isolated from Brazilian Goat Milk. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 9, n. 3, p. 235–245, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12602-016-9244-8>

DE MORAES, G. M. D.; DOS SANTOS, K. M. O.; DE BARCELOS, S. C.; LOPEZ, S. A.; DO EGITO, A. S. Potentiallly probiotic goat cheese produced with autochthonous adjunct culture of *Lactobacillus mucosae*: Microbiological, physicochemical and sensory attributes. **LWT-Food Science and Tecnology**, v. 94, p. 57-63, 2018

DE SOUSA, M. C. Obtenção de sobremesa láctea de jabuticaba ( *Myrciaria cauliflora* Berg ) com potencial funcional utilizando cepas nativas de *Lactobacillus* sp . **Dissertação de Mestrado**, 2016.

ERTEM, H.; ÇAKMAKÇI, S. Shelf life and quality of probiotic yogurt produced with *Lactobacillus acidophilus* and *Gobdin*. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 3, p. 776–783, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13653>

FAKHRI, S.; KHODAMORADY, M.; NASERI, M.; FARZAEI, M. H.; KHAN, H. **The ameliorating effects of anthocyanins on the cross-linked signaling pathways of cancer dysregulated metabolism**. [S. l.]: Academic Press, v. 159, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104895>

FALLAH, A. A.; SARMAST, E.; FATEHI, P.; JAFARI, T. Impact of dietary anthocyanins on systemic and vascular inflammation: Systematic review and meta-analysis on randomised clinical trials. **Food and Chemical Toxicology**, v. 135, p. 110922, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.FCT.2019.110922>.

FAO. Food and Agriculture Organization; World Health Organization (FAO). Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation; This definition was adopted by the International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) in 2013.

FERREIRA, S. P. L. Aproveitamento da casca de jabuticaba para o enriquecimento nutricional de pães de forma integrais. **Dissertação de Mestrado**, 2017.

FREIRE, F. C.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; ANTONIASSI, R.; CHAVES, A. C. S. D.; DOS SANTOS, K. M. O.; SIVIERI, K. Impact of multi-functional fermented goat milk beverage on gut microbiota in a dynamic colon model. **Food Research International**, v. 99, p. 315–327, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.05.028>

FIOCCO, D.; LONGO, A.; ARENA, M. P.; RUSSO, P.; SPANO, G.; CAPOZZI, V. How probiotics face food stress: They get by with a little help. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 9, p. 1552–1580, 2020.

GAYOSO, L.; CLAERBOUT, A. S.; CALVO, M. I.; CAVERO, R. Y.; ASTIASARÁN, I.; ANSORENA, D. Bioaccessibility of rutin, caffeic acid and rosmarinic acid: Influence of the in vitro gastrointestinal digestion models. **Journal of Functional Foods**, v. 26, p. 428–438, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.08.003>

GIBSON, G. R. *et al.* Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

GOMES, J. V. P.; RIGOLON, T. C. B.; SOUZA, M. S. DA S.; ALVAREZ-LEITE, J. I.; LUCIA, C. M. D; MARTINO, H. S. D.; ROSA, C. de O. B. **Antiobesity effects of anthocyanins on mitochondrial biogenesis, inflammation, and oxidative stress: A systematic review.** [S. l.]: Elsevier Inc., v. 66, p. 192-202, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.05.005>

GÓMEZ, A. Microbioma, salud y enfermedad: probióticos, prebióticos y simbióticos. **Biomedica : revista del Instituto Nacional de Salud**, v. 39, n. 4, p. 617–621, 2019.

GONG, S.; FEI, P.; SUN, Q.; GUO, L.; JIANG, L.; DUO, K.; BI, X.; YUN, X. Action mode of cranberry anthocyanin on physiological and morphological properties of *Staphylococcus aureus* and its application in cooked meat. **Food Microbiology**, v. 94, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103632>

GOWD, V.; BAO, T.; CHEN, W. Antioxidant potential and phenolic profile of blackberry anthocyanin extract followed by human gut microbiota fermentation. **Food Research International**, v. 120, p. 523–533, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.001>

HAN, K. J.; LEE, J. E.; LEE, N. K.; PAIK, H. D. Antioxidant and Anti-inflammatory effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* KU15149 derived from Korean homemade Diced-radish kimchi. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 4, p. 591–598, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4014/JMB.2002.02052>

HILL, C. *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

JANG, H. J.; YU, H. S.; LEE, N. K.; PAIK, H. D. Immune-stimulating effect of *Lactobacillus plantarum* Ln1 isolated from the traditional Korean fermented food, Kimchi. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 30, n. 6, p. 926–929, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.4014/jmb.2001.01038>

JEON, E. B.; SON, S. H.; JEEWANTHI, R. K. C.; LEE, N. K.; PAIK, H. D. Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lb41, an isolate from kimchi and its application as a probiotic in cottage cheese. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, n. 4, p. 1129–1133, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0181-9>

KANG, I.; LEE, Y.; LEE, M., M. Anthocyanins: What They Are and How They Relate to Obesity Prevention. **Nutrition in the Prevention and Treatment of Abdominal Obesity**, c. 28, 409–430. 2019. doi.org/10.1016/B978-0-12-816093-0.00028-8

KIMOTO-NIRA, H.; SUZUKI, S.; SUGANUMA, H.; MORIYA, N.; SUZUKI, C. Growth characteristics of *Lactobacillus brevis* KB290 in the presence of bile. **Anaerobe**, v. 35, p. 96–101, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2015.08.001>

KIRAKOSYAN, A.; SEYMOUR, E. M.; KONDOLEON, N.; GUTIERREZ, E.; WOLFORTH, J.; BOLLING, S. The intake of red raspberry fruit is inversely related to cardiac risk factors associated with metabolic syndrome. **Journal of Functional Foods**, v. 41, p. 83–89, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.033>

KUMAR, R.; GROVER, S.; BATISH, V. K. Hypocholesterolaemic effect of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hydrolase-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague-Dawley rats. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 4, p. 561–573, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114510003740>

KHANGWAL, I.; SHUKLA, P. Potential prebiotics and their transmission mechanisms: Recent approaches, **Journal of Food and Drug Analysis**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.02.003>

KOOP, L, B.; DA SILVA, M, N.; DA SILVA F, D.; LIMA, K, T, DOS S.; SOARES, L, S.; DE ANDRADE, C, J.; VALENCIA, A, G.; MONTEIRO, R, A. Flavanoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. *Food Research International*, v. 153, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110929>

LAMOUNIER, M. L.; ANDRADE, F. D. C.; MENDONÇA, C. D. de; MAGALHÃES, M. L. Desenvolvimento e caracterização de diferentes formulações de sorvetes enriquecidos com farinha da casca da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 2, p. 93, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v70i2.400>

LEITE-LEGATTI, A. V. *et al.* Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, n. 1, p. 596–603, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.044>

LENQUISTE, S. A.; DE ALMEIDA LAMAS, C.; DA SILVA MARINELI, R.; MORAES, É. A.; BORCK, P. C.; CAMARGO, R. L.; QUITETE, V. H. A. C.; CARNEIRO, E. M.; JUNIOR, M. R. M. Jaboticaba peel powder and jaboticaba peel aqueous extract reduces obesity, insulin

resistance and hepatic fat accumulation in rats. **Food Research International**, v. 120, p. 880–887, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.11.053>

LIMA, B. F. Viabilidade de probióticos em leites fermentados comerciais e suas resistências após exposição as condições ácidas. Trabalho de Conclusão de Curso – Nutrição – Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 2017

LIN, D. *et al.* **An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes.** [S. l.]: MDPI AG, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21101374>

LOSADA-BARREIRO, S.; BRAVO-DÍAZ, C. **Free radicals and polyphenols: The redox chemistry of neurodegenerative diseases.** [S. l.]: Elsevier Masson s.r.l., 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.061>

MA, Y.; DING, S.; FEI, Y.; LIU, G.; JANG, H.; FANG, J. Antimicrobial activity of anthocyanins and catechins against foodborne pathogens *Escherichia coli* and *Salmonella*. **Food Control**, v. 106, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106712>

MAGALHÃES, A. U. de; DELLA TORRE, A. C. G. Composição química e análise sensorial do iogurte grego comercializado no sul do estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 1, p. 10–18, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v73i1.607>

MARTINEZ, F. A. C.; BALCIUNAS, E. M.; CONVERTI, A.; COTTER, P. D.; DE SOUZA OLIVEIRA, R. P. **Bacteriocin production by *Bifidobacterium* spp. A review.** v. 31, p.482-488, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.010>

MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; DA SILVA, W. P.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916–922, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.119>

MEIRA, Q. G. S.; MAGNANI, M.; DE MEDEIROS JÚNIOR, F. C.; QUEIROGA, R. de C. R. do E.; MADRUGA, M. S.; GULLÓN, B.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E.; DE SOUZA, E. L. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 76, p. 828–838, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.002>

MEYBODI, N. M.; MORTAZAVIAN, A, M. Probiotic supplements and food products: A comparative approach. *Biochem Pharmacol*, v. 6, n. 2, p. 227, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4172/2167-0501.1000227>

MIN, M.; BUNT, C, R.; MASON, S, L.; HUSSAIN, M, A. Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 16, p. 2626–2641, 2018.

MORALES, P.; BARROS, L.; DIAS, M. I.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. R.; RAMIREZ ASQUIERI, E.; BERRIOS, J. D. J. Non-fermented and fermented jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) pomaces as valuable sources of functional ingredients. **Food Chemistry**, v. 208, p. 220–227, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.011>

MOHANTY, D. et al. Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. **Food Bioscience**, v. 26, p. 152-160, 2018.

NASCIMENTO, L. C. S. Seleção de Novas Linhagens de Bactérias Ácido-Láticas Probióticas e Aplicação de *E. faecium* em Leite. **Tese de doutorado - São José do Rio Preto - SP.**, 2017.

NERES, J. P. G.; SOUZA, R. L. A. de; BEZERRA, C. F. Iogurte Com Polpa E Farinha Da Casca Do Abacaxi. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 5, p. 262, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v70i5.465>

NEVES, N. A.; STRINGHETA, P. C.; GÓMEZ-ALONSO.; HERMOSIN-GUTIÉRREZ, I. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jabuticaba (*Plinia* sp.) identified by HPCL-DAD-ESI/MS<sup>n</sup>. *Food Chemistry*, v. 252, p. 61-71, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.078>

NUNES, D. S.; BESTEN, M. A. Análise qualitativa de metabólitos secundários de vegetais. In: GRANATO, D.; NUNES, D. S. *Análise Química, Propriedades Funcionais e Controle de Qualidade de Alimentos e Bebidas: uma Abordagem Teórico-Prática*. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.1-26. 2016.

OLIVEIRA, C. D.; PAULO, F. J. de P.; DE OLIVEIRA, J. C. C.; FERREIRA, B. A. F.; RIBEIRO, B. P. R.; FAGUNDES, K. R. M. F.; CLAUDINO, T. O. C. Caracterização físico-química do iogurte tipo sundae sabor jabuticaba / Physical-chemical characterization of yogurt type sundae jabuticaba flavor. **Brazilian Journal of Development**, n. 6, p. 5091–5097, 2019.

OLIVEIRA, L. C.; ALENCAR, N. M. M.; STEEL, C. J. Improvement of sensorial and technological characteristics of extruded breakfast cereals enriched with whole grain wheat

flour and jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) peel. **LWT - Food Science and Technology**, v. 90, p. 207–214, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.017>

OZCAN, O.; OZCAN, T.; YILMAZ-ERSAN, L.; AKPINAR-BAYIZIT, A.; DELIKANLI, B. The Use of Prebiotics of Plant Origin in Functional Milk Products. **Food Science and Technology**, v. 4, n. 2, p. 15–22, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.13189/fst.2016.040201>

PEREIRA, L. D.; BARBOSA, J. M. G.; RIBEIRO DA SILVA, A. J.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 65(5), p. 1209-1219, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02929>

PINHO, G. dos S. Processamento de sorvete incorporado com farinha de casca de jaboticaba por alta pressão hidrostática. UFRRJ Instituto de Tecnologia Curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Dissertação de mestrado**, 2019.

PLAZA, M.; BATISTA, Â. G.; CAZARIN, C. B. B.; SANDAHL, M.; TURNER, C.; ÖSTMAN, E.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Characterization of antioxidant polyphenols from *Myrciaria jaboticaba* peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: A pilot clinical study. **Food Chemistry**, v. 211, p. 185–197, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.142>

QUIDEAU, S.; DEFFIEUX, D.; DOUAT-CASASSUS, C.; POUYSÉGU, L. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 50, n. 3, p. 586–621, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 619–625, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.007>

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICEEVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

SAH, B. N. P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O. N. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 978–986, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.027>

SAKAKI, J. R.; MELOUGH, M. M.; CHUN, O. K. Anthocyanins and anthocyanin-rich food as antioxidants in bone pathology. **Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants**, p. 145–158, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00014-7>.

SEDDIK, H. A., BENDALI, F., GANCEL, F., FLISS, I., SPANO, G., DRIDER, D. **Lactobacillus plantarum and its probiotic and food potentialities. Probiotics Antimicrob. Proteins**, v. 9, p. 111–112, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9264-z>

SERPEN, A.; CAPUANO, E.; FOGLIANO, V.; GÖKMEN, V. A new procedure to measure the antioxidant activity of insoluble food components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 19, p. 7676–7681, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jf071291z>

SIEZEN, R. J.; TZENEVA, V. A.; CASTIONI, A.; WELS, M.; PHAN, H. T. K.; RADEMAKER, J. L. W.; STARRENBURG, M. J. C.; KLEEREBEZEM, M.; VAN HYLCKAMA Vlieg, J. E. T. Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 3, p. 758–773, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02119.x>

SILVÉRIO, S. M. J. Novos Produtos de Hortofrutícolas Fermentados Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. 2014.

SILVA, T. M. S. Comportamento do ácido elágico em bebidas lácteas simbióticas suplementadas com L-triptofano e polpa de frutas vermelhas durante armazenamento refrigerado. **Dissertação de Mestrado – Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímica Farmacêutica** Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2015.

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

SIMEONI, C, P.; ETCHEPARE, M, A.; MENEZES, C, R.; FRIES, L, M.; MENEZES, F, C.; STEFANELLO, F, S. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, p. 66-75, 2014.

SUN, X. hong; ZHOU, T. tong; WEI, C. hong; LAN, W. qing; ZHAO, Y.; PAN, Y. jie; WU, V. C. H. Antibacterial effect and mechanism of anthocyanin rich Chinese wild blueberry extract on various foodborne pathogens. **Food Control**, v. 94, p. 155–161, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.012>

SWANSON, K. S.; GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; REIMER, R. A.; REID, G.; VERBEKE, K.; SCOTT, K. P.; HOLSCHER, H. D.; AZAD, M. B.; DELZENNE, N. M.; SANDERS, M. E. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus

statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 687–701, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>

TARONE, A. G.; CAZARIN, C. B. B.; MAROSTICA JUNIOR, M. R. **Anthocyanins: New techniques and challenges in microencapsulation**. [S. l.]: Elsevier Ltd, v. 133, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109092>

TARONE, A. G.; GOUPY, P.; GINIES, C.; MAROSTICA, M. R.; DUFOUR, C. Advanced characterization of polyphenols from Myrciaria jaboticaba peel and lipid protection in in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 359, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129959>

TERPOU, A.; PAPADAKI, A.; LAPPA, I. K.; KACHRIMANIDOU, V.; BOSNEA, L. A.; KOPSAHELIS, N. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 32, 2019.

THORNTHWAITE, J. T.; THIBADO, S. P.; THORNTHWAITE, K. A. Bilberry anthocyanins as agents to address oxidative stress. **Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants**, p. 179–187, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00017-2>

TIAN, X. Z.; LU, Q.; PAENCKOUM, P.; PAENCKOUM, S. Short communication: Effect of purple corn pigment on change of anthocyanin composition and unsaturated fatty acids during milk storage. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 9, p. 7808–7812, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18409>

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

VITALI, B.; MINERVINI, G.; RIZZELLO, C. G.; SPISNI, E.; MACCAFERRI, S.; BRIGIDI, P.; GOBBETTI, M.; DI CAGNO, R. Novel probiotic candidates for humans isolated from raw fruits and vegetables. **Food Microbiology**, v. 31, n. 1, p. 116–125, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.12.027>

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. **Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications**, p. 33–50, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>

WANG, J.; GUO, Z.; ZHANG, Q.; YAN, L.; CHEN, W.; LIU, X. M.; ZHANG, H. P. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 6, p. 2468–2476, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1849>

WENDLING, L. K.; WESCHENFELDER, S. **Probióticos e alimentos lácteos fermentados: uma revisão**. Ver. Inst. Laticínios Cândido Tostes, v. 300, p. 3-10, 2013.

WU, S. B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. **Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil**, v. 54, p. 148-159, 2013 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.021>

XIE, L.; SU, H.; SUN, C.; ZHENG, X.; CHEN, W. **Recent advances in understanding the anti-obesity activity of anthocyanins and their biosynthesis in microorganisms**: Elsevier Ltd, v. 72, p. 13-24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.12.002>

YANG, K. M., JIANG, Z. Y., ZHENG, C. T., WANG, L., YANG, X. F. Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. **J. Anim. Sci.** v. 92, p. 1496–1503, 2014. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6619>

YONG, H.; LIU, J. **Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and intelligent packaging films**. Elsevier Ltd, v. 26, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100550>

ZHANG, W.; YU, Y.; XIE, F.; GU, X.; WU, J.; WANG, Z. High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. **LWT**, v. 116, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597>

ZHENG, J. *et al.* A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 70, n. 4, p. 2782–2858, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

PINHO, G. dos S. Processamento de sorvete incorporado com farinha de casca de jaboticaba por alta pressão hidrostática. UFRRJ Instituto de Tecnologia Curso de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Dissertação de mestrado, 2019.