



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

FRANCYELI ARAÚJO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO ADICIONADO DE
DERIVADOS DE UVA ISABEL: propriedades nutricionais, tecnológicas e de
funcionalidade**

Recife
2020

FRANCYELI ARAÚJO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO ADICIONADO DE
DERIVADOS DE UVA ISABEL: propriedades nutricionais, tecnológicas e de
funcionalidade**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Margarida Angélica da Silva Vasconcelos

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Manuela Estevez Pintado

Recife

2020

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Elaine Freitas, CRB4: 1790

S586d	Silva, Francieli Araújo Desenvolvimento de iogurte caprino probiótico adicionado de derivados de uva isabel: propriedades nutricionais, tecnológicas e de funcionalidade/ Francieli Araújo Silva. – 2020. 142 f.; il., tab. Orientadora: Margarida Angélica da Silva Vasconcelos. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Recife, 2020. Inclui referências, apêndices e anexos. 1. Compostos bioativos vegetais. 2. Microbiota intestinal. 3. Iogurte. 4. Adoçantes naturais. 5. Derivado lácteo caprino. I. Vasconcelos, Margarida Angélica da Silva (orientadora). II. Título. 613 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2020 - 199)
-------	---

FRANCYELI ARAÚJO SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO ADICIONADO DE
DERIVADOS DE UVA ISABEL: propriedades nutricionais, tecnológicas e de
funcionalidade**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Nutrição.

Aprovada em: 21/08/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Margarida Angélica da Silva Vasconcelos
Departamento de Nutrição/UFPE

Prof^a. Dr^a. Patrícia Moreira Azoubel
Departamento de Nutrição/UFPE

Prof^a. Dr^a. Paloma Oliveira Antonino Assis de Carvalho
Departamento de Nutrição/UFPE

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga
Departamento de Nutrição/UFPB

Prof^a. Dr^a. Maria Elieidy Gomes de Oliveira
Departamento de Nutrição/UFPB

Dedico ao meu pai, José, e à minha mãe, Glicélia (*in memoriam*) por sempre terem acreditado em mim e por apoiarem todas minhas decisões e escolhas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar presente em todos os momentos da minha vida, por ter me amparado durante as dificuldades e me ensinado a sair delas mais forte e com muito aprendizado. Sem Ti, Senhor, eu nada seria!

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em especial ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição, pela oportunidade concedida para a realização do Doutorado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo auxílio financeiro.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Margarida Angélica, por ter aceitado me acompanhar nessa jornada e por todo apoio e incentivo em todos os momentos;

À minha co-orientadora, Prof^a. Dr^a. Manuela Pintado, por ter me recebido em seu laboratório, me permitindo ter contato com tantos conhecimentos novos e por todas contribuições na construção desse projeto;

À professora Dr^a. Rita Queiroga, por me acompanhar na jornada acadêmica desde a graduação, por todo conhecimento compartilhado durante todos esses anos e pelas palavras de apoio sempre acompanhadas de uma carinhosa xícara de chá ou café;

À Professora Dr^a. Elieidy Gomes, por ser tão querida e acessível, e estar sempre disposta à tirar nossas dúvidas;

À professora Dr^a. Graciele Borges, pela incansável ajuda e por todas contribuições ao projeto;

Ao professor Dr. Evandro Leite, pela disponibilização do laboratório e contribuições para o projeto;

Às professoras Marciani Magnani e Maria Lúcia, pela disponibilidade e acesso aos laboratórios;

À equipe do Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos (LEAAL) da UFPE, pelo suporte nas análises;

A todos os professores do PPGN, por todos os conhecimentos repassados, assim como às secretárias, Cecília e Andréa, por toda dedicação e disponibilidade;

Às colegas do laboratório de microbiologia (Nayara Duarte, Nayara Massa, Flávia, Thatyane, Karol e Carol), pela ajuda nas metodologias e no laboratório;

Aos colegas da ESB (Tania, Marta, Ezequiel, Manuela, Célia e Priscilla), pela generosidade em tirar minhas dúvidas e ajuda no laboratório;

À querida Glenise, por ser tão disponível e generosa, e por ter tornado possível a realização dos experimentos na ESB;

Às minhas amigas e eternas companheiras do Labinho (Yasmim, Cecília, Paloma, Tayanna, Fernanda, Neusa, Nathália), por todos os momentos compartilhados durante nossas vivências;

Às minhas queridas amigas Tamires e Fabrícia, por terem me escutado nos momentos mais difíceis e sempre tentado me ajudar;

À minha mãe, por ter sido minha maior fonte de amor, por sempre ter me apoiado e ao mesmo tempo me preparado desde cedo para ser forte. Sei que de onde estiver está imensamente feliz por mais essa conquista;

Ao meu pai, pelo amor, pelo apoio em todas as minhas decisões e pelo incansável esforço para me dar uma boa educação;

Aos meus queridos amigos, tanto os de perto pela convivência, companheirismo e apoio, quanto os de longe, que mesmo assim se fizeram presentes virtualmente e também me apoiaram;

A todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho, muito obrigada!

RESUMO

A adição dos produtos de uva Isabel ao iogurte caprino dá origem a um alimento com potencial para satisfazer o interesse dos consumidores no que diz respeito aos nutrientes do próprio iogurte e aos benefícios tanto das culturas probióticas como daqueles decorrentes dos compostos fenólicos presentes na fruta. Este trabalho objetivou estudar os compostos fenólicos presentes no preparado de uva Isabel e na farinha de seus resíduos elaborados utilizando adoçantes naturais (agave e xilitol), bem como avaliar o impacto da incorporação desses produtos na qualidade nutricional, funcional e sensorial de iogurte caprino. Os preparados e as farinhas de uva Isabel foram avaliados quanto às características físico-químicas e quanto aos compostos bioativos por meio da análise qualitativa e quantitativa dos compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante. Em seguida, os produtos foram incorporados em iogurtes caprinos e realizado o estudo do impacto em suas propriedades. Além disso, os produtos de uva e os iogurtes elaborados foram avaliados quanto a bioacessibilidade dos compostos fenólicos em condições simuladas do trato gastrointestinal e quanto ao seu potencial prebiótico. Sendo realizada uma fermentação *in vitro* da microbiota intestinal humana após processo de digestão gastrointestinal simulada dos iogurtes. A uva e seus produtos apresentaram teores relevantes de açúcares e ácidos orgânicos em sua composição, destacando-se na farinha o considerável teor de fibras (20,14 – 21,95 g/100 g). O composto com maior bioacessibilidade tanto para uva como para seus produtos foi a catequina, que junto com o ácido caftárico e a malvidina 3-glicosídeo foram os compostos observados em maior quantidade nesses produtos. Os iogurtes caprinos elaborados com adição de *L. acidophilus* e produtos de uva Isabel mostraram-se ricos em compostos fenólicos e com elevada atividade antioxidante. Também apresentaram contagens adequadas do probiótico *L. acidophilus* (7,96 – 8,63 log UFC/mL) durante todo o período de armazenamento, com a formulação incorporada do preparado e farinha exibindo as maiores contagens ao fim dos 28 dias, o que sugere um efeito positivo da presença da farinha de uva Isabel na viabilidade desse microrganismo. A adição do preparado e da farinha de uva Isabel aumentou a aceitação desse iogurte pelos consumidores. O processo de digestão teve uma elevada influência na capacidade antioxidante dos

iogurtes, indicando a influência tanto dos fenólicos como dos peptídeos no potencial antioxidante dos mesmos. Os iogurtes digeridos apresentaram potencial efeito prebiótico com impacto positivo no crescimento das cepas probióticas estudadas isoladamente, assim como na microbiota intestinal, promovendo o aumento de grupos bacterianos e ácidos graxos de cadeia curta benéficos à saúde, que podem ser resultantes tanto dos compostos fenólicos incorporados como dos componentes do próprio iogurte. Diante disso, ressalta-se o efeito benéfico do processamento da uva, uma vez que tanto os preparados quanto as farinhas apresentaram maiores valores de antocianinas e atividade antioxidante em comparação com a uva *in natura*, favorecendo, dessa forma, seu potencial como ingrediente funcional em alimentos. A incorporação dos produtos de uva Isabel ao iogurte caprino probiótico resultou em um novo produto potencialmente funcional com alegações de propriedades benéficas à saúde atribuídas ao seu consumo.

Palavras chave: Compostos bioativos vegetais. Microbiota intestinal. Iogurte. Adoçantes naturais. Derivado lácteo caprino.

ABSTRACT

The addition of Isabel grape products to goat yogurt gives rise to a food with potential to satisfy the interest of consumers in the yogurt nutrients itself, in the benefits of probiotic cultures and in the benefits caused by phenolic compounds in fruit. This work aimed at studying the phenolic compounds present in the Isabel grape prepared and in the flour of its residues elaborated using natural sweeteners (agave and xylitol), as well as to evaluate the impact of products incorporation on the nutritional, functional and sensorial quality of goat yogurt. The Isabel grape prepared and flour were evaluated for the physicochemical characteristics and bioactive compounds by qualitative and quantitative analysis of total phenolic compounds, total anthocyanins and antioxidant activity. Followed by incorporation of these products into goat yogurts and impact in its properties. Besides, the grape products and the yogurts were evaluated for the bioaccessibility of the phenolic compounds under simulated conditions of the gastrointestinal tract and evaluation of the prebiotic potential. Being also performed an *in vitro* fermentation of gut microbiota after simulated gastrointestinal digestion of the yogurts. The grape and their products had significant contents of sugars and organic acids in their composition, further the considerable fiber content (20.14 - 21.95 g/100 g). The compound with the highest bioaccessibility for both grape and its derivatives was catechin, which together with caftaric acid and 3-glycoside malvidine represent the most observed compounds in these products. Goat yogurt made with the addition of *L. acidophilus* and Isabel grape products proved to be rich in phenolic compounds and with high antioxidant activity. They also had adequate counts of probiotic *L. acidophilus* (7.96 - 8.63 log CFU/mL) throughout the storage period, with the formulation incorporated with the preparation and flour showing the highest counts after 28 days, suggesting a positive effect of the Isabel grape flour on the viability of this microorganism. The addition of Isabel grape preparation and flour increased the acceptance of this yogurt by consumers. The digestion process had a high influence on the antioxidant capacity of yogurts, indicating the influence of both phenolics and peptides on their antioxidant potential. Digested yogurts presented potential prebiotic action with positive impact on growth of the probiotic strains evaluated in isolation, as well as on the gut microbiota promoting increase of bacterial groups

and short-chain fatty acids related to health benefits, which can result from both the incorporated phenolic compounds and the components of the yogurt itself. Thus, the beneficial effect of grape processing is highlighted, since both the preparations and the flours presented higher values of anthocyanins and antioxidant activity than in natura grapes, favoring their potential as a functional ingredient in food. The incorporation of Isabel grape products into probiotic goat yogurt results in a new potentially functional product with claims of health-beneficial properties that can be allocated to its consumption.

Keywords: Vegetable bioactive compounds. Intestinal microbiota. Yogurt. Natural sweeteners. Goat dairy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desenho de estudo ilustrando as etapas do experimento.....	38
Figura 2 – Fluxograma de processamento do iogurte caprino adicionado de <i>L. acidophilus</i> LA-05, preparado (20 g/100 g) e farinha de uva Isabel (2 g/100 g).....	46
Figura 3 – Análise de Componentes Principais (ACP) dos compostos fenólicos e atividade antioxidante antes da simulação da digestão e dos compostos fenólicos após simulação da digestão dos preparados e farinhas de uva Isabel. Distribuição dos preparados e farinhas de uva Isabel de acordo com a ACP.....	69
Figura 4 – Contagens de células viáveis e valores de pH durante o cultivo de <i>L. acidophilus</i> LA-05, <i>L. casei</i> L-26 e <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 em caldos com 20 g/L de glicose, 20 g/L de frutooligossacarídeos, 20 g/L de preparado de uva Isabel: controle (PS2%), com agave e xilitol (PAX2%), ou 10 g/L de preparado de uva Isabel: controle (PS1%), com agave e xilitol (PAX1%) durante 48 h de incubação a 37 °C.....	75
Figura 5 – Contagens de células viáveis e valores de pH durante o cultivo de <i>L. acidophilus</i> LA-05, <i>L. casei</i> L-26 e <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 em caldos com 20 g/L de glicose, 20 g/L de frutooligossacarídeos, 20 g/L de farinha de uva Isabel: controle (FS2%), com agave e xilitol (FAX2%), ou 10 g/L de farinha de uva Isabel: controle (FS1%), com agave e xilitol (FAX1%) durante 48 h de incubação a 37 °C.....	76
Figura 6 – Viabilidade do <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> e <i>Lactobacillus acidophilus</i> iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.....	81

Figura 7 – Análise de Componentes Principais (ACP) dos compostos fenólicos e bactérias ácido lácticas e a distribuição iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel para o ACP.....	82
Figura 8 – Atividade antioxidante dos iogurtes probióticos com produtos de uva após simulação <i>in vitro</i> da digestão na boca (B), estômago (E) e intestino (I) com e sem enzimas.....	94
Figura 9 – Perfil de peso molecular de proteínas e peptídeos obtidos por FPLC do YC (iogurte caprino sem produtos de uva), YP (iogurte caprino com preparado de uva Isabel) e YPF (iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel) após digestão simulada <i>in vitro</i> na boca, estômago e intestino, com e sem enzimas, respectivamente.....	97
Figura 10 – Contagem de células viáveis de <i>L. acidophilus</i> LA-5, <i>L. casei</i> L-26 e <i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12 nos meios com glicose (20 g/L), FOS (20 g/L), YC - iogurte caprino sem produtos de uva (20 g/L), YP - iogurte caprino com preparado de uva Isabel (20 g/L), YPF - iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel (20 g/L) durante 48 h de cultivo.....	99
Figura 11 – Diferenças relativas ao controle negativo da fermentação de fezes humanas do iogurte caprino elaborado ou não com produtos de uva Isabel durante 24 h de fermentação.....	107
Figura 12 – Número de cópias de DNA por PCR em tempo real durante período de fermentação dos iogurtes caprinos elaborados ou não com produtos de uva Isabel duante 24 h de fermentação.....	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sequencia de primers dos grupos bacterianos e condições da PCR em tempo real.....	57
Tabela 2 – Composição nutricional e perfil de açúcares e ácidos orgânicos do preparado e da farinha de uva Isabel.....	60
Tabela 3 – Valores médios de cor do preparado e da farinha de uva cv. Isabel.....	62
Tabela 4 – Perfil de compostos fenólicos do preparado e da farinha de uva cv. Isabel.....	63
Tabela 5 – Antocininas monoméricas (AM) e atividade antioxidante da uva cv. Isabel, do preparado e da farinha.....	67
Tabela 6 – Perfil de compostos fenólicos da uva cv. Isabel, do preparado e da farinha após digestão gastrointestinal in vitro.....	70
Tabela 7 – Perfil de açúcares e ácidos orgânicos do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.....	79
Tabela 8 – Perfil de compostos fenólicos do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.....	84
Tabela 9 – Atividade antioxidante do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.....	87
Tabela 10 – Perfil de compostos fenólicos do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado após simulação de digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	90

Tabela 11 – Escores médios da aceitação sensorial e intenção de compra do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.....	91
Tabela 12 – Escores de aceitação pela Escala-do-Ideal (Just-about-right - JAR) do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.....	91
Tabela 13 – Escores de aceitação pela Escala-do-Ideal (Just-about-right - JAR) do iogurte caprino elaborado com <i>L. acidophilus</i> LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.....	92
Tabela 14 – Atividade antioxidante dos compostos fenólicos livres e ligados em iogurtes caprinos probióticos com produtos de uva.....	93
Tabela 15 – Valores de pH e conteúdo de ácidos orgânicos (mg/mL) nos meios com glicose (20 g/L), FOS (20 g/L) ou iogurtes caprinos digeridos adicionados ou não de preparado e farinha de uva Isabel (20 g/L) e inoculados com <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> ou <i>B. lactis</i> durante 48 h de incubação.....	102
Tabela 16 – Valores de pH e conteúdo de ácidos orgânicos (mg/mL) durante fermentação do iogurte elaborado ou não com preparado e farinha de uva Isabel, FOS and controle negativo.....	111

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Atividade Antioxidante
AAPH	2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
ACP	Análise de Componentes Principais
AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
AM	Antocianinas Monoméricas
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
CBQF	Centro de Biotecnologia e Química Fina
EMPASA	Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas
ESB	Escola Superior de Biotecnologia
EU	European Union
FAO	Food and Agriculture Organization
FAX	Farinha de uva Isabel com agave e xilitol
FDA	Food and Drug Administration
FL	Fluoresceína
FLG	Fenólicos ligados
FLV	Fenólicos livres
FOS	Frutooligossacarídeo
FPLC	Cromatografia Líquida de Proteína Rápida
FS	Farinha de uva Isabel com sacarose
GI	Gastrointestinal
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
JAR	Just About Right
PAX	Preparado de uva Isabel com agave e xilitol
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PM	Peso Molecular
PS	Preparado de uva Isabel com sacarose
RPS	Solução Salina reduzida fisiologicamente
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

WHO	World Health Organization
YC	iogurte caprino sem produtos de uva
YP	iogurte caprino com preparado de uva Isabel
YPF	iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel
TEAC	Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox
UCP	Universidade Católica Portuguesa
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
1.1	OBJETIVOS.....	24
1.1.1	Objetivo Geral.....	24
1.1.2	Objetivos Específicos.....	24
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1	UVA, DERIVADOS E SUAS PROPRIEDADES.....	26
2.1.1	Compostos fenólicos e suas propriedades na uva e seus produtos..	27
2.2	BIOACESSIBILIDADE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	28
2.3	ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	29
2.3.1	Probióticos.....	29
2.3.2	Prebióticos.....	30
2.3.3	Microbiota intestinal.....	30
2.4	IOGURTE CAPRINO.....	32
2.5	ADOÇANTES DIETÉTICOS NATURAIS.....	33
2.5.1	Xilitol.....	33
2.5.2	Agave.....	34
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1	LOCAL DE EXECUÇÃO E AMOSTRAS.....	36
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	36
3.3	ELABORAÇÃO DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL.....	37
3.4	ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NUTRIENTES E COMPOSTOS FENÓLICOS FRENTE AO PROCESSAMENTO DA UVA.....	38

3.4.1	Caracterização das amostras.....	38
3.4.2	Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante.....	38
3.4.2.1	Extração dos compostos fenólicos.....	38
3.4.2.2	Determinação do perfil de compostos fenólicos.....	39
3.4.2.3	Antocianinas monoméricas.....	39
3.4.2.4	Atividade antioxidante.....	40
3.4.3	Bioacessibilidade in vitro de compostos fenólicos.....	41
3.5	AVALIAÇÃO DA POTENCIAL AÇÃO PREBIÓTICA DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL.....	42
3.5.1	Protocolo de digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>.....	42
3.5.2	Preparo do microrganismo e inóculo.....	43
3.5.3	Meio de cultivo das bactérias.....	43
3.5.4	Avaliação da viabilidade bacteriana.....	44
3.5.5	Avaliação da atividade metabólica das bactérias.....	44
3.6	FORMULAÇÃO DE IOGURTE CAPRINO COM INCORPORAÇÃO DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL, E ESTUDO DO IMPACTO NAS SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS.....	44
3.6.1	Avaliação físico-química dos iogurtes.....	45
3.6.2	Análises microbiológicas.....	47
3.6.3	Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante.....	47
3.6.3.1	Extração dos compostos fenólicos.....	47
3.6.3.2	Perfil compostos fenólicos do iogurte.....	47
3.6.3.3	Atividade antioxidante.....	47

3.6.4	Bioacessibilidade dos compostos fenólicos do iogurte.....	48
3.6.5	Avaliação sensorial do iogurte.....	48
3.7	AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E PROTEÍNAS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL EM IOGURTES CAPRINOS ELABORADOS COM PRODUTOS DE UVA.....	49
3.7.1	Compostos fenólicos livres e ligados.....	49
3.7.2	Simulação <i>in vitro</i> do trato gastrointestinal.....	50
3.7.3	Determinação da atividade antioxidante.....	51
3.8	POTENCIAL PREBIÓTICO DOS IOGURTES.....	53
3.8.1	Protocolo de digestão gastrointestinal <i>in vitro</i>	53
3.8.2	Avaliação do potencial prebiótico por substituição da fonte de carbono.....	53
3.8.3	Fermentação da microbiota intestinal.....	54
3.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	58
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
4.1	ANÁLISE DO IMPACTO DO PROCESSAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO E A ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NO PREPARADO E NA FARINHA DE UVA ISABEL.....	59
4.1.1	Composição nutricional e perfil de açúcares e ácidos orgânicos.....	59
4.1.2	Cor Instrumental.....	62
4.1.3	Perfil de fenólicos.....	62
4.1.4	Antocianinas monoméricas e atividade antioxidante.....	66
4.1.5	Bioacessibilidade dos compostos fenólicos.....	69

4.2	POTENCIAL AÇÃO PREBIÓTICA DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL.....	74
4.3	IMPACTO DA INCORPORAÇÃO DE PRODUTOS DE UVA ISABEL NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO.....	77
4.3.1	Composição nutricional, cor instrumental e perfil de açúcares e ácidos orgânicos.....	77
4.3.2	Qualidade microbiológica.....	80
4.3.3	Perfil de fenólicos.....	83
4.3.4	Atividade antioxidante.....	86
4.3.5	Bioacessibilidade dos compostos fenólicos.....	88
4.3.6	Avaliação Sensorial.....	89
4.4	INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E PROTEÍNAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL NOS IOGURTES COM PRODUTOS DE UVA.....	92
4.4.1	Atividade antioxidante.....	92
4.4.2	Perfil de peso molecular de proteínas e peptídeos.....	96
4.5	POTENCIAL PREBIÓTICO E IMPACTO NA MICROBIOTA INTESTINAL DOS IOGURTES CAPRINOS COM PRODUTOS DE UVA.....	98
4.5.1	Potencial prebiótico.....	98
4.5.2	Fermentação fecal.....	106
5	CONCLUSÕES.....	114
	REFERÊNCIAS.....	116
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).....	132

APÊNDICE B – FICHAS DE AVALIAÇÃO SENSORIAL.....	133
ANEXO A – PATENTE DE INVENÇÃO.....	137
ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	141

1 INTRODUÇÃO

O iogurte é um alimento rico em nutrientes, ele possui um excelente perfil de proteínas, carboidratos, cálcio, fósforo e vitaminas, e o aumento no seu consumo em todo o mundo está relacionado à imagem positiva agregada a esse produto como alimento saudável e também com suas propriedades sensoriais (KARNOPP et al., 2017; NOORI et al., 2017). Embora a produção de derivados lácteos ainda seja predominante a partir do leite bovino, a utilização do leite de cabra para produção de produtos lácteos, inclusive com apelo funcional, tem se mostrado bastante interessante (VERRUCK et al., 2017). Esse leite representa uma excelente opção para os consumidores que não podem consumir o leite bovino, pois, embora a composição desses dois seja semelhante, existem diferenças na fração proteica, como os níveis de caseína, que tornam o leite caprino menos alergênico, além do menor tamanho dos glóbulos de gordura e diferença na composição dos ácidos graxos (BRANDÃO; ANJOS; BELL, 2017; FREIRE et al., 2017).

Além das propriedades específicas do iogurte, também tem sido adotado o uso de componentes funcionais para potencializar seus efeitos, a exemplo da inclusão de probióticos e prebióticos, assim como frutas e derivados ricos em compostos bioativos em sua elaboração (NOORI et al., 2017). O iogurte com adição de fruta representa um alimento com potencial para satisfazer o interesse dos consumidores no que diz respeito aos nutrientes do próprio iogurte e nos benefícios, tanto das culturas probióticas como daqueles decorrentes dos compostos fenólicos e fibras presentes na fruta (VERRUCK; DANTAS; PRUDENCIO, 2019). Os derivados de frutas são incorporados em diversos alimentos e bebidas, a exemplo do iogurte, e além de enriquecer seu valor nutricional, afetam positivamente as características sensoriais (OLIVEIRA et al., 2015a; RANADHEERA et al., 2012).

A uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) é uma fruta direcionada principalmente para o consumo *in natura* e para a produção de suco (SILVA et al., 2017a). O cultivo de uvas no Nordeste vem se mostrando crescente, com o estado de Pernambuco sendo classificado como um dos maiores produtores de uvas de mesa do Brasil, com uma produção de aproximadamente 158 mil toneladas de uvas no ano de 2017 (IBGE,

2017). A uva e seus derivados têm ganhado destaque na alimentação humana como fonte de antioxidantes naturais e, conseqüentemente, importante papel na saúde, pois representam boas fontes de compostos fenólicos, destacando-se as antocianinas e o resveratrol (FREIRE et al., 2017; SOUZA, 2015).

Nesse sentido, a utilização da uva na elaboração de um preparado e uma farinha a partir do resíduo resultante dá origem a produtos com alto valor agregado, além de possibilitar o aproveitamento integral dessa fruta, gerando um impacto ambiental positivo por possibilitar um menor acúmulo de resíduos sólidos (SETTE et al., 2020). Outra estratégia que pode ser utilizada para tornar esses derivados de frutas mais saudáveis e nutritivos é a substituição dos açúcares refinados por adoçantes naturais, como o agave e xilitol. Eles tem atraído a atenção dos consumidores por estarem associados com a redução de fatores de risco relacionados a problemas de saúde, como a obesidade, diabetes, hipertensão, cárie e doenças cardiovasculares (AKESOWAN, 2015; VIANA et al., 2015).

Os compostos fenólicos da uva têm sido estudados por apresentarem diversas funções, nomeadamente, antioxidante, anticancerígena, antiobesogênico, redução do risco de doenças coronarianas, entre outros (ALBUQUERQUE et al., 2017; LÓPEZ-OLIVA et al., 2010; QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014). Os efeitos à saúde provenientes da ingestão desses compostos dependem do quanto eles são liberados pela matriz, absorvidos no trato gastrointestinal e disponíveis para metabolização, ou seja, da sua bioacessibilidade (RIBAS-AUGUSTÍ et al., 2017). Os polifenóis também tem sido associados com a modulação da composição e funcionalidade da microbiota intestinal, a qual, por sua vez, cataboliza esses compostos liberando metabólitos mais ativos e melhor absorvidos, proporcionando assim benefícios à saúde (SOUZA et al., 2018).

Com a crescente busca da população por um modelo de vida e alimentação saudáveis, além da procura por alimentos diversificados, o mercado de alimentos funcionais tem crescido bastante (FENG et al., 2019). Entre esses produtos os de maior destaque são aqueles que contêm em sua composição prebióticos e probióticos, os quais em combinação apresentam um efeito sinérgico, uma vez que as bactérias probióticas podem utilizar os prebióticos para favorecer sua sobrevivência e colonização do cólon (NOORI et al., 2017; PEREDO et al., 2016; VERRUCK et al.,

2017). Eles também são reconhecidos por seus efeitos na modulação da microbiota intestinal humana, a qual possui relação intrínseca com a saúde (MA; CHEN, 2020). Entre os comportamentos adotados nesse estilo de vida também se destaca a substituição de açúcares refinados por adoçantes naturais, uma vez que representa uma estratégia para diminuir os fatores de risco associados a problemas de saúde (AKESOWAN, 2015).

Sendo assim, o desenvolvimento do presente estudo mostra-se relevante por trazer a elaboração de um iogurte caprino, incorporado de produtos da uva Isabel e seus resíduos, utilizando o xilitol e agave como adoçantes. Esse novo produto une as propriedades da uva, do probiótico, do leite caprino e do próprio iogurte, e o seu estudo traz informações sobre a avaliação da estabilidade dos compostos fenólicos da uva após processamento e adição ao iogurte caprino, assim como da interação desses compostos com outros componentes do iogurte durante a simulação da digestão gastrointestinal e seu efeito na microbiota intestinal humana. Esses produtos possuem grande destaque no Brasil, e no caso da uva Isabel e do leite de cabra, de forma mais acentuada na região Nordeste, onde são amplamente produzidos e apresentam elevado potencial econômico.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Este trabalho tem como objetivo geral elaborar um iogurte caprino probiótico com adição de um preparado de uva Isabel utilizando adoçantes naturais (agave e xilitol), aproveitando o resíduo resultante (cascas e sementes) para produção de uma farinha e, posteriormente, avaliar o impacto da incorporação destes produtos na qualidade nutricional, funcional e sensorial do iogurte.

1.1.2 Específicos

- Elaborar um preparado de uva Isabel com sacarose (PS) e outro com sua substituição por adoçantes naturais (agave e xilitol) (PAX);

- Elaborar farinhas (FS e FAX) com os resíduos resultantes (cascas e sementes) da elaboração dos preparados;
- Caracterizar os preparados e as farinhas de uva Isabel quanto às propriedades nutricionais e antioxidantes;
- Avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos nos produtos de uva após o processamento;
- Avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos nos preparados e farinhas de uva Isabel em condições simuladas do trato gastrointestinal;
- Estudar o potencial efeito prebiótico *in vitro* do preparado e farinha de uva Isabel com cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-05, *Lactocaseibacillus casei* L-26 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12);
- Elaborar um iogurte caprino com adição de *Lactobacillus acidophilus*, incorporá-lo com o preparado e a farinha de uva Isabel;
- Avaliar o impacto da adição do preparado e da farinha de uva nas propriedades físico-químicas, microbiológicas e sensoriais desse iogurte;
- Avaliar a estabilidade dos compostos fenólicos nos iogurtes adicionado dos produtos de uva em condições simuladas do trato gastrointestinal;
- Estudar o potencial efeito prebiótico *in vitro*, bem como o impacto na microbiota intestinal humana, dos iogurtes caprinos adicionados dos produtos de uva Isabel.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 UVA, DERIVADOS E SUAS PROPRIEDADES

O consumo de frutas e seus derivados é recomendado para todas as pessoas, pois são uma excelente fonte de antioxidantes, fibras, vitaminas, compostos bioativos e minerais. As uvas encontram-se entre as frutas mais produzidas em todo o mundo, sendo também uma das mais consumidas desde os tempos mais antigos (GUPTA; ALAM, 2014; SOUZA, 2015). A uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) é uma das uvas mais cultivada do país, podendo ser destinada, principalmente, para o consumo *in natura* e para a produção de sucos. O Vale do submédio do São Francisco, localizado no semiárido do Nordeste brasileiro, destaca-se na produção de uvas, ocupando a posição de maior produtor de uvas de mesa do Brasil, sendo, portanto, uma região de grande importância na produção de uvas do país (IBGE, 2017).

As uvas podem ser consumidas tanto *in natura* como na forma de derivados, a exemplo de doces, geleias, sucos, vinagres e vinho. Em relação aos resíduos, o bagaço obtido do seu processamento, por exemplo, retém grande parte dos compostos fenólicos, cerca de 20-30% nas cascas e 60-70% nas sementes (GUPTA; ALAM, 2014; SOUZA, 2015; VALERO-CASES; FRUTOS, 2017).

Apesar dos resíduos da uva, como casca e sementes, apresentarem compostos bioativos em quantidades similares aos produtos derivados, seu aproveitamento ainda é pouco realizado e os mesmos são desvalorizados. Contudo, vêm crescendo a preocupação com o aproveitamento desses resíduos e sua utilização como ingredientes funcionais, tendo em vista serem importantes fontes de fibras dietéticas e compostos bioativos (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014; TSENG; ZAO, 2013).

No processamento do preparado de uva (uva, sacarose ou adoçantes e água) é realizado um tratamento térmico que utiliza temperaturas intermediárias por curtos períodos de tempo (temperaturas de 70 a 100 °C em tempos de 1 a 5 minutos). Esse processo faz com que as antocianinas sejam preservadas e proporcionem uma coloração intensa ao produto final, uma vez que inativa as enzimas que as degradam,

assim como também auxilia na transferência dos pigmentos contidos nas cascas das uvas para seu mosto (FALCÃO et al., 2007; VASCONCELOS; MELO FILHO, 2010).

2.1.1 Compostos fenólicos e suas propriedades na uva e seus produtos

Na uva, os principais compostos pertencentes ao grupo dos fenólicos são antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e o resveratrol. Este último tem sido associado à redução do acúmulo de gordura no fígado, provavelmente, através da redução na síntese de ácidos graxos e triacilglicerol, aumento na oxidação dos ácidos graxos e redução do estresse oxidativo e inflamação (FREIRE et al., 2017; GAHRUIE et al., 2015; YU et al., 2017).

O consumo de uvas está relacionado a inúmeros efeitos benéficos à saúde, entre os quais pode-se citar a redução do risco de câncer, principalmente aqueles relacionados ao trato gastrointestinal, assim como também de doenças ligadas aos danos do estresse oxidativo. Esses benefícios estão associados, principalmente, aos compostos fenólicos presentes na uva, através dos mecanismos antioxidantes, anti-inflamatório e atividade antiproliferativa, assim como pela indução da apoptose (LÓPEZ-OLIVA et al., 2010; POZUELO et al., 2012).

Entre o grupo dos compostos fenólicos, as antocianinas destacam-se pela coloração escura, responsáveis pela pigmentação azul, roxa e vermelha de várias flores e frutas. As antocianinas podem ter sua estabilidade afetada por diversos fatores, entre eles o pH, temperatura, exposição à luz, presença de oxigênio, entre outros (FALCÃO et al., 2009; SILVA, 2012; SOUZA, 2015).

A cor é uma das principais características do alimento consideradas pelo consumidor na hora da sua escolha. A diminuição do uso de aditivos alimentares, a exemplo dos corantes artificiais, tem sido uma estratégia adotada por muitos consumidores, devido aos mesmos estarem relacionados com questões de toxicidade. Dessa forma, a utilização de pigmentos naturais e suas propriedades antioxidantes tem despertado bastante interesse. A utilização das antocianinas como corante natural se destaca por sua cor atrativa e brilhante, diversidade de tonalidades de acordo com o pH, sendo sua aplicação desejável em alimentos por não apresentar toxicidade e ainda proporcionar benefícios à saúde (FALCÃO et al., 2009; SILVA, 2012; SOUZA, 2015).

2.2 BIOACESSIBILIDADE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

Os efeitos benéficos desempenhados no organismo pelos compostos fenólicos não dependem apenas de suas concentrações no alimento ingerido, mas também de sua bioacessibilidade e biodisponibilidade após digestão (SOUZA et al., 2018). A ligação dos compostos fenólicos a outros componentes da matriz alimentar, especialmente às fibras, é um dos fatores que podem afetar sua bioacessibilidade e, conseqüentemente, suas propriedades biológicas e efeitos benéficos. A biodisponibilidade é descrita como a proporção de um nutriente que é digerido, absorvido e utilizado pelo metabolismo normal, já a bioacessibilidade é descrita como a quantidade ingerida de um nutriente que está disponível para absorção no intestino após a digestão (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014).

Os compostos fenólicos ligados às fibras dietéticas podem ter sua absorção intestinal diminuída ou retardada. Porém, mesmo esses compostos não absorvidos atingem o intestino grosso e permanecem no lúmen colônico, onde, possivelmente, contribuem para uma atividade antioxidante. Dietas ricas em fibras e compostos fenólicos têm sido amplamente associadas com a redução do risco de obesidade e doenças cardiovasculares (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014; YU et al., 2017).

A composição da matriz alimentar apresenta grande influência na biodisponibilidade e bioacessibilidade dos compostos fenólicos. A interação com a matriz alimentar pode dificultar a liberação e solubilização dos compostos fenólicos no quimo, além de que estes podem passar por modificações químicas e se transformarem em formas indisponíveis. No entanto, essas interações com a matriz também podem prevenir a degradação desses compostos na travessia do trato gastrointestinal até o local de absorção (RIBAS-AGUSTÍ et al., 2017). Diversos fatores podem interferir na biodisponibilidade e bioacessibilidade dos compostos fenólicos, a exemplo das fontes alimentares, interações químicas com outros fitoquímicos e outros compostos presentes nos alimentos (PALAFOX-CARLOS; AYALA-ZAVALA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2010).

A bioacessibilidade e biodisponibilidade dos compostos fenólicos são afetadas pela classe a qual pertencem, sendo importantes a estrutura e tamanho molecular, além da glicosilação (RIBAS-AUGUSTÍ et al., 2017). Ao estudar o efeito da digestão

simulada *in vitro* sobre os polifenóis e a atividade antioxidante do sabugueiro, Pinto et al. (2017) observaram que a estrutura própria e os grupos funcionais dos compostos fenólicos tinham maior influência na sua atividade antioxidante que seu conteúdo total, ou seja, o tipo de composto seria mais importante que sua quantidade no alimento.

Apesar dos modelos de digestão *in vitro*, quando comparados aos modelos *in vivo*, não reproduzem efetivamente a complexidade do trato gastrointestinal, eles apresentam as vantagens de serem relativamente baratos e simples, mais rápidos, não apresentarem restrições éticas, suas condições podem ser controladas, a amostragem é simples e os resultados reprodutíveis. Por isso, têm sido amplamente utilizados e têm se provado eficientes em determinar a estabilidade dos fitoquímicos em condições gastrointestinais (GAYOSO et al., 2016; PINTO et al., 2017).

2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais podem ser definidos como aqueles que além de atender aos requisitos tradicionais de nutrientes, possuem um ou mais ingredientes adicionais capazes de promover benefícios à saúde, sendo os probióticos e prebióticos os mais utilizados. A demanda por esse tipo de alimento tem aumentado, uma vez que é crescente a importância dada ao papel da alimentação na prevenção de doenças (PEREDO et al., 2016; NOORI et al., 2017). A ingestão de probióticos e prebióticos de forma isolada ou em combinação tem sido relacionada com a regulação da microbiota intestinal (FREIRE et al., 2017).

2.3.1 Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos capazes de proporcionar benefícios à saúde dos consumidores, desde que consumidos em quantidades adequadas (10^6 - 10^7 CFU/g ou mL) (FAO/WHO, 2002; FREIRE et al., 2017; GUNENC et al., 2016; NOORI et al., 2017). Entre os benefícios do consumo de probióticos, encontram-se o balanço da microbiota intestinal, produção de compostos antimicrobianos capazes de promover a resistência digestiva à colonização por patógenos, estimulação do sistema imune, efeitos antimutagênicos e anticarcinogênicos, favorecimento do metabolismo da lactose e redução do colesterol (FREIRE et al., 2017; VERRUCK et al., 2017).

Existem diversas barreiras na sobrevivência de microrganismos probióticos, contudo, eles devem ser capazes de permanecer viáveis em quantidades suficientes desde a inoculação, processamento e estocagem no alimento, até a travessia do trato gastrointestinal durante a digestão, sobrevivendo às condições adversas de acidez e enzimas gástricas, e colonizar o epitélio intestinal, de modo a garantir a funcionalidade que lhes foi atribuída (FERNANDEZ; MARETTE, 2017; MADUREIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2014).

Desta forma, alguns alimentos e ingredientes têm se destacado na proteção dos probióticos, uma vez que características como pH e propriedades físico-químicas também são responsáveis pela sobrevivência desses microrganismos, sendo os iogurtes uma das matrizes alimentares mais utilizadas para carregá-los, já que apresentam propriedades adequadas para tal (BLAIOTTA et al., 2013). Os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais utilizados entre as cepas probióticas (FREIRE et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2014; PEREDO et al., 2016).

Outro fator importante que pode afetar a viabilidade dos probióticos é a cepa utilizada, assim como a interação entre diferentes cepas e espécies utilizadas em conjunto, pois elas tanto podem ter uma relação de sinergismo como também de antagonismo (RANADHERA et al., 2014).

2.3.2 Prebióticos

Os prebióticos são descritos como substratos seletivamente utilizados por microrganismos do hospedeiro proporcionando um benefício à saúde (GIBSON et al., 2017). Eles podem ser metabolizados pela microbiota do cólon, produzindo metabólitos biologicamente ativos, os quais influenciam a composição e a atividade das bactérias da flora intestinal, regulando assim essa população bacteriana (SOUZA et al., 2018). As fibras dietéticas e os compostos fenólicos são reconhecidos como componentes alimentares com efeito prebiótico, exercendo um importante efeito na modulação da microbiota, e portanto, sendo responsáveis por potenciais efeitos à saúde humana (GIBSON et al., 2017; SOUZA et al., 2018).

Os compostos fenólicos podem passar por um processo de biotransformação mediado pela microbiota intestinal, originando formas mais ativas e com maior biodisponibilidade. Por sua vez, os metabólitos formados podem modular o

crescimento de grupos específicos de bactérias, dessa forma exibindo importantes efeitos na saúde à nível local e sistêmico (FARIA et al., 2014). A suplementação da dieta com polifenóis foi descrita por estimular espécies benéficas pertencentes aos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, além de inibir espécies patogênicas de *Clostridium* na microbiota intestinal humana (MA; CHEN, 2020).

O aumento do consumo de fibras dietéticas tem sido relacionado com diversos benefícios à saúde, entre eles a redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, e até mesmo câncer. Assim, o enriquecimento de alimentos com fibras tem sido empregado como estratégia na prevenção de doenças crônicas, e o enriquecimento de alimentos com esses compostos como ingredientes funcionais vem crescendo como alternativa na promoção de benefícios à saúde dos consumidores (KEMPERMAN et al., 2013; LAVELLI et al., 2015; QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014).

Além dos benefícios à saúde, o enriquecimento de alimentos com fibras dietéticas tem sido bastante explorado por elas poderem agregar propriedades tecnológicas, podendo atuar na capacidade de retenção de água, no aumento da viscosidade, capacidade de formação de géis ou emulsões e modificação da textura, como agentes de redução total ou parcial de outros ingredientes, como farinha, gordura ou açúcar (LAVELLI et al., 2015).

A associação de fibras e compostos fenólicos dá origem a um interessante ingrediente para a indústria alimentícia, uma vez que traz os benefícios atribuídos às fibras combinados com as propriedades referentes aos compostos fenólicos em um único produto (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014).

2.3.3 Microbiota intestinal

O reconhecimento da importância da microbiota intestinal tem se tornado evidente, uma vez que ela tem sido relacionada com a proteção contra patógenos, modulação do sistema imune, produção de vitaminas e remoção de moléculas cancerígenas, e, portanto, com o estado de saúde do hospedeiro (PAYLING et al., 2020; RAMNANI, 2015). Estima-se que a microbiota intestinal possui uma população bacteriana de pelo menos 10^{13} – 10^{14} células, e sua composição e funcionalidade podem exercer um grande impacto na saúde e na incidência de doenças, como obesidade e diabetes (FARIA et al., 2014).

Bactérias pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. tem sido amplamente descritas por contribuir com a saúde humana em diferentes níveis, atuando, por exemplo, na melhora da função da barreira intestinal, estimulando o sistema imune, prevenindo diarreias e alergias, participando na ativação de provitaminas e modulando o metabolismo lipídico (FARIA et al., 2014). Entre os principais produtos da metabolização dos substratos por bactérias está a produção dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Esses ácidos estão associados com diversos benefícios à saúde, a exemplo da inibição de patógenos, função intestinal, modulação da inflamação e proteção contra carcinogênese (PAYLING et al., 2020).

2.4 IOGURTE CAPRINO

O iogurte é um dos derivados lácteos mais consumidos por grande parte da população, destacando-se por suas propriedades sensoriais, excelente valor nutricional e também poder terapêutico, visto que seu consumo tem sido associado com efeitos benéficos à saúde (NOORI et al., 2017). Embora a produção desse derivado ainda ocorra mais a partir do leite bovino, o leite de cabra tem se destacado por apresentar fácil digestibilidade, hipoalergenicidade e pelo processamento em derivados, que além de agregar valor, facilita sua comercialização (SILANIKOVE et al., 2010).

O maior teor de ácidos graxos de cadeia média e menor tamanho dos glóbulos de gordura são responsáveis por uma das características mais atrativas desse leite, sua melhor digestibilidade. Outro fator importante é sua hipoalergenicidade relacionada ao menor conteúdo de α -s1-caseína (proteína responsável pela alergia ao leite de vaca) quando comparado ao leite bovino. Entre as qualidades do leite de cabra pode-se destacar também o seu potencial de adaptação a diferentes tratamentos tecnológicos, originando produtos capazes de satisfazer a demanda dos consumidores por alimentos com propriedades benéficas à saúde, valor nutricional e segurança (GARCÍA et al., 2014; SILANIKOVE et al., 2010).

A formulação de iogurtes funcionais é cada vez mais comum, e entre as estratégias mais utilizadas para aumentar essa funcionalidade está a incorporação de bactérias probióticas. Elas são escolhidas com base nos benefícios que podem

desempenhar, assim como sua estabilidade e capacidade de sobrevivência através do trato gastrointestinal, sendo comum também a fortificação desses iogurtes com fibras dietéticas, a fim de complementar suas propriedades benéficas (GAHRUIE et al., 2015; MADUREIRA et al., 2011; NOORI et al., 2017).

A matriz alimentar em que os probióticos são incorporados tem um importante papel nas propriedades desses microrganismos devido ao efeito protetivo que podem ter sobre os probióticos durante a digestão no trato gastrointestinal. Os derivados lácteos são um dos principais meios de veiculação de probióticos, destacando-se, recentemente, os produtos lácteos caprinos, pelo potencial efeito protetivo que o leite de cabra tem demonstrado sobre essas bactérias durante o processo de digestão. Assim, os produtos produzidos com leite de cabra, a exemplo do iogurte caprino, tem ganhado espaço no mercado, principalmente para a produção de alimentos probióticos (RANADHERA et al., 2014; SILANIKOVE et al., 2010; VERRUCK et al., 2017).

2.5 ADOÇANTES DIETÉTICOS NATURAIS

A crescente preocupação com problemas de saúde e as recomendações nutricionais de órgãos públicos da saúde tem proporcionado o aumento da importância dada à qualidade e segurança dos produtos alimentares (GAHRUIE et al., 2015; MESUROLE et al., 2013). A substituição dos açúcares refinados por adoçantes dietéticos naturais vêm aumentando, principalmente por ser uma alternativa mais saudável, visando diminuir os fatores de risco associados a problemas de saúde como obesidade, hipertensão, diabetes, cáries e doenças cardiovasculares. A escolha dos consumidores por produtos com adoçantes de baixas calorias geralmente ocorre pelo desejo de consumir alimentos com sabor doce, no entanto com poucas calorias (AKESOWAN, 2015; CHATTOPADHYAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2014).

2.5.1 Xilitol

A substituição do açúcar por xilitol representa uma excelente alternativa, visto que ele apresenta o mesmo poder adoçante que a sacarose, no entanto, com uma

quantidade bem menor de calorias (2,4 kcal/g) e baixo índice glicêmico (8). Ele ainda apresenta solubilidade em água semelhante à da sacarose (195 g/100 g de água a 20 °C), atuando como excelente agente redutor de atividade de água, podendo favorecer a conservação dos alimentos, além de não ocasionar escurecimento pela reação de Maillard, dificilmente cristalizar, ter elevada estabilidade química, baixa suscetibilidade à fermentação e proporcionar valores de sólidos solúveis similares ao açúcar em produtos como doces e geleias (AKESOWAN, 2015; CHATTOPADHYAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2014; VIANA et al., 2015).

O xilitol é de origem natural e apresenta sabor e aparência muito semelhantes ao açúcar convencional. Ele foi aprovado como seguro para o consumo humano e como aditivo em alimentos pela FDA (Food and Drug Administration), e também foi considerado seguro pelo comitê científico da FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) e pelo comitê científico de alimentos da EU (European Union) (CHATTOPADHYAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2014; MÄKINEN, 2016; UR-REHMAN, 2013).

Além de prevenir o aparecimento de cáries e poder ser utilizado em alimentos destinados ao consumo por diabéticos sem deixar gosto residual desagradável, o xilitol é reconhecido por apresentar propriedades funcionais, uma vez que pode exercer efeito prebiótico, modificando a microbiota intestinal, promovendo o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias. Esse aumento da população da microbiota benéfica acarreta em proteção contra infecções intestinais e câncer, reduzindo as bactérias patogênicas. Cerca de dois terços do xilitol ingerido é metabolizado pelas bactérias intestinais, produzindo AGCC, e ocasionando redução da glicose sanguínea e dos níveis de colesterol e triglicerídeos (AKESOWAN, 2015; UR-REHMAN, 2013).

2.5.2 Agave

O xarope ou néctar de agave é obtido da seiva da planta do agave, em especial das espécies tequilana ou azul e salmiana, e, geralmente, apresenta coloração variando de amarelo alaranjado ao laranja escurecido. É considerado um adoçante dietético natural, o qual pode ser utilizado como substituto do açúcar e vem ganhando espaço devido ao seu baixo índice glicêmico (17 – 27), além de destacar em relação

a outros adoçantes naturais, como o mel e os xaropes de milho e cana-de-açúcar, pelo seu elevado poder adoçante. Ele surgiu recentemente no México, e é bastante comum também na África do Sul e países do Mediterrâneo (GURLER et al., 2017; HOOSHMAND et al., 2014; MELLADO-MOJICA; LÓPEZ, 2015).

Além de apresentar menor índice glicêmico, o fato de possuir maior poder adoçante que outros xaropes, faz com que seja necessária uma menor quantidade dele para alcançar a mesma doçura, assim, reduzindo a ingestão de calorias (SANTIAGO-GARCÍA; LOPEZ, 2014). Recentemente, o xarope de agave vem ganhando popularidade e tem se tornado uma alternativa de adoçante dietético natural interessante, pois, além de possuir capacidade antioxidante, apresenta outros benefícios à saúde, como auxiliar na melhora de fatores de risco para obesidade e doenças crônicas, como diabetes tipo 2 e câncer (HOOSHMAND et al., 2014; SANTOS-ZEA, 2016).

O agave possui elevados teores de oligossacarídeos como os frutanos, os quais tem um perfil variável de acordo com a forma de processamento do xarope, como tempo e temperatura, que afetam o processo de hidrólise (GURLER et al., 2017; HOOSHMAND et al., 2014; SANTIAGO-GARCIA et al., 2017). Esses frutanos são denominados agavins e têm sido reconhecidos pelo seu potencial prebiótico, pois podem atuar como fibras solúveis, uma vez que são resistentes à hidrólise pelas enzimas digestivas humanas e podem ser fermentados pela microbiota do cólon, produzindo AGCC. Eles também são capazes de favorecer o crescimento de lactobacilos e bifidobactérias, assim como estimular a secreção de peptídeos envolvidos na regulação do apetite (SANTIAGO-GARCÍA; LOPEZ, 2014; SANTIAGO-GARCIA et al., 2017).

Apesar de alguns estudos já terem avaliado iogurtes adicionados de produtos de uva (KARNOPP et al., 2017; SANTOS et al., 2017; SILVA et al., 2017), não temos conhecimento de nenhum que tenha utilizado adoçantes naturais na elaboração desse produto. Bem como, que tenha avaliado a interação dos polifenóis da uva com as proteínas do iogurte, e o impacto desse produto na microbiota intestinal humana, evidenciando, dessa forma, a importância dos tópicos abordados nesse estudo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO E AMOSTRAS

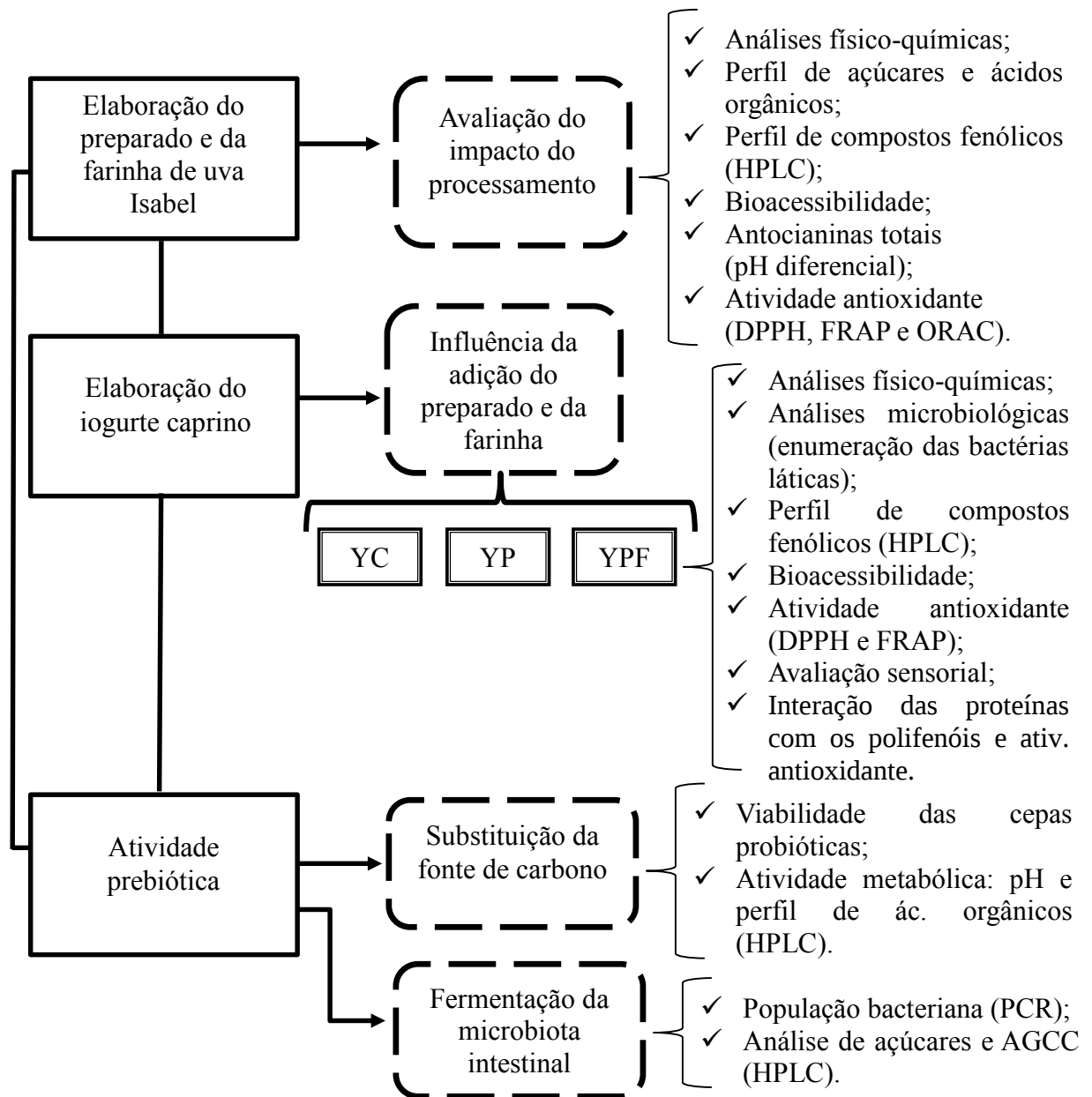
As análises foram realizadas nos Laboratórios de Bromatologia, Técnica Dietética e Microbiologia de Alimentos do Centro de Ciências da Saúde e no Laboratório de Processamento de Alimentos do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), no Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e em laboratórios do Centro de Biotecnologia e Química Fina (CBQF) da Escola Superior de Biotecnologia – Universidade Católica Portuguesa (ESB – UCP) que permitiram o uso de suas instalações e equipamentos para a realização dos experimentos, além de outros laboratórios conveniados ao Grupo de Pesquisa.

As uvas cv. Isabel *in natura*, em estágio de maturação comercial, foram adquiridas na Empresa Paraibana de Abastecimento e Serviços Agrícolas (EMPASA), localizada na cidade de João Pessoa-PB. O xarope de agave, o xilitol e a sacarose foram adquiridos no comércio local. O leite de cabra foi obtido de uma Cooperativa de Produtores Rurais, localizada na cidade de Monteiro-PB. A cultura starter (YF-L903) compreendendo *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e a cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* LA-05 obtidas de Christian Hansen® (Valinhos, Minas Gerais, Brasil).

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Na Figura 1 são apresentadas as principais etapas do delineamento experimental.

Figura 1 – Desenho de estudo ilustrando as etapas do experimento.



YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel.

3.3 ELABORAÇÃO DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL

Nesta etapa as frutas foram selecionadas, lavadas em água corrente e sanitizadas em solução de água clorada por 15 minutos, na proporção de 10 ppm de hipoclorito de sódio e posterior enxágue. As uvas *in natura* foram acrescidas de sacarose (15 g/100 g) para o PS (Preparado controle) ou agave (7,5 g/100 g) e xilitol

(7,5 g/100 g) para o PAX (Preparado com agave e xilitol), definidos de acordo com estudo piloto, e água (10 mL/100 g), em seguida, submetidas a tratamento térmico ($92,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}/3\text{ min}$) em banho-maria. Seguido de resfriamento em banho de gelo, trituradas em liquidificador e filtradas em peneira de 20 mesh. O preparado de uva Isabel foi acondicionado em recipientes de polietileno e armazenado sob refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior análise e/ou adição ao iogurte. Este preparado está inserido na patente de invenção “iogurte caprino probiótico adicionado de uva” de número BR102017019085-4 (ANEXO A).

Os resíduos (cascas e sementes) remanescentes do processamento do preparado foram secos em estufas de circulação de ar (Tecnal, Piracicaba, São Paulo) a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ até alcançar peso constante (BENDER et al., 2016). Em seguida, foram triturados em processador de alimentos e tamisados em peneira de 28 mesh, originando a farinha FS (Farinha controle), oriunda dos resíduos do PS, e a farinha FAX (Farinha com agave e xilitol), oriunda dos resíduos do PAX, foram então embaladas em recipientes de polietileno e armazenadas sob refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) para posterior análise e/ou adição ao iogurte.

3.4 ESTUDO DA ESTABILIDADE DE NUTRIENTES E COMPOSTOS FENÓLICOS FRENTE AO PROCESSAMENTO DA UVA

3.4.1 Caracterização físico-química

A caracterização físico-química do preparado e da farinha de uva Isabel incluíram a determinação do teor de proteínas, lipídeos, sólidos totais, cinzas, açúcares totais, fibras solúveis e insolúveis, pH, acidez, Aw, sólidos solúveis (°Brix) e cor, conforme metodologia recomendada pela *Association of Official Analytical Chemist methods* (AOAC, 2005).

Os açúcares e ácidos orgânicos foram extraídos utilizando ácido sulfúrico 4,0 mM/L e filtrados com filtro de seringa de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ (Millex Millipore, Brasil) (BATISTA et al., 2018). Os extratos foram analisados por HPLC utilizando um cromatógrafo modelo 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um detector de diodo (modelo G1315D) e um detector de índice de refração (modelo G1362A). Utilizou-se uma coluna Hi-Plex H ($7,7 \times 300\text{ mm}$, $8\text{ }\mu\text{m}$) (Agilent Technologies, EUA) com fase móvel

de H_2SO_4 (Sigma, Alemanha) 4 mmol/L e fluxo de 0,7 mL/min. A temperatura utilizada foi de 50 °C com volume de injeção de 10 μL . Os dados foram processados utilizando o software Open LAB CDS Cessation Edition (Agilent Technologies, EUA). A detecção dos compostos foi realizada comparando os tempos de retenção com padrões externos dos açúcares (frutose, maltose e glicose) e ácidos orgânicos (cítrico, tartárico, málico, succínico, fórmico) (BALL et al., 2011). Os resultados foram expressos em mg/100 g.

3.4.2 Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante

3.4.2.1 Extração dos compostos fenólicos

A extração dos compostos seguiu metodologia descrita por Dutra et al. (2017) com adaptações. As amostras de farinha de uva (1 g) e uva (1,5 g) foram pesadas em tubo de polietileno e adicionados 10 mL de metanol/água (85:15, v/v), enquanto o preparado de uva (1,5 g) foi adicionado a 8,5 mL de metanol (Sigma), e, então, submetido a 40 kHz por 30 min em um banho ultrassônico modelo USC – 1800 (Unique, Brasil) a 25 °C. As amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 15 min em centrífuga modelo SL-701 (Solab, Brasil) e coletados os sobrenadantes. A extração foi repetida mais 2 vezes sob as mesmas condições. Os sobrenadantes foram então combinados e a remoção dos solventes foi realizada em um rotaevaporador (Fisatom, Brasil). Os extratos foram ressuspensos em 2 mL de metanol e filtrados em filtro de seringa de 0,45 μm (Millex Millipore, Brasil). Esses extratos foram utilizados para determinar o perfil de compostos fenólicos e a atividade antioxidante.

3.4.2.2 Determinação do perfil de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram analisados de acordo com metodologia adaptada por Dutra et al. (2018), usando um cromatógrafo líquido Agilent 1260 Infinity sistema LC (Agilent Technologies, EUA) acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD) (modelo G1315D). Os dados foram processados utilizando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies, EUA). Foi utilizada a coluna Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 $\times$ 4,6 mm, 3,5 μm) e a pré-coluna Zorbax C18 (12,6 $\times$ 4,6 mm, 5 μm) (Zorbax, EUA). A temperatura foi 35 °C e o volume de injeção foi de 20 μL da amostra, previamente diluído na fase A e filtrado em uma

membrana de 0,45 µm (Millex Millipore, Brasil). A vazão do solvente foi de 0,8 mL/min. O gradiente utilizado na separação foi de 0-5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14-30 min: 50% B; 30-33 min: 80% B, onde o solvente A foi uma solução de ácido fosfórico (Sigma) (0,1 M, pH = 2,0) e o solvente B foi metanol acidificado com 0,5% de ácido fosfórico (Sigma). A detecção dos compostos foi realizada a 220, 280, 320, 360 e 520 nm, e a identificação e quantificação por comparação com padrões externos (Sigma).

3.4.2.3 Antocianinas monoméricas

As antocianinas monoméricas (AM) foram quantificadas na uva e nos produtos utilizando o método de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001). As leituras foram realizadas em absorbâncias de 510 e 700 nm, com tampões de pH 1 e 4,5, em espectrofotômetro modelo Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). O total de AM foi calculado de acordo com a seguinte equação (Eq. (2)):

$$AM = A \times PM \times 1000/(\epsilon \times C)$$

Onde A é a absorbância = $(A_{515} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{515} - A_{700})_{pH\ 4.5}$; PM é o peso molecular da malvidina 3-glicosídeo = 493,2; ϵ é a absorvidade molar da malvidina 3-glicosídeo = 28000; e C é a concentração do tampão em mg/mL. O teor de antocianinas foi expresso em mg de malvidina 3-glicosídeo/100 g.

3.4.2.4 Atividade antioxidante

- Atividade sequestradora do radical livre DPPH: A atividade antioxidante total foi determinado pela capacidade de sequestrar radicais livres DPPH usando uma versão modificada do método por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Uma solução de metanol contendo 0,06 mmol/L de DPPH foi preparada e estocada a 20 °C até o uso. A solução trabalho foi obtida diluindo a solução de DPPH (Sigma) com metanol (Sigma) até obter uma absorbância de aproximadamente 0,980 ($\pm 0,02$) a 515 nm usando um espectrofotômetro modelo Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). Uma alíquota de 2,9 mL dessa solução foi misturada com 100 µL de extrato e incubada a temperatura ambiente (28 °C) por 30 min no escuro. A absorbância foi mensurada a 515 nm e os resultados expressos em µM de TEAC/100 g.

A inibição dos radicais livres de DPPH, em termos percentuais (I%), foi calculada de acordo com a seguinte equação (Eq. (3)):

$$\% \text{inibição} = [1 - (\text{absorbância na amostra}_{t=30\text{min}} / \text{absorbância no controle}_{t=0\text{min}})] \times 100$$

- Habilidade de redução do ferro (FRAP): A atividade antioxidante também foi determinada pelo potencial de redução do íon ferro usando o método descrito por Rufino et al. (2006). O extrato (90 µL) e 270 µL de água destilada foram misturados com 2,7 mL do reagente FRAP em um tubo, homogeneizados e incubados por 30 min em um banho-maria a 37 °C. O reagente FRAP foi preparado em 0,3 M de tampão acetato (pH 3,6), TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl) -s-triazine) (Sigma) 10 mmol/L em uma solução de HCl (Sigma) 40 mol/L e 20 mmol de FeCl₃ (Sigma). A absorbância (595 nm) foi mensurada usando o espectrofotômetro modelo Cary 60 (Agilent Technologies, Malásia). A curva padrão foi elaborada com Trolox e os resultados expressos em µM TEAC/100 g de amostra.

- Capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC): A capacidade de desativar radicais oxigenados foi determinada pelo método adaptado de Zulueta, Esteve e Frigola (2009) utilizando um espectrofotômetro com leitor de microplacas FLUOstar Omega (BMG LABTEC, Alemanha). Na microplaca foi adicionado 20 µL do extrato e homogeneizado com 120 µL de fluoresceína (61,2 nM), posteriormente incubados por 10 min a 37 °C com agitação por 3 minutos. Após 10 minutos a microplaca foi adicionada de 60 µL de solução 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH 19 mM), iniciando a reação. Todos os reagentes foram preparados em tampão fosfato 75 mM, pH 7,4 e o volume final da mistura foi de 200 µL. A intensidade de fluorescência (excitação = 485 nm/20 nm e emissão = 528 nm/20 nm) foi verificada com modo cinético, com leitura em intervalos de 1 min, até a fluorescência atingir um valor menor ou igual a 0,5% da fluorescência inicial. A curva padrão foi criada com Trolox, e os resultados foram expressos em µM TEAC/100 g.

3.4.3 Bioacessibilidade *in vitro* de compostos fenólicos

O procedimento de digestão *in vitro* simulou as condições fisiológicas gastrointestinais em três fases sequenciais (oral, gástrica e intestinal), conforme descrito por Dutra et al. (2017). Alíquotas das amostras (10 g para as farinhas e 20 g para os preparados e a uva) foram misturadas com 5 mL de solução salina (2,38 g de

Na₂HPO₄, 0,19 g de KH₂PO₄, 8 g de NaCl e 200 U/L α-amilase). A mistura foi agitada por 10 min em banho-maria a 37 ± 1 °C a 95 rpm. Em seguida, as amostras foram acidificadas a pH 2,0 com 1 mL de solução de pepsina (13 mg de pepsina em 5 mL de HCl 0,1 mol/L) para um volume final de 5 mL e incubado a 37 °C com agitação a 95 rpm por 1 h para simular digestão gástrica. Ao final da digestão gástrica a mistura foi imediatamente resfriada em um banho de gelo e uma alíquota de 1 mL foi removida e armazenada a -18 °C. O remanescente da amostra foi submetido à simulação da digestão no intestino delgado, onde, 5 mL de uma mistura de pancreatina (0,12 g) e sais biliares ((40 mg glicodeoxicolato em 1 mL de solução salina), taurodeoxicolato (25 mg em 1 mL de solução salina), e taurocolato (40 mg em 1 mL de solução salina)) foram adicionados em tubos de polietileno com as amostras, e, então, incubados sob agitação (95 rpm) a 37 °C por 2 h para completar a fase intestinal. A bioacessibilidade foi expressa em porcentagem e determinada de acordo com a seguinte equação (Eq. (1)):

$$\text{Bioacessibilidade (\%)} = (\text{digerido/não-digerido}) \times 100$$

Onde digerido corresponde à concentração de compostos fenólicos na porção digerida e não-digerido à concentração de compostos fenólicos na amostra inicial (antes da digestão).

3.5 AVALIAÇÃO DA POTENCIAL AÇÃO PREBIÓTICA DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL

3.5.1 Protocolo de digestão gastrointestinal *in vitro*

A digestão das amostras foi realizada de acordo com Minekus et al. (2014) realizada em 4 diferentes fases, simulação da digestão oral, gástrica e intestinal, seguida de diálise. Inicialmente, 10 g de cada amostra foi diluída em 100 mL de água destilada e tiveram o pH ajustado para 6, utilizando NaHCO₃ 1 M. Para simular a fase oral foi adicionado 1,2 mL de uma solução similar à saliva, preparada com 100 U/mL de α-amilase (Sigma) diluída em CaCl₂ 1 mM, e incubado sob agitação de 200 rpm por 2 min a 37 °C. Depois disso, o HCl 1 M foi utilizado para ajustar o pH para 2. Para simular a fase gástrica adicionou-se uma solução de pepsina 25 mg/mL (Sigma) preparada em HCl 0,1 M a uma proporção de 0,05 mL/mL de amostra, seguido de

incubação por 120 min a 130 rpm e 37 °C . O NaHCO₃ 1 M foi utilizado para ajustar o pH para 6. Na simulação da etapa do intestino delgado utilizou-se 2 g/L de pancreatina (Sigma) e 12 g/L de sais biliares bovinos (Sigma), diluídos em NaHCO₃ 0,1 M, então incubado por 120 min a 45 rpm e 37 °C. Para simular a absorção intestinal foi utilizada uma membrana de diálise semipermeável de peso molecular de 100-500 Da Spectra/Por® 6 (Spectrum Europe, Holanda) que foi submersa em NaCl 0,01 M a 5 °C para remover produtos da digestão de baixo peso molecular. Após 15 h, o fluido de diálise foi substituído e a diálise realizada por 2 horas adicionais. Posteriormente, o conteúdo final da membrana de diálise foi seco em liofilizador modelo L-101(LIOTOP, Brasil), para obtenção de um pó que foi armazenado a 5 ± 1 °C em sacolas de polietileno revestidas com cobertura metalizada. As amostras resultantes foram utilizadas na avaliação do potencial efeito prebiótico. Todas as medições de pH foram realizadas usando um potenciômetro digital modelo Q400AS (Quimis, Brasil).

3.5.2 Preparo do microrganismo e inóculo

Para avaliar o efeito prebiótico das amostras dos produtos de uva foram utilizadas diferentes espécies de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-05® (Chr. Hansen, Dinamarca), *Lactocaseibacillus casei* LAFTI® L-26 (DSM Food Specialties, Austrália) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® (Chr.Hansen, Dinamarca)) na forma de inóculos isolados (ANDRADE et al., 2020). Para os ensaios, cada cultura foi inoculada em caldo Man Rogosa e Sharp (MRS) (HiMedia, Índia) a 37 °C por 20–24 h, centrifugada (4000 rpm, 15 min, 4 °C) (Solab), lavada e ressuspensa em solução salina (8,5 g/L de NaCl; FMaia, Brasil) para obter uma suspensão com contagem de células viáveis de aproximadamente 7 log de unidades formadoras de colônias (UFC)/mL quando plaqueado em ágar MRS (DUARTE et al., 2017).

3.5.3 Meio de cultivo das bactérias

Para avaliar o efeito das amostras no crescimento das cepas probióticas foi utilizado um caldo MRS com fonte de carbono modificada como meio base (DUARTE et al., 2017). O meio possui a seguinte composição: triptona, 10 g/L; extrato de carne, 8 g/L; extrato de levedura, 4 g/L; fosfato de hidrogênio di-potássio, 2 g/L; tween 80, 1 g/L; acetato de sódio, 5 g/L; citrato de amônio tribásico, 2 g/L; sulfato de magnésio,

0,2 g/L; sulfato de manganês, 0,04 g/L e a respectiva fonte de carbono. Para monitorar o crescimento das cepas, as diferentes fontes de carbono utilizadas foram: glicose (ingrediente não prebiótico), FOS (frutooligossacarídeo, ingrediente prebiótico conhecido) com concentração de 20 g/L e as amostras de produtos de uva (PS, PAX, FS, FAX) com concentrações de 20 g/L e 10 g/L. Todos os ingredientes utilizados para preparar o caldo MRS foram obtidos de Sigma-Aldrich (EUA), com exceção do FOS, obtido da Galena Ltd (Campinas, Brasil).

3.5.4 Avaliação da viabilidade bacteriana

A viabilidade celular das cepas probióticas foi verificada pela determinação da contagem de células viáveis ao longo do tempo. Para isso, o inóculo de cada cepa probiótica foi depositado (20 g/L) em frascos estéreis contendo 10 mL de cada respectivo meio de cultura (contagem iniciais de células viáveis de aproximadamente 7 log UFC/mL). A mistura foi homogeneizada e incubada a 37 °C. Nos diferentes intervalos de tempo (0, 6, 12, 18, 24 e 48 h), alíquotas de cada mistura foram diluídas serialmente em solução salina esterilizada e, em sequência, alíquotas de 10 µL de cada diluição foram plaqueadas em agar MRS. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 h e os resultados das contagens de células viáveis foram expressos como log UFC/mL. Para o *Bifidobacterium* o meio foi suplementado com L-cisteína (0,5 g/L; Sigma-Aldrich, EUA) e utilizadas condições de incubação anaeróbicas (AnaeroGen™, England).

3.5.5 Avaliação da atividade metabólica das bactérias

A atividade metabólica das cepas probióticas foi avaliada nos meios de cultura com diferentes fontes de carbono em diferentes intervalos de tempo após a incubação pela determinação dos valores de pH (0, 6, 12, 18, 24 e 48 h), utilizando potenciômetro digital modelo Q400AS (Quimis, Brasil).

3.6 FORMULAÇÃO DE IOGURTE CAPRINO E ESTUDO DAS SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS.

Os iogurtes caprinos foram elaborados com adição da cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*) de acordo com a metodologia descrita por Silva et al., (2017a). Para a elaboração dos iogurtes, o leite caprino, previamente pasteurizado (65 ± 1 °C/30 min), foi adicionado de xilitol (5 g/100 mL), e, posteriormente, submetido a um tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 min). Em seguida, o leite foi resfriado a 45 ± 1 °C e a cultura starter, composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (0,4 g/L) e a cultura probiótica, composta por *Lactobacillus acidophilus* (0,1 g/L) foram inoculadas. A fermentação foi realizada em incubadora a uma temperatura de 45 ± 1 °C/4 horas. Posteriormente, foi realizado o resfriamento a 5 ± 1 °C, seguido de homogeneização lenta, para quebra do coágulo por meio de agitação manual com um bastão de vidro. Em seguida, foi realizada a adição do preparado de uva na proporção de 20 g/100 mL (YP) ou adição do preparado na proporção de 20 g/100 mL e da farinha de uva na proporção de 2 g/100 mL (YPF), além de um tratamento sem adição de subprodutos da uva (controle) (YC), seguindo-se de homogeneização, envase em garrafas de polietileno e armazenagem refrigerada (5 ± 1 °C), até a realização das análises ao longo do período de armazenamento.

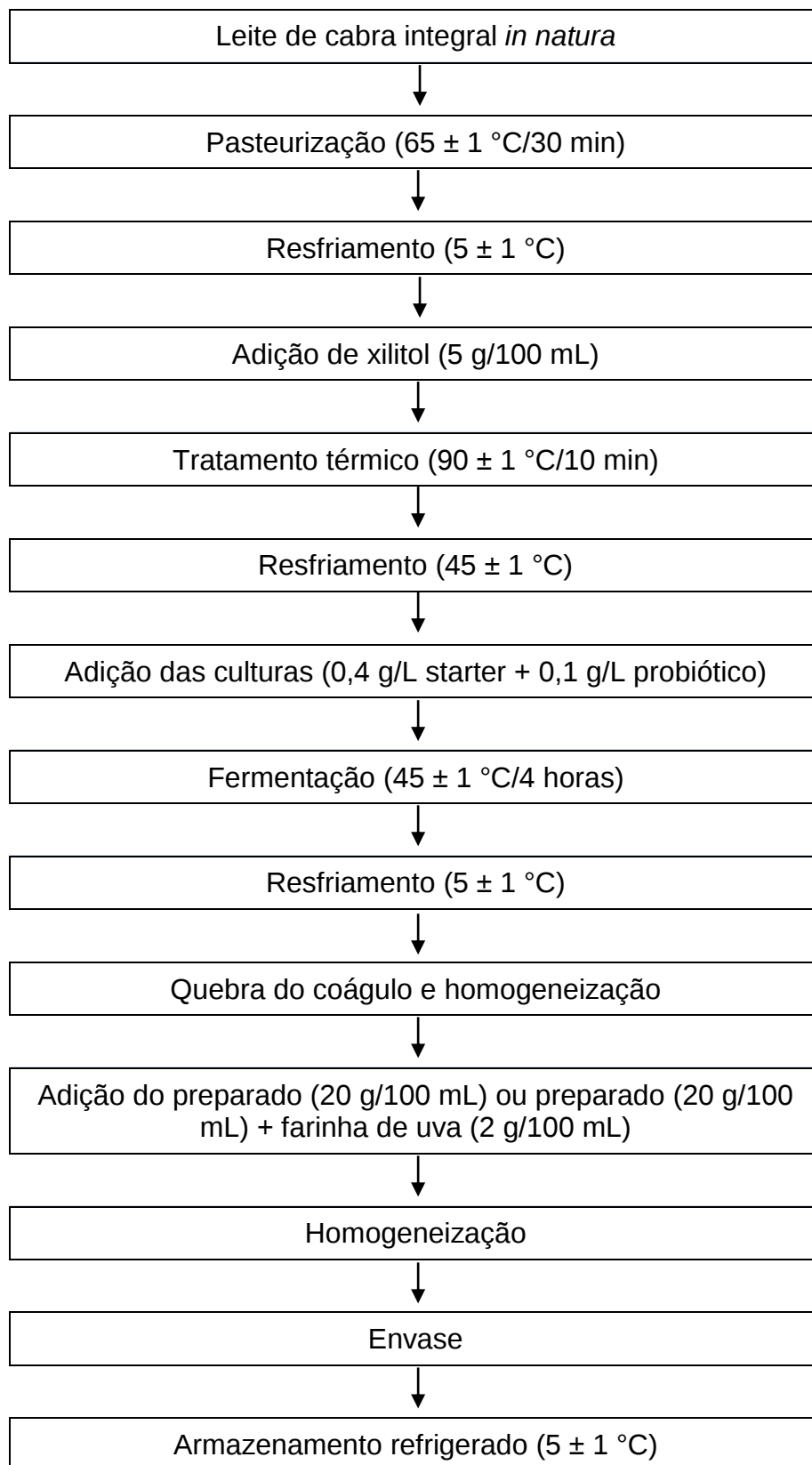
Na Figura 2 é ilustrado o fluxograma de elaboração do iogurte caprino adicionado ou não dos produtos de uva Isabel.

O impacto da adição do preparado e da farinha de uva Isabel nos iogurtes foi verificado por meio da influência na variação das características físico-químicas, perfil e bioacessibilidade dos compostos fenólicos, atividade antioxidante, padrão de qualidade microbiológica, viabilidade dos microrganismos do iogurte (starter e probiótico) e nas suas características sensoriais.

3.6.1 Avaliação físico-química dos iogurtes

As análises físico-químicas dos iogurtes foram realizadas segundo metodologia recomendada pela AOAC (2005), no tempo 14 dias. Foram feitas determinação do pH, acidez titulável, açúcares totais, proteínas, lipídeos, determinação do extrato seco total, resíduo mineral fixo e análise instrumental de cor (realizada pelo sistema CIELab, sendo L (luminosidade), a* (verde - vermelho) e b* (azul - amarelo), utilizando o colorímetro modelo CR 400 (Konica Minolta, Brasil)).

Figura 2 – Fluxograma de processamento dos iogurtes caprinos adicionados de *L. acidophilus* LA-05 e adicionados ou não dos produtos de uva.



Os açúcares e ácidos orgânicos foram extraídos e analisados nos tempos 1, 14 e 28 dias, conforme metodologia descrita no item 4.4.1.

3.6.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas compreenderam a avaliação dos padrões de qualidade após 14 dias de armazenamento refrigerado, por meio da contagem padrão de bactérias aeróbias mesófilas e contagem de bolores e leveduras, expressos em UFC/mL, além da determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes e pesquisa de *Salmonella* spp. (APHA, 2001). Para a avaliação da viabilidade das bactérias lácticas nos tempos 1, 14 e 28 dias, as amostras foram diluídas seriadamente e inoculadas em ágar LC, ágar C-MRS e ágar M-17 para a contagem do *Lactobacillus acidophilus* LA-05, do *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e do *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, respectivamente. As placas para contagem do *L. bulgaricus* e do *L. acidophilus* foram incubadas por 3 dias a 37 °C em condições anaeróbicas utilizando o Sistema de Anaerobiose Anaerogen (Oxoid, Thermo Fisher, EUA) e o *S. thermophilus* por 2 dias a 37 °C em condições aeróbias, como descrito por Ranadheera et al. (2012) e Lima et al. (2009). As contagens foram expressas como log de unidades formadoras de colônia por mL do iogurte (log UFC/mL).

3.6.3 Avaliação dos compostos bioativos e atividade antioxidante

3.6.3.1 Extração dos compostos fenólicos

As amostras de iogurte (5 g) foram pesadas em tubo de polietileno e adicionados 5 mL de metanol/água (85:15, v/v), então a extração foi realizada conforme metodologia descrita no item 4.4.2.1.

3.6.3.2 Perfil de compostos fenólicos do iogurte

A determinação do perfil de compostos fenólicos foi realizada nos tempos 1, 14 e 28 dias de armazenamento de acordo com a metodologia descrita no item 4.4.2.2.

3.6.3.3 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada nos tempos 1, 14 e 28 dias, de acordo com as metodologias descritas para DPPH e FRAP no item 4.4.2.4.

3.6.4 Bioacessibilidade dos compostos fenólicos do iogurte

A biacessibilidade dos compostos fenólicos após digestão foi estudada após 28 dias de armazenamento, utilizando um modelo *in vitro* que simula algumas condições gastrointestinais físicas (temperatura e movimentos por agitação), químicas (pH e sais biliares) e biológicas (enzimas gástricas e pancreáticas). Foram utilizadas alíquotas dos iogurtes (5 g) no procedimento de digestão *in vitro*, que simula três fases sequenciais (oral, gástrica e do intestino delgado), que foi realizado de forma similar ao descrito no item 4.5.1. A bioacessibilidade foi determinada conforme descrito no item 4.4.3.

3.6.5 Avaliação sensorial do iogurte

Os iogurtes adicionados de *L. acidophilus* LA-05 e adicionados ou não dos produtos de uva Isabel foram submetidos ao teste Just About Right (JAR), Testes de Aceitação, Intenção de compra e Preferência relativa entre as amostras aos 14 dias de armazenamento, após aprovação por Comitê de ética em Pesquisa (Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Paraíba; Protocolo 111.523/2012) (ANEXO B).

Os testes foram realizados por um painel não treinado constituído por 102 provadores (selecionados com base nos hábitos e interesse em consumir iogurte), que analisaram as formulações apresentadas em cabines individuais, com iluminação branca. No JAR as amostras foram avaliadas quanto à intensidade da cor, aroma caprino, aroma de uva, consistência, textura, doçura, acidez e sabor de uva, empregando escala do ideal de 5 pontos (5= extremamente mais roxo/forte/viscoso/granuloso/doce/ácido do que eu gosto; 3= ideal; 1= muito menos roxo/forte/viscoso/granuloso/doce/ácido do que eu gosto).

Para o teste de aceitação sensorial, os provadores foram instruídos a analisar a aparência, cor, consistência, aroma, sabor e aceitação global, utilizando escala hedônica estruturada de nove pontos (1= desgostei extremamente; 5= nem gostei/nem desgostei; 9= gostei extremamente). Para a avaliação da intenção de compra foi empregada uma escala hedônica estruturada de cinco pontos (1=

certamente não compraria; 3= talvez comprasse/talvez não comprasse; 5= certamente compraria). A preferência relativa entre as amostras de iogurtes foi conduzida segundo delineamento de ordenação em blocos casualizados, empregando-se teste de ordenação-preferência, com notas que variaram de 1 (amostra mais preferida) a 3 (amostra menos preferida). Em todos os testes, as amostras foram homogeneizadas e servidas simultaneamente e de forma aleatória, a aproximadamente 10 °C, em copos plásticos de 50 mL, contendo aproximadamente 20 mL de cada amostra, codificados com números de três dígitos, com ordem de apresentação dos iogurtes aleatória.

3.7 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E PROTEÍNAS E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL EM IOGURTES CAPRINOS ELABORADOS COM PRODUTOS DE UVA

As amostras de iogurte (YC, YP e YPF) foram liofilizadas (liofilizador modelo L-101, LIOTOP, São Carlos, Brasil), para obter um pó que foi armazenado a 5 ± 1 °C em sacos de polietileno com cobertura metálica até a execução das análises.

3.7.1 Extração dos compostos fenólicos livres e ligados

Os fenólicos livres (FLV) foram extraídos de iogurtes liofilizados (1 g) de acordo com Pintać et al. (2018) com adaptações. As amostras foram misturadas com 5 mL de metanol/água (85:15, v/v), submetidas à extração em banho ultrassônico (Laborette 17, Alemanha) a 40 kHz (25 °C, 30 min) e centrifugadas (4000 rpm, 15 min). A extração foi realizada duas vezes, os sobrenadantes foram combinados e, subsequentemente, evaporados usando um rotaevaporador a vácuo a 30 °C. O extrato obtido foi dissolvido em metanol até um volume final de 2 mL. O resíduo da extração foi hidrolisado com 20 mL de NaOH 4 M com agitação em um agitador orbital (250 rpm, 4 h) para obter o extrato de fenólicos ligados (FLG), de acordo com Xie et al. (2015). O hidrolisado resultante foi acidificado a pH 1,5-2,0 pela adição gradual de HCl 6M. Após centrifugação (8000 rpm, 30 min), o sobrenadante foi extraído cinco vezes com 30 mL de acetato de etila. O acetato de etila foi seco utilizando Na₂SO₄

anidro e evaporado utilizando um rotaevaporador a vácuo a 30 °C. O resíduo resultante foi subsequentemente dissolvido em metanol até um volume final de 10 mL. Os extratos de FLV e FLG obtidos foram armazenados em ultra-freezer a -20 °C até o uso.

3.7.2 Simulação *in vitro* do trato gastrointestinal

Os iogurtes (YC, YP e YPF) foram submetidos à digestão gastrointestinal *in vitro* de acordo com Madureira et al. (2011) com adaptações, simulando a digestão oral, gástrica e intestinal. O sistema simulou pH, temperatura, movimentos peristálticos e sucos enzimáticos específicos em cada estágio. Após a passagem por cada etapa da digestão, alíquotas de 4 mL foram coletadas para posterior análise da atividade antioxidante e perfil de proteínas e peptídeos por Cromatografia líquida de proteína rápida (FPLC). Foram feitas duas réplicas do sistema gastrointestinal (GI) e duas réplicas em branco, que foram preparadas com os mesmos reagentes, mas sem enzimas, e foram submetidas às mesmas condições das amostras, bem como duas réplicas de controle com H₂O em vez de amostras, com o objetivo de determinar a influência das enzimas nas análises posteriores.

Inicialmente, 1 g dos iogurtes liofilizados (YC, YP ou YPF) foram diluídos em 10 mL de água destilada e tiveram o pH ajustado para 6 usando NaHCO₃ 1 M. Para a fase da boca, a saliva artificial foi simulada com α -amilase 100 U/mL (Sigma) diluída em 1 mM de CaCl₂ e adicionada a uma taxa de 0,6 mL/min de digestão, com incubação adicional (200 rpm, 37 ° C, 2 min). Para a etapa do estômago o pH foi ajustado para 2,0 usando HCl 1 M. O suco gástrico foi simulado com 25 mg/ml de solução de pepsina (Sigma), preparado em HCl 0,1 M e adicionado na proporção de 0,05 mL/mL da amostra, seguido de incubação (130 rpm, 37 °C, 120 min). Na fase do intestino o pH foi ajustado para 6,0 usando NaHCO₃ 1 M. O suco intestinal foi simulado com 2 g/L de pancreatina (Sigma) e 12 g/L de sais biliares (Sigma) diluídos em NaHCO₃ 1 M e a mistura foi adicionada a uma taxa de 0,25 mL/mL da amostra, com incubação adicional (45 rpm, 37 °C, 120 min).

O mesmo procedimento foi aplicado ao controle de enzimas e misturas sem enzimas, onde o volume de enzima foi substituído pelo reagente utilizado na dissolução. O CaCl₂ a 1 mM foi usado para substituir α -amilase, HCl 0,1 N para pepsina e NaHCO₃ a 0,1 M para pancreatina e sais biliares.

3.7.3 Determinação da atividade antioxidante

Os extratos de FLV e FLG foram avaliados com o objetivo de determinar a atividade antioxidante total. Também foram analisadas amostras de cada etapa da digestão gastrointestinal, os brancos, preparados sem enzimas, bem como o controle das enzimas.

3.7.3.1 Ensaio da captura do radical livre ABTS

A análise ABTS foi realizada de acordo com Gião et al. (2007). Resumidamente, o radical livre ABTS foi gerado através de uma reação de oxidação química com persulfato de potássio. Depois disso, a concentração de ABTS foi ajustada com água para uma absorvância inicial de $0,700 \pm 0,02$ a 734 nm. A amostra (20 μ L) foi deixada reagir no escuro à temperatura ambiente (23 °C) com 180 μ L de solução ABTS diluída. A mistura foi incubada (30 °C, 5 min) e a absorvância a 734 nm foi medida com o leitor de placas multidetecção (Synergy, EUA). Um branco foi realizado com metanol. Todas as misturas de reações foram preparadas em duplicata e três execuções independentes foram realizadas para cada amostra. Os resultados foram expressos em μ mol de equivalente Trolox por grama de amostra (μ mol TE/g).

3.7.3.2 Ensaio da habilidade de sequestrar radicais livres DPPH

A análise DPPH foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Alexandre et al. (2019), com algumas modificações. Resumidamente, uma solução estoque (600 μ M) foi preparada dissolvendo 24 mg de DPPH em 100 mL de metanol e armazenada a -20 °C no escuro. A solução de trabalho (60 μ M) foi preparada pela mistura de 10 mL da solução estoque com 90 mL de metanol, para que a absorvância atingisse $0,700 \pm 0,02$ a 515 nm. A amostra (25 μ L) foi deixada reagir com a solução de trabalho DPPH (175 μ L) no escuro à temperatura ambiente (23 °C) por 30 min em uma microplaca de 96 poços. Em seguida, a absorvância foi medida a 515 nm usando um leitor de placas multidetecção (Synergy, EUA) e um branco foi realizado com metanol. Todas as misturas de reação foram preparadas em duplicata e três execuções independentes foram realizadas para cada amostra. Os resultados foram expressos em μ mol de equivalente Trolox por grama de amostra (μ mol TEAC/g).

3.7.3.3 Ensaio de capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC)

O ensaio ORAC foi realizado em microplaca preta de 96 poços (Nunc, Dinamarca), seguindo o método descrito por Dávalos et al. (2004) com algumas modificações. A reação foi realizada em um tampão fosfato 75 mM (pH 7,4), com uma mistura de reação final de 200 μ L. A amostra (20 μ L) e a solução de fluoresceína (FL) (120 μ L; 70 nM, concentração final no poço) foram colocadas no poço da microplaca. Um ensaio em branco (FL + AAPH (dicloridrato de 2,2'-Azobis (2-amidinopropano))), usando tampão fosfato em vez da solução antioxidante (Trolox) e oito soluções de calibração (1-8 μ M de Trolox, concentração final no poço) como antioxidante também foram realizados em cada ensaio. A mistura foi pré-incubada (37 °C, 10 min). A solução AAPH (60 μ L; 12 mM, concentração final no poço) foi adicionada rapidamente usando uma pipeta multicanal. A microplaca foi imediatamente colocada no leitor e a fluorescência registrada em intervalos de 1 min por 80 min. Foi utilizado um leitor de placas multidetecção (Synergy, EUA) com excitação a 485 nm e filtros de emissão a 520 nm. O equipamento foi controlado pelo software Gen5 Biotek versão 3.04. As soluções AAPH e Trolox foram preparadas diariamente e a fluoresceína foi diluída a partir de uma solução estoque (1,17 mM) em tampão fosfato 75 mM (pH 7,4). Todas as misturas de reação foram preparadas em duplicata e três execuções independentes foram realizadas para cada amostra. Os valores finais de ORAC-FL foram expressos como μ mol de equivalentes de Trolox/g de amostra (μ mol TE/g).

3.7.4 Perfil de peso molecular das amostras por FPLC

O perfil de peso molecular das proteínas e peptídeos presentes nas amostras durante o sistema simulado gastrointestinal (GI) foi determinado de acordo com Voss et al. (2019) por uma cromatografia de filtração em gel usando o sistema AKLC Pure 25 de FPLC (cromatografia líquida de proteína rápida). O sistema foi acoplado com duas colunas de filtração em gel: Superdex 200 aumento 10/300 GL e peptídeo Superdex, 10/300 GL. A fase móvel foi tampão fosfato 25 mM (pH 7,0), cloreto de sódio 150 mM e azeto de sódio 0,2 g/L. O fluxo de eluente foi de 0,5 mL/min e foi monitorado por absorbância a 280 nm. As colunas foram equilibradas com os kits de calibração Gel Filtration HMW/LMW (GE Healthcare, EUA).

3.8 POTENCIAL PREBIÓTICO DOS IOGURTES

3.8.1 Protocolo de digestão gastrointestinal *in vitro*

Os iogurtes (YC, YP e YPF) foram submetidos a uma digestão gastrointestinal *in vitro* de acordo com o item 4.7.2. As amostras resultantes foram utilizadas na avaliação do potencial efeito prebiótico por substituição da fonte de carbono e fermentação da microbiota intestinal.

3.8.2 Avaliação do potencial prebiótico por substituição da fonte de carbono

3.8.2.1 Preparo do microrganismo e inóculo

Para avaliar o efeito prebiótico das amostras digeridas dos iogurtes foram utilizadas diferentes espécies de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus* LA-05® (Chr. Hansen, Dinamarca), *Lacticaseibacillus casei* LAFTI® L-26 (DSM Food Specialties, Australia) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12® (Chr.Hansen, Dinamarca) na forma de inóculos isolados (ANDRADE et al., 2020). Os inóculos foram preparados de acordo com o item 4.5.2.

3.8.2.2 Meio de cultivo das bactérias

Para avaliar o efeito das amostras de iogurte no crescimento das cepas probióticas foi utilizado um caldo MRS com fonte de carbono modificada como meio base (DUARTE et al., 2017). O meio foi preparado como descrito no item 4.5.3.

3.8.2.3 Avaliação da viabilidade bacteriana

A viabilidade celular das cepas probióticas foi verificada pela determinação da contagem de células viáveis ao longo do tempo, de acordo com o item 4.5.4.

3.8.2.4 Avaliação da atividade metabólica das bactérias

A atividade metabólica das cepas probióticas foi avaliada nos meios de cultura, em diferentes intervalos de tempo, após a incubação pela determinação dos valores de pH e do conteúdo de ácidos orgânicos (0, 6, 12, 18, 24 e 48 h). Os valores de pH foram mensurados utilizando potenciômetro digital modelo Q400AS (Quimis, Brasil).

As amostras foram filtradas através de filtro de seringa 0,22 µm e analisadas quanto à produção de ácidos orgânicos (ácidos láctico, cítrico, succínico e acético) utilizando um sistema HPLC composto por uma bomba LaChrom L-7100 (Merck-Hitachi, Alemanha), uma coluna de troca iônica Aminex HPX-87H (300 × 7,8 mm) (Bio-Rad, EUA) mantida a 60 °C (forno da coluna L-7350 LaChrom; Merck-Hitachi, Japão) e dois detectores montados em série: um detector de índice de refração (L-7490 RI Detector LaChrom; Merck-Hitachi, Japão) e um detector de UV-Vis (Detector UV L-7400 LaChrom; Merck-Hitachi, Japão). A fase móvel utilizada foi ácido sulfúrico 13 mM e fluxo de 0,8 mL/min. O tempo de execução foi de 35 min, o volume de injeção foi de 50 µL e cada amostra foi injetada em duplicata. Os dados foram coletados e analisados usando o software D-7000 Interface LaChrom (Merck-Hitachi, Japão) e o software HPLC System Manager (Merck-Hitachi, Japão). A detecção dos compostos foi realizada comparando seus tempos de retenção com os padrões externos.

3.8.3 Fermentação da microbiota intestinal

3.8.3.1 Coleta e preparação do inóculo fecal

As fezes humanas foram coletadas em frascos estéreis e mantidas sob condições anaeróbicas até nova utilização (máximo de 2 h após coleta). As amostras foram obtidas frescas, de doadores humanos saudáveis, com a permissão de não ter nenhum transtorno metabólico e gastrointestinal conhecido. Além disso, os doadores confirmaram não estar tomando quaisquer suplementos probióticos ou prebióticos, bem como qualquer forma de antibióticos por 3 meses. O inóculo fecal foi então preparado, diluindo a matéria fecal individual em Solução Salina reduzida fisiologicamente (RPS) constituída por 0,5 g/L de cisteína-HCl (Merck, Alemanha) e 8,5 g/L de NaCl (LabChem, EUA) com um valor final de pH de 6,8, em uma estação de trabalho anaeróbica (Don Whitley Scientific, Reino Unido) (10% CO₂, 5% H₂ e 85% N₂).

3.8.3.2 Condições de fermentação no inóculo fecal

O meio basal foi preparado conforme descrito anteriormente por Madureira et al. (2016), constituído por 5,0 g/L de caldo de soja tripticase sem dextrose (Fluka Analytical, EUA), 5,0 g/L de bactopectona (Becton Dickinson Biosciences, EUA), 0,5

g/L de cisteína-HCl (Merck, Alemanha), 1,0% (v/v) de solução salina A [100,0 g/L NH_4Cl (Merck, Alemanha), 10,0 g/L $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Alemanha), 10,0 g/L de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Carlo Erba, França)], 1,0% (v/v) de solução mineral (ATCC, Virgínia, EUA), 0,2% (v/v) de solução salina B [200,0 g/L de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Merck, Alemanha)] e 0,2% (v/v) de uma solução de resazurina a 0,5 g/L (Sigma-Aldrich Chemistry, EUA) preparada em água destilada e ajustado o pH a 6,8.

Depois disso, o meio basal foi dispensado em frascos de vidro hermético anaeróbicos, selados com tampas de alumínio antes da esterilização em autoclave. Em seguida, o meio foi distribuído em vários tubos, sendo apenas o meio o controle negativo (C-), este incorporado com iogurtes precipitados a partir de simulação TGI in vitro (YC, YP, YPF) como as amostras, ou incorporado de frutooligossacarídeos (FOS) (Nutripar, Portugal) como controle positivo (C+). Foi utilizada uma concentração final de 20 g/L e adicionados do inóculo fecal a uma concentração de 20 g/L, e incubados a 37 °C por 24 h sem agitação. As amostras foram coletadas nos tempos 0, 8, 12 e 24 h de fermentação e os valores de pH foram medidos usando um pHmetro MicropH 2002 (Crison, Espanha), equipado com um eletrodo de pH 52-07 (Crison, Barcelona, Espanha). Todos os experimentos foram realizados dentro de uma cabine de anaerobiose (Don Whitley Scientific, Reino Unido) com 5% de H_2 , 10% de CO_2 e 85% de N_2 . Todas as experiências foram realizadas com cumprimento das diretrizes institucionais. As alíquotas coletadas foram centrifugadas, com os sobrenadantes resultantes utilizados para avaliar a produção de ácidos orgânicos e o pellet utilizado para extrair o DNA genômico.

3.8.3.3 Análise da população bacteriana

O DNA genômico foi extraído e purificado das amostras de fezes usando kit NZY Tissue gDNA Isolation (Nzytech, Portugal) com algumas modificações, conforme descrito anteriormente por Madureira et al. (2016). Resumidamente, as amostras foram centrifugadas (8000 rpm, 10 min) para separar o sobrenadante do pellet. Cerca de 170–200 mg de pellet foram coletados do controle e das amostras para todos os tempos. Depois os pellets foram homogeneizados em tampão TE (10 mM de Tris/HCl; 1 mM de EDTA, pH 8,0) e centrifugou-se novamente (4000 rpm, 15 min). O sobrenadante era descartado e o pellet ressuspenso em 350 μL de tampão NT1. Após

uma etapa de incubação (95 °C, 10 min), as amostras foram centrifugadas (8000 rpm, 10 min, 4 °C). Em seguida, foram adicionados 25 µL de proteinase K a 200 µL do sobrenadante para incubação (70 °C, 10 min). As etapas restantes seguiram as instruções do fabricante. A pureza e quantificação do DNA foram avaliados com um espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific, EUA).

Uma Reação em Cadeia Quantitativa da Polimerase em Tempo Real (PCR em tempo real) para análise microbiana nas fezes foi realizado utilizando um sistema de detecção CFX96 Touch™ (Bio-Rad Laboratories, EUA). As misturas de reações de PCR (total de 10 µL) continham 5 µL de 2x iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, EUA), 2 µL de água ultrapura, 1 µL de DNA da amostra (equilibrado para 20 ng/µL) e 1 µL dos primers direto e reverso (100 nM) marcando o gene 16S rRNA. Os primers (STABvida, Lisbon, Portugal) juntamente com a temperatura específica de anelamento estão listados na Tabela 1. As condições utilizadas foram: início do aquecimento a 95 ° C por 10 minutos, seguidos de 45 ciclos de desnaturação (95 °C por 10 s), anelamento e extensão (72 °C por 15 s). As curvas padrão foram construídas usando diluições seriadas (de 2 log a 6 log de número de cópias do gene 16S rRNA/µL) do DNA genômico bacteriano (DSMZ, Alemanha) usado como padrão (Tabela 1). Como controle da qualidade da PCR, foi realizada uma análise da curva de fusão para cada PCR utilizando temperaturas variando de 60 a 97 °C. Os dados foram processados e analisados no software LightCycler (Roche Applied Science, Alemanha). Os dados são apresentados como os valores médios de análises de PCR quadruplicados.

As diferenças relativas à porcentagem de controle negativo (apenas fermentação fecal) foram calculadas usando a seguinte equação (Eq. (4)):

$$\text{Diferença relativa para o controle (\%)} = ((\text{SMC} - \text{CMC}) / \text{CMC}) \times 100$$

onde SMC é o número médio de cópias da amostra em um determinado momento (8, 12 ou 24 h) e CMC é o número médio de cópias da amostra controle ao mesmo tempo que o SMC. Valores percentuais positivos significam a ocorrência de um aumento no número de cópias em relação à amostra controle naquele momento (CAMPOS et al., 2020).

Tabela 1 – Sequência de primers dos grupos bacterianos e condições da PCR em tempo real. Adaptado de Campos et al. (2020).

Grupo marcado	Sequência do Primer	DNA genômico padrão	Tamanho do produto da PCR (bp)/ Temperatura de anelamento (°C)
<i>Clostridium leptum</i>	F GCA CAA GCA GTG GAG T R CTT CCT CCG TTT TGT CAA	<i>Clostridium leptum</i> ATCC 29065 (DSMZ 753)	239 bp/ 45°C
<i>Lactobacillus</i> spp.	F GAG GCA GCA GTA GGG AAT CTT C R GGC CAG TTA CTA CCT CTA TCC TTC TTC	<i>Lactobacillus gasseri</i> ATCC 33323 (DSMZ 20243)	126 bp/ 45°C
<i>Bifidobacterium</i> spp.	F CGC GTC YGG TGT GAA AG R CCC CAC ATC CAG CAT CCA	<i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>Infantis</i> ATCC 15697 (DSMZ 20088)	244 bp/50°C

F: forward primer; R: reverse primer; bp: pares de bases; PCR: reação da cadeia polimerase.

3.8.3.4 Avaliação da atividade metabólica da microbiota intestinal

O consumo de açúcares (glicose, frutose e lactose) e a produção de ácidos orgânicos (ácidos láctico, succínico, acético, propiônico e butírico) foram avaliados nas amostras durante a fermentação fecal. As análises foram realizadas como descrito no tópico 4.8.2.4.

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram realizados em triplicata com replicatas independentes. Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão das três replicatas. Os resultados foram avaliados pelo teste t de Student ou por análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste Tukey utilizando $p < 0,05$. O teste de ordenação-preferência foi analisado utilizando o teste Friedman e as diferenças significativas entre amostras avaliadas pela tabela de Newell e MacFarlane. Também foi realizada análise de componentes principais (ACP) e a correlação, que foi calculada pelo coeficiente de correlação de Pearson (r). O software utilizado foi o XLstat versão 2018.5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão produzidos durante o desenvolvimento da tese de doutorado estão expostos nos tópicos abaixo e em formato de artigos científicos.

4.1 ANÁLISE DO IMPACTO DO PROCESSAMENTO SOBRE A COMPOSIÇÃO E A ESTABILIDADE DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NO PREPARADO E NA FARINHA DE UVA ISABEL

4.1.1 Composição nutricional e perfil de açúcares e ácidos orgânicos

Os valores para a composição nutricional e o perfil de açúcares e ácidos orgânicos do preparado e da farinha de uva Isabel estão apresentados na Tabela 2. O preparado de uva adicionado de sacarose (PS) apresentou o maior conteúdo de sólidos totais ($p < 0,05$), provavelmente devido a maior concentração de lipídeos, resíduo mineral fixo, glicose e frutose, sendo esse maior conteúdo de monossacarídeos proveniente da adição de sacarose nessa formulação. Com relação aos açúcares (Tabela 2), em especial glicose e frutose, o PS apresentou maiores teores ($p < 0,05$) em relação ao PAX, como já era esperado, visto que a sacarose é um dissacarídeo que quando hidrolisado dá origem a moléculas de glicose e frutose. Já para os ácidos orgânicos, os valores encontrados nos preparados foram semelhantes ($p \geq 0,05$) para a maioria deles, com exceção do ácido málico, que demonstrou menores teores ($p < 0,05$) para o PAX em relação ao PS.

A farinha resultante do resíduo da formulação com agave e xilitol (FAX) apresentou maiores valores ($p < 0,05$) de fibra solúvel, insolúvel e total. Contudo, tanto a FS como a FAX apresentaram um alto teor de fibra alimentar (~ 20 – 22 g/100 g), apesar desse valor ter sido menor que o relatado por Bender et al. (2016) que encontraram teores em torno de 58 g/100 g na farinha de casca de uva, o que pode ser justificado pela diferença de variedade da uva, já que em seu estudo utilizaram a cultivar Marselan (*Vitis vinífera*), além de diferenças empregadas em seu processamento, como as condições da secagem. Todavia, a farinha elaborada em nosso estudo pode ser considerado com alto conteúdo de fibras, tendo em vista que o valor de referência para tal é de 6 g/100 g de amostra (CODEX, 2010).

As farinhas apresentaram um teor considerável de lipídeos em sua composição (8,18 – 8,48 g/100 g), semelhante ao descrito por Sousa et al. (2014) (8,16 g/100 g) ao analisarem a farinha do bagaço de uva, os quais também observaram que a maior porcentagem desses lipídeos são oriundos das sementes da uva. O valor de pH encontrado para as farinhas foi de 3,99 para FAX e 3,94 para FS, semelhante ao encontrado por Bender et al. (2016), que obteve pH 3,51 ao estudar a obtenção e caracterização de farinha de casca de uva. Valores baixos de pH e umidade, como os encontrados nas farinhas de uva elaboradas no presente trabalho, favorecem a estabilidade do alimento e aumentam sua vida de prateleira, pois diminuem o risco de alterações enzimáticas, não enzimáticas e microbiológicas, proporcionando sua maior aplicabilidade como ingrediente em indústria de alimentos (SELANI et al., 2014).

Tabela 2 – Composição nutricional e perfil de açúcares e ácidos orgânicos do preparado e da farinha de uva Isabel.

Parâmetros	Preparado		Farinha	
	PS	PAX	FS	FAX
Sólidos totais (g/100 g)	26,07 ±0,05 ^A	23,50 ±0,03 ^B	92,19 ±0,05 ^b	93,62 ±0,05 ^a
Proteína (g/100 g)	0,49 ±0,04 ^A	0,49 ±0,04 ^A	4,80 ±0,08 ^a	4,20 ±0,08 ^b
Lipídios (g/100 g)	2,86 ±0,01 ^A	1,66 ±0,01 ^B	8,48 ±0,10 ^a	8,18 ±0,10 ^a
Resíduo mineral fixo (g/100 g)	0,37 ±0,01 ^A	0,25 ±0,01 ^B	1,93 ±0,01 ^a	1,66 ±0,01 ^b
Fibra solúvel (g/100 g)	-	-	3,45 ±0,30 ^b	3,95 ±0,30 ^a
Fibra insolúvel (g/100 g)	-	-	16,69 ±0,01 ^b	18,01 ±0,01 ^a
Fibra total (g/100 g)	0,62 ±0,01 ^A	0,63 ±0,01 ^A	20,14 ±0,31 ^b	21,95 ±0,31 ^a
Açúcares (g/100 g)				
Maltose	0,01 ±0,01	<LOD	0,03 ±0,01 ^a	0,04 ±0,01 ^a
Glicose	11,29 ±0,48 ^A	4,16 ±0,08 ^B	25,41 ±0,26 ^a	13,91 ±0,26 ^b

Frutose	11,11 ±0,46 ^A	6,67 ±0,13 ^B	24,27 ±0,37 ^a	21,17 ±0,37 ^b
Total	22,41 ±0,94 ^A	10,83 ±0,22 ^B	49,71 ±0,63 ^a	35,12 ±0,63 ^b
Ácidos orgânicos (g/100 g)				
Ácido cítrico	0,01 ±0,01 ^A	0,01 ±0,01 ^A	0,13 ±0,01 ^a	0,01 ±0,01 ^b
Ácido tartárico	0,50 ±0,02 ^A	0,43 ±0,01 ^A	0,98 ±0,01 ^a	0,88 ±0,01 ^b
Ácido málico	0,28 ±0,01 ^A	0,21 ±0,01 ^B	0,59 ±0,01 ^b	0,66 ±0,01 ^a
Ácido succínico	0,03 ±0,01	<LOD	<LOD	<LOD
Ácido fórmico	0,02 ±0,01	<LOD	0,04 ±0,01 ^a	0,03 ±0,01 ^a
Total	0,85±0,03 ^A	0,64 ±0,01 ^B	1,74 ±0,01 ^a	1,59 ±0,01 ^b

^{A-B} Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de t de Student ($p < 0,05$) entre as formulações do preparado.

^{a-b} Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$) entre as formulações da farinha.

PS: preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX: preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol. <LOD: abaixo do limite de detecção.

Para as farinhas (Tabela 2), a formulação FS apresentou teor de frutose superior ($p \geq 0,05$) a FAX, possivelmente devido a frutose oriunda da quebra da sacarose. A presença de agave e xilitol utilizados para adoçar o PAX e, consequentemente, o resíduo usado para obtenção da FAX agrega benefícios a esses produtos, pois além de apresentarem poder adoçante semelhante ou até superior à sacarose, possuem teor reduzido em calorias (SANTIAGO-GARCÍA, LOPEZ, 2014; VIANA et al., 2015), e ainda são reconhecidos por possuírem propriedades benéficas à saúde, entre os quais, redução da glicemia em diabéticos (UR-REHMAN et al., 2013) e modulação da microbiota intestinal (GURLER et al., 2017; SANTIAGO-GARCÍA, LOPEZ, 2014).

O ácido tartárico foi o ácido orgânico que apresentou maior teor em todos os produtos neste estudo, representando de 55% até 67% do teor total de ácidos quantificados. Entre as farinhas, o ácido cítrico teve maior teor ($p < 0,05$) na FS, enquanto o málico foi superior ($p < 0,05$) na FAX. Os ácidos tartárico e málico juntos representam mais de 80% do total de ácidos orgânicos em uvas e derivados (COELHO et al., 2018). Segundo Boas et al. (2014) esses ácidos são os predominantes no suco de uva, enquanto o cítrico e o succínico apresentam menores

teores, o mesmo pode ser observado para os preparados e as farinhas elaborados a partir da uva Isabel neste estudo (Tabela 2).

4.1.2 Cor instrumental

Com relação aos parâmetros de cor (Tabela 3) os valores de a^* e b^* não diferiram ($p \geq 0,05$) entre os preparados, já o valor de L^* , relacionado à luminosidade, foi menor ($p < 0,05$) para o PS, demonstrando, portanto, uma coloração levemente mais escura para essa formulação. A coloração dos produtos da uva, a exemplo de sucos, polpas e o preparado, pode apresentar alterações relacionadas com a influência de técnicas de processamento (GURAK et al., 2010). Para as farinhas, os valores de a^* e L^* não diferiram ($p \geq 0,05$), já o valor de b^* foi menor ($p < 0,05$) para FS, demonstrando, portanto, uma coloração levemente mais azulada. Os valores baixos encontrados para L^* indicam um produto de coloração mais escura e pouco brilho, os valores positivos do a^* indicam cor vermelha, a qual pode estar relacionada com a estabilização do pigmento relacionado ao cátion flavilium por meio de formação de compostos derivados da antocianina (LAGO-VANZELA et al., 2014).

Tabela 3 – Valores médios de cor do preparado e da farinha de uva cv. Isabel.

Cor	Preparado		Farinha	
	PS	PAX	FS	FAX
L^*	14,39 $\pm$ 0,18 ^B	15,77 $\pm$ 0,11 ^A	8,25 $\pm$ 0,24 ^a	8,30 $\pm$ 0,24 ^a
a^*	3,54 $\pm$ 0,16 ^A	4,78 $\pm$ 0,42 ^A	13,11 $\pm$ 0,41 ^a	11,71 $\pm$ 0,41 ^a
b^*	0,81 $\pm$ 0,01 ^A	1,11 $\pm$ 0,11 ^A	5,60 $\pm$ 0,08 ^b	6,40 $\pm$ 0,08 ^a

^{A-B} Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$) entre as formulações do preparado.

^{a-b} Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$) entre as formulações da farinha.

L^* : luminosidade; a^* : verde – vermelho; b^* : azul – amarelo. PS: preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX: preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol.

4.1.3 Perfil de fenólicos

No perfil de fenólicos da uva e seus produtos foram identificados compostos pertencentes ao grupos dos flavonoides, ácidos fenólicos e antocianinas (Tabela 4).

Dentre os compostos quantificados, destaca-se o teor de catequinas (2,37 – 28,11 mg/100 g), a qual é reconhecida por seu elevado poder antioxidante (BURIN et al., 2014), o ácido caftárico (2,31 – 69,43 mg/100 g) e a malvidina 3-glicosídeo (8,65 – 16,47 mg/100 g). Esta última foi a antocianina majoritária em todos os produtos elaborados neste estudo e, segundo Rockenbach et al. (2011), é a encontrada em maiores quantidades nas uvas tintas, uma vez que é reconhecida como a de maior importância para a coloração azul.

Grande parte dos polifenóis da uva é representada pelas antocianinas, que estão concentradas principalmente na casca do fruto e são responsáveis pela coloração roxa da uva, visto estarem entre os mais importantes pigmentos solúveis (SILVA et al., 2016). Entre os flavanois, os compostos encontrados em maior quantidade para todas as amostras foram as catequinas e as procianidinas B2, os quais, segundo Lima et al. (2015), estão diretamente associados com elevada atividade antioxidante.

A catequina, a epigallocatequina galato e a antocianina malvidina 3-glicosídeo reduziram ($p < 0,05$) sua concentração da uva para o preparado, já os ácidos caftárico e clorogênico e as antocianinas delphinidina 3-glicosídeo, pelargonidina 3-glicosídeo e peonidina 3-glicosídeo tiveram os teores aumentados ($p < 0,05$) no preparado em relação à uva *in natura*. Segundo Lima et al. (2015), o processo de maceração utilizado na elaboração de sucos de uva é de grande importância, pois, nesta fase ocorre a incorporação dos compostos fenólicos e aromáticos da uva no suco, enquanto que no aquecimento do mosto ocorre a ruptura da parede celular do fruto, facilitando a liberação das antocianinas. Esses processos são semelhantes aos empregados na elaboração do preparado de uva nesse estudo, o que pode explicar o aumento ($p < 0,05$) da maioria das antocianinas no PS e PAX em relação à uva *in natura* (Tabela 4).

Tabela 4 – Perfil de compostos fenólicos do preparado e da farinha de uva cv. Isabel.

Composto	Preparado			Farinha	
	Uva	PS	PAX	FS	FAX
Flavanois (mg/100 g)					
Catequina	2,91 ±0,04 ^{Ac}	2,64 ±0,04 ^B	2,37 ±0,04 ^C	21,09 ±0,34 ^b	28,11 ±0,46 ^a
Epigallocatequina galato	0,34 ±0,00 ^{Ac}	0,22 ±0,01 ^B	0,12 ±0,01 ^C	3,70 ±0,06 ^b	5,54 ±0,09 ^a
Procianidina B1	0,35 ±0,01 ^{Bc}	0,44 ±0,01 ^A	0,37 ±0,01 ^B	4,53 ±0,07 ^b	6,37 ±0,10 ^a
Procianidina B2	0,78 ±0,01 ^{Bc}	0,97 ±0,02 ^A	0,81 ±0,01 ^B	7,88 ±0,12 ^b	14,51 ±0,24 ^a
Procianidina A2	0,49 ±0,01 ^B	0,87 ±0,01 ^A	<LOD	<LOD	<LOD
Flavonois (mg/100 g)					
Quercitina 3-glicosídeo	0,46 ±0,01 ^{Bc}	0,59 ±0,01 ^A	0,56 ±0,01 ^A	1,18 ±0,02 ^b	1,30 ±0,02 ^a
Rutina	0,15 ±0,01 ^{Ac}	0,11 ±0,01 ^B	0,10 ±0,01 ^B	0,64 ±0,01 ^b	0,84 ±0,01 ^a
Kaempferol glicosídeo	0,11 ±0,01 ^{Bc}	0,13 ±0,01 ^A	0,13 ±0,01 ^A	0,29 ±0,01 ^b	0,39 ±0,01 ^a
Ácidos fenólicos (mg/100 g)					
Gálico	<LOD	<LOD	<LOD	1,81 ±0,03	<LOD
Cafeico	0,08 ±0,01 ^{Ac}	0,09 ±0,01 ^A	0,08 ±0,01 ^A	0,13 ±0,01 ^b	0,15 ±0,01 ^a
Caftarico	2,31 ±0,04 ^{Cc}	38,43 ±0,63 ^A	35,86 ±0,58 ^B	63,65 ±1,04 ^b	69,43 ±1,13 ^a
Trans-Resveratrol	0,11 ±0,01 ^{Ac}	0,10 ±0,01 ^A	0,10 ±0,01 ^A	0,24 ±0,01 ^b	0,26 ±0,01 ^a
Clorogênico	0,10 ±0,01 ^C	2,35 ±0,04 ^A	2,13 ±0,03 ^B	<LOD	<LOD

Flavanonas (mg/100 g)

Naringenina	ND	0,21 ±0,01 ^B	0,24 ±0,01 ^A	0,36 ±0,01 ^a	0,25 ±0,01 ^b
Hesperidina	<LOD	0,31 ±0,01 ^A	0,28 ±0,01 ^B	<LOD	<LOD

Antocianinas (mg/100 g)

Delfinidina 3-glicosídeo	0,19 ±0,01 ^{Cc}	0,92 ±0,02 ^A	0,86 ±0,01 ^B	0,51 ±0,01 ^a	0,44 ±0,01 ^b
Malvidina 3-glicosídeo	16,47 ±0,27 ^{Aa}	15,06 ±0,24 ^B	14,08 ±0,23 ^C	10,68 ±0,17 ^b	8,65 ±0,14 ^c
Pelargonidina 3-glicosídeo	1,33 ±0,02 ^{Cb}	2,45 ±0,04 ^A	2,31 ±0,04 ^B	1,72 ±0,03 ^a	<LOD
Peonidina 3-glicosídeo	2,10 ±0,03 ^{Ca}	2,49 ±0,04 ^A	2,31 ±0,04 ^B	1,85 ±0,03 ^b	<LOD

^{A-C} Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05) entre a uva e os preparados.

^{a-c} Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05) entre a uva e as farinhas.

PS: preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX: preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol. <LOD: abaixo do limite de detecção.

Já nas farinhas os valores da maioria dos compostos encontrados no perfil de fenólicos (Tabela 4) apresentaram teores superiores ($p < 0,05$) aos encontrados na uva, provavelmente devido ao efeito da concentração dos compostos pelo processo de secagem, com exceção da procianidina A2 e do ácido clorogênico que não foram detectados nas farinhas. No perfil de antocianinas, a malvidina 3-glicosídeo teve o valor reduzido ($p < 0,05$) da uva para as farinhas, enquanto as pelargonidina 3-glicosídeo e a peonidina 3-glicosídeo não foram detectadas na FAX, possivelmente por serem compostos mais sensíveis à degradação, podendo ser afetadas por fatores como calor, oxigênio, luz, pH e enzimas (PINTO et al., 2017). Diferente do observado nos preparados, uma vez que as condições mais brandas de temperatura e tempo utilizadas no tratamento térmico empregado no seu processamento podem ter favorecido a preservação desses compostos (SILVA et al., 2017a).

4.1.4 Antocianinas monoméricas e atividade antioxidante

Observando a Tabela 5, percebe-se que os teores de AM foram superiores ($p < 0,05$) tanto nos preparados quanto nas farinhas, quando comparados à uva, o que pode indicar um efeito benéfico do processamento na concentração desses compostos. As condições de temperatura moderada por curto período de tempo utilizadas no tratamento térmico empregado no processamento dos preparados (92,5 °C/3 min) são descritos por favorecerem a preservação desses compostos, uma vez que facilitam sua migração da casca para o mosto, além de inativarem as enzimas responsáveis pela sua degradação (SILVA et al., 2017a). Assim como, a concentração dos compostos pelo processo de secagem utilizado para obtenção das farinhas, provavelmente, teve maior influência que a possível degradação ocorrida nesse mesmo processo.

Com base nos dados apresentados na Tabela 5, observa-se que na maioria das amostras os valores de atividade antioxidante mais elevados foram obtidos pelo método ORAC. Essas diferenças nos resultados entre os métodos devem-se, provavelmente, aos diferentes mecanismos envolvidos em cada um deles (SILVA et al., 2016). Quando comparados com a uva, tanto os preparados quanto as farinhas apresentaram maiores ($p < 0,05$) atividades antioxidantes, corroborando com os resultados encontrados para as antocianinas, como citado acima.

As farinhas também se destacaram em relação aos preparados apresentando atividade antioxidante em média 4 vezes maior quando avaliada pelo método ORAC e até em média 12 vezes maior pelo FRAP. Evidenciando seu elevado potencial antioxidante, bem como, a possibilidade da sua utilização como fonte alternativa de fitoquímicos (HAAS et al., 2018). Segundo Albuquerque et al. (2017) a atividade antioxidante está relacionada positivamente com altos teores de compostos fenólicos. Contudo, a composição do perfil desses compostos também exerce grande influência sobre essa atividade (BURIN et al., 2014).

Os compostos que apresentaram maior contribuição para as atividades antioxidantes dos produtos de uva foram a catequina, epigallocatequina galato, procianidinas B1 e B2, quercetina 3-glicosídeo, rutina, kaempferol 3-glicosídeo, os ácidos caféicos e cafetáico, e o trans-resveratrol, com o r variando de 0,91 a 0,99 (Fig. 3). Ao estudar os resíduos do processamento de uva Haas et al. (2018) observaram grandes concentrações de catequinas e uma alta correlação dessas com a atividade antioxidante, sendo esses compostos reconhecidos por seu efeito contra radicais livres e sua atividade quelante.

A análise de componentes principais (ACP) permitiu correlacionar os produtos da uva com a atividade antioxidante e os compostos fenólicos (Fig. 3). Os componentes principais explicaram 96,77% da variação dos dados, sendo 86,53% explicados pelo F1 e 10,24% pelo F2. A malvidina 3-glicosídeo, delphinidina 3-glicosídeo, catequina, epigallocatequina galato, procianidinas B1 e B2, rutina, quercetina 3-glicosídeo, kaempferol glicosídeo, ácido caféico e cafetáico, trans-resveratrol, DPPH, FRAP e ORAC apresentaram forte correlação com o F1, com r variando de 0,90 a 0,99. Enquanto a naringenina e ácido gálico estão negativamente correlacionados com o F2, o qual apresentou forte associação com a FS pelo seu maior teor desses compostos. Os preparados apresentam uma forte correlação com o F1 devido suas maiores concentrações de antocianinas, já as farinhas, por sua vez, apresentam forte associação com as atividades antioxidantes, corroborando com os dados apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Antocianinas monoméricas (AM) e atividade antioxidante da uva cv. Isabel, do preparado e da farinha.

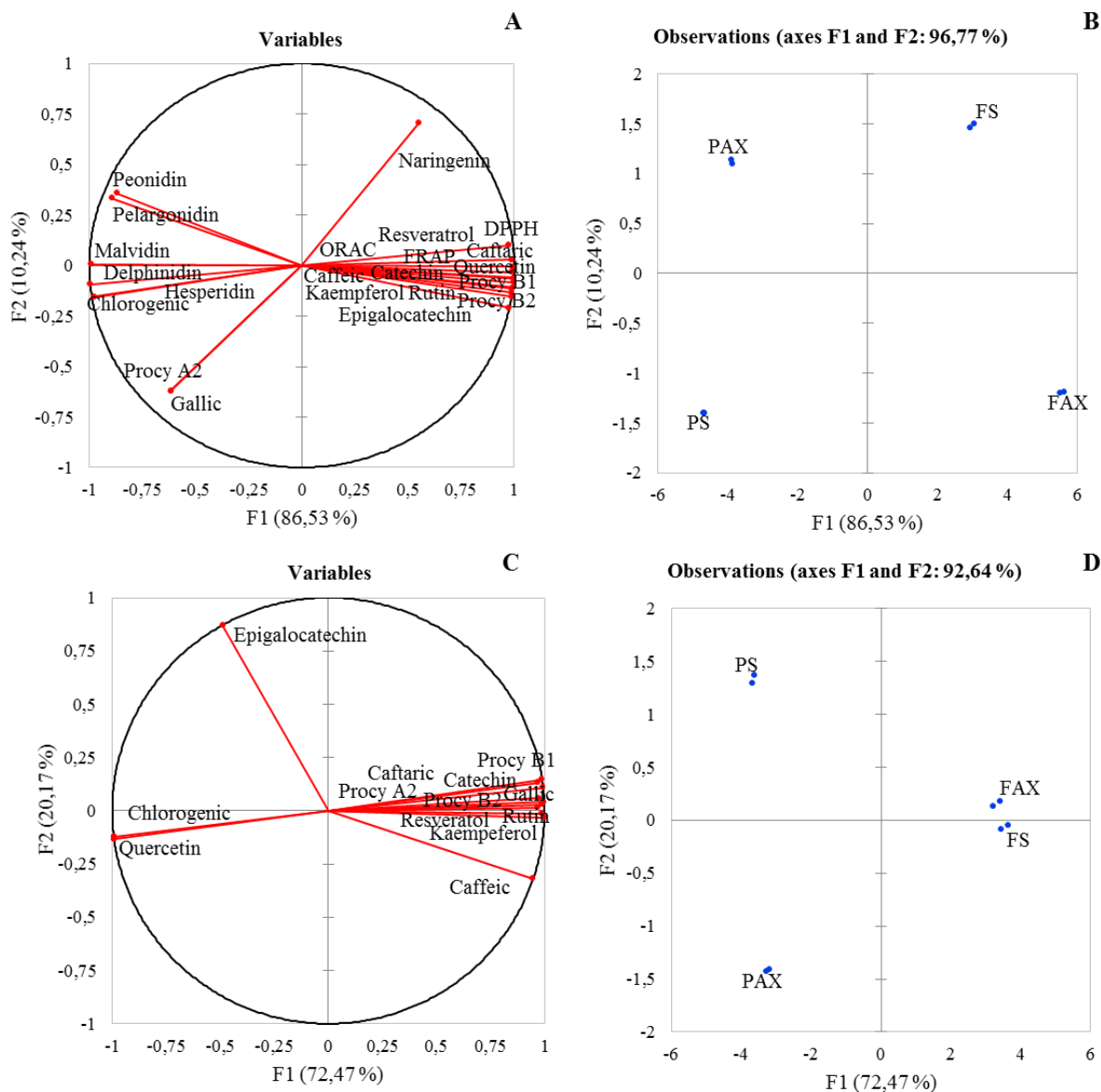
Parâmetros	Preparado					Farinha			
	Uva	PS	Var. (%)	PAX	Var. (%)	FS	Var. (%)	FAX	Var. (%)
Antocianinas monoméricas (AM)	23,45 ±0,61 ^{Bc}	33,12 ±0,26 ^A	41,24	33,71 ±0,88 ^A	43,75	35,63 ±1,04 ^a	51,95	31,81 ±0,75 ^b	35,65
Atividade antioxidante									
DPPH	212,30 ±2,07 ^{Cc}	488,59 ±6,08 ^A	130,14	455,12 ±1,08 ^B	114,37	1954,40 ±0,62 ^a	820,57	1945,78 ±2,98 ^b	816,51
FRAP	541,30 ±2,89 ^{Bc}	957,65 ±12,48 ^A	121,63	593,38 ±1,05 ^B	37,32	7552,95 ±43,12 ^b	1647,97	12128,63 ±191,30 ^a	2706,91
ORAC	1099,25 ±42,11 ^{Cc}	1798,12 ±9,20 ^A	63,58	1507,34 ±53,48 ^B	37,12	6457,80 ±212,26 ^b	487,47	8598,33 ±120,08 ^a	682,20

^{A-C} Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre a uva e os preparados.

^{a-c} Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre a uva e as farinhas.

PS: preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX: preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol. AM: resultados expressos em mg de malvidina 3-glicosídeo/100 g. Atividade antioxidante - resultados expressos em μM de TEAC/100 g; TEAC: atividade antioxidante equivalente ao trolox.

Figura 3 – Análise de Componentes Principais (ACP) dos compostos fenólicos e atividade antioxidante antes da simulação da digestão (A) e dos compostos fenólicos após simulação da digestão (C) dos preparados e farinhas de uva Isabel. Distribuição dos preparados e farinhas de uva Isabel de acordo com a ACP (B, D).



PS: preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX: preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX: farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol.

4.1.5 Bioacessibilidade dos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos apresentam uma reconhecida atividade antioxidante, contudo, é importante avaliar também sua bioacessibilidade, uma vez que ela irá

influenciar nessa atividade. A etapa de digestão poderá afetar a bioacessibilidade desses compostos em relação a diversos fatores, entre os quais destaca-se a matriz alimentar, que irá influenciar na estabilidade dos compostos, assim como na porção que será absorvida ou seguirá para o cólon (GOMES et al., 2019).

As flavononas naringenina e hesperidina e as antocianinas delphinidina 3-glicosídeo, malvidina 3-glicosídeo, pelargonidina 3-glicosídeo e peonidina 3-glicosídeo não foram detectadas (dados não mostrados) na análise com HPLC em nenhuma das amostras após o processo de digestão simulada, o que indica a instabilidade desses compostos em relação às condições às quais foram submetidos. Esses compostos não resistiram ao processo de digestão simulada, possivelmente, por terem oxidado, devido às condições de pH e às enzimas presentes no processo de digestão (PINTO et al., 2017).

Contudo, não foi um resultado comum para todas amostras analisadas, houve variação de um produto para outro, como pode ser visto na Tabela 6, evidenciando a influência da matriz alimentar na proteção dos compostos durante a passagem pelo trato gastrointestinal. Essa relação com a matriz representa um dos fatores que mais interfere na bioacessibilidade dos compostos fenólicos. Por um lado, pode dificultar sua liberação e originar formas indisponíveis através de modificações químicas. Mas, por outro, essa interação pode ter um efeito protetivo, prevenindo a degradação dos compostos (RIBAS-AGUSTÍ et al., 2017). Em adição, variáveis do processo de digestão como a ruptura por ação mecânica, o pH e as enzimas do trato gastrointestinal também podem facilitar sua liberação (DANTAS et al., 2019).

Similarmente ao que foi observado nesse estudo, Dantas et al. (2019) ao estudarem a bioacessibilidade em polpas de frutas vermelhas constatou que o grupo dos ácidos fenólicos e dos flavonoides apresentou maior bioacessibilidade que as antocianinas, sendo observada uma redução significativa dos teores de antocianinas após a simulação da digestão, uma vez que as polpas de amora, jabuticaba e açaí não apresentaram antocianinas bioacessíveis após a digestão simulada no trato gastrointestinal.

Gálico	0,41 $\pm 0,01^{Cb}$	0,48 $\pm 0,01^A$	0,45 $\pm 0,01^B$	0,73 $\pm 0,01^a$	0,76 $\pm 0,01^a$	40,97	48,3	44,54	40,22	75,5
Cafeico	<LOD	<LOD	0,04 $\pm 0,00^A$	0,10 $\pm 0,00^a$	0,10 $\pm 0,00^a$	-	-	51,68	78,86	63,69
Caftárico	0,03 $\pm 0,00^{Cc}$	1,17 $\pm 0,02^A$	1,07 $\pm 0,02^B$	1,89 $\pm 0,03^b$	2,13 $\pm 0,03^a$	1,41	3,04	3,00	2,97	3,07
Clorogênico	0,03 $\pm 0,00^{Ba}$	0,01 $\pm 0,00^C$	0,05 $\pm 0,00^A$	<LOD	<LOD	30,26	1,77	2,18	-	-
Trans-Resveratrol	<LOD	0,04 $\pm 0,00^A$	0,02 $\pm 0,00^B$	0,05 $\pm 0,00^a$	0,04 $\pm 0,00^b$	<LOD	13,78	16,33	22,04	17,13

^{A-C} Médias com letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre a uva e os preparados.

^{a-c} Médias com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) entre a uva e as farinhas.

PS – preparado de uva Isabel adicionado de sacarose; PAX – preparado de uva Isabel adicionado de agave e xilitol; FS – farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com sacarose; FAX – farinha de uva Isabel proveniente do resíduo com agave e xilitol. **<LOD**: abaixo do limite de detecção.

As antocianinas estão entre os compostos mais sensíveis ao processo de digestão simulada, ocorrendo uma grande degradação durante a etapa intestinal. A forma química em que ela pode ser encontrada irá variar de acordo com o pH da solução. O pH ácido do estômago, geralmente, favorece sua estabilidade, porém o aumento desse pH no intestino pode originar a forma chalcona incolor, que é mais sensível, o que pode justificar a degradação desse composto na digestão (PINTO et al., 2017).

A variação dos dados foi explicada em 91,90% pelos componentes principais, sendo 72,21% pelo PC1 e 19,69% pelo PC2 (Fig. 3). A correlação mais forte com o PC1 foi da epigallocatequina galato, procianidinas B1 e B2 e quercetina 3-glicosídeo, enquanto a rutina teve a maior correlação com o PC2. Em relação aos produtos, o PS está fortemente associado com o PC1 devido seus maiores teores de epigallocatequina galato.

De modo geral, a catequina foi o composto com mais elevada bioacessibilidade (~ 22 – 168%), sendo os preparados os que apresentaram maior bioacessibilidade dos compostos em relação à uva e às farinhas, com essas últimas apresentando maiores valores apenas para o ácido cafeico (~ 78 e 63% na FS e FAX, respectivamente) e o trans-resveratrol (22 e 17% na FS e FAX, respectivamente). As enzimas digestivas e intestinais presentes no processo de digestão são reconhecidas por facilitarem a liberação dos compostos fenólicos ligados à matriz alimentar, o que pode justificar o aumento da bioacessibilidade das catequinas devido à hidrólise parcial das proantocianidinas causada pelo pH intestinal. Assim como o rearranjo de alguns compostos é, possivelmente, responsável por esse aumento em certos ácidos fenólicos (MOSELE et al., 2016; DUTRA et al., 2017), fato que pode estar relacionado com o aumento do ácido caféico nas farinhas.

O ácido gálico também apresentou valores consideráveis de bioacessibilidade, variando de 40 a 75% entre os produtos. Esse ácido pode ser encontrado em grande quantidade em uvas, vinho e outras diferentes frutas. Ele tem se destacado por ser um potente antioxidante, exibindo também funções anti-inflamatórias e anti-cancerígenas (PUNITHAVATHI et al., 2018). Devido aos inúmeros benefícios que podem proporcionar à saúde, alimentos ricos em compostos fenólicos com elevada bioacessibilidade podem atrair a atenção dos consumidores para implementar sua alimentação com a adição desses produtos, além de possibilitar a agregação de valor

aos mesmos, os quais poderão fornecer maior lucro para os produtores (CILLA et al., 2018).

4.2 POTENCIAL AÇÃO PREBIÓTICA DO PREPARADO E DA FARINHA DE UVA ISABEL

A contagem de células viáveis do *L. acidophilus*, *L. casei* e *B. lactis* e o pH dos meios com os preparados de uva Isabel, glicose e FOS são apresentadas na Figura 4. Os probióticos analisados atingiram as maiores contagens de células viáveis entre 12 e 24 horas de cultivo, a qual coincidiu com os menores valores de pH observados, corroborando com a relação entre a atividade metabólica das bactérias e a redução do pH. Essa redução está relacionada com a produção de ácidos orgânicos em decorrência da metabolização de carboidratos (MASSA et al., 2020). Todas as cepas analisadas exibiram altas contagens (em torno de 9 log UFC/mL) após 24 horas de cultivo nos meios com o PS 10 e 20 g/L, PAX 10 e 20 g/L, glicose ou FOS. Apesar de ter ocorrido um decréscimo após 48h de cultivo, as contagens não ficaram inferiores a 8 log UFC/mL. Essa diminuição nas contagens pode ter sido resultante do decréscimo na disponibilidade de nutrientes na fase estacionária (~ 24 horas), visto que eles são utilizados gradativamente durante o período de cultivo.

Quando inoculados com *L. acidophilus*, os meios contendo 20 g/L de PAX (8,8 – 9 log UFC/mL) exibiram contagens similares ($p \geq 0,05$) ao FOS (8,9 – 9,1 log UFC/mL) entre 12 e 24h. Já quando os meios foram inoculados com o *L. casei*, tanto os com PAX a 10 ou 20 g/L (8,7 – 9 log UFC/mL) como PS a 10 ou 20 g/L (8,8 – 9 log UFC/mL), assim como com glicose (9 – 9,1 log UFC/mL) tiveram contagens semelhantes ($p \geq 0,05$) ao FOS (9 – 9,1 log UFC/mL) entre 18 e 24 horas de cultivo. Ao serem inoculados com *B. lactis*, até 24 horas as contagens de células viáveis nos meios com PS (8,9 – 9,1 log UFC/mL) ou PAX (8,7 – 8,9 log UFC/mL) 10 e 20 g/L foram similares ou até superiores ao com FOS (8,9 log UFC/mL).

Figura 4 – Contagens de células viáveis (A,B,C) e valores de pH (D,E,F) durante o cultivo de *L. acidophilus* LA-05, *L. casei* L-26 e *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 em caldos com 20 g/L de glicose (*), 20 g/L de frutooligossacarídeos (●), 20 g/L de preparado de uva Isabel: controle (PS2%; ×), com agave e xilitol (PAX2%; ■), ou 10 g/L de preparado de uva Isabel: controle (PS1%; ▲), com agave e xilitol (PAX1%; ◆) durante 48 h de incubação a 37 °C.

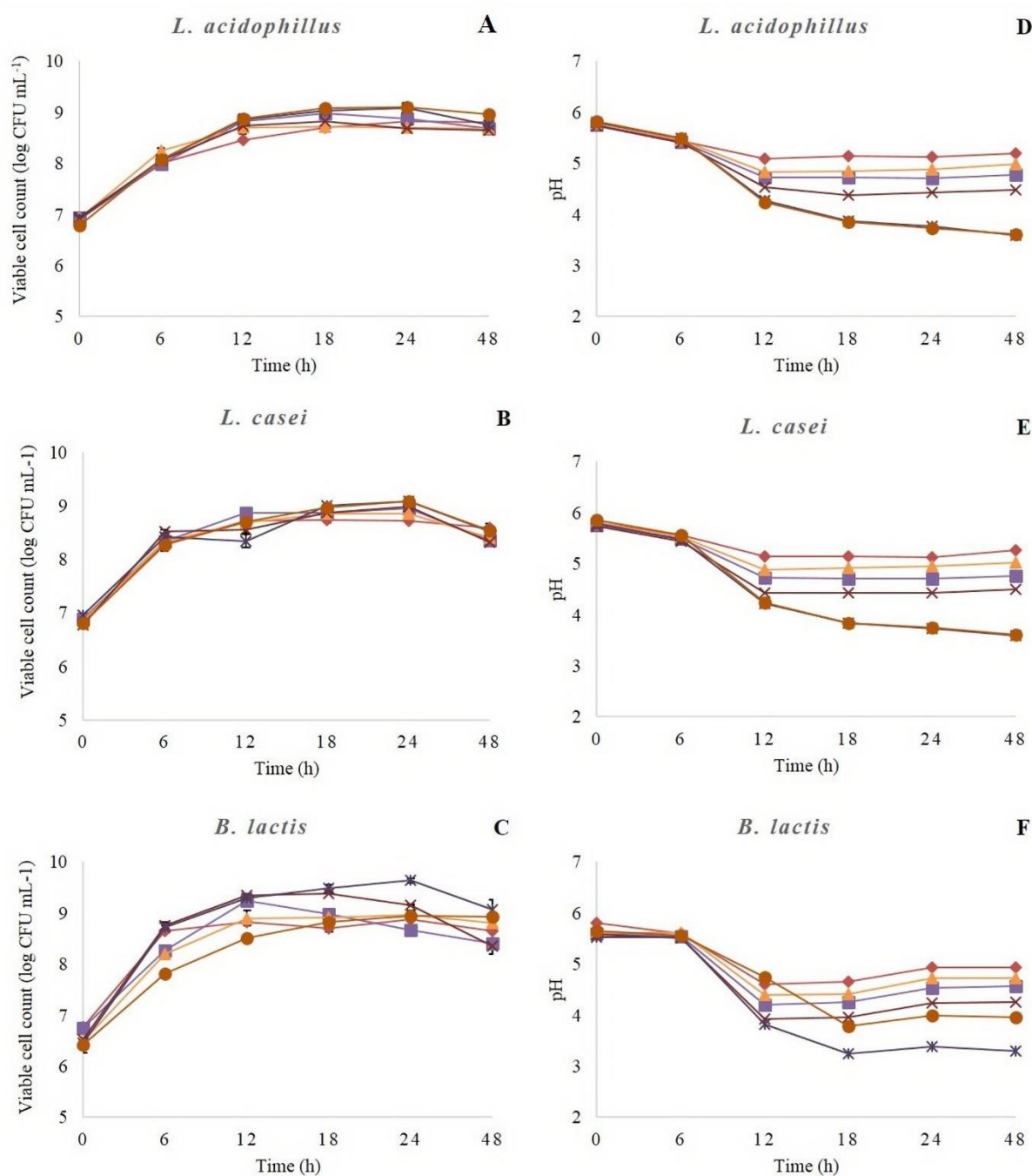
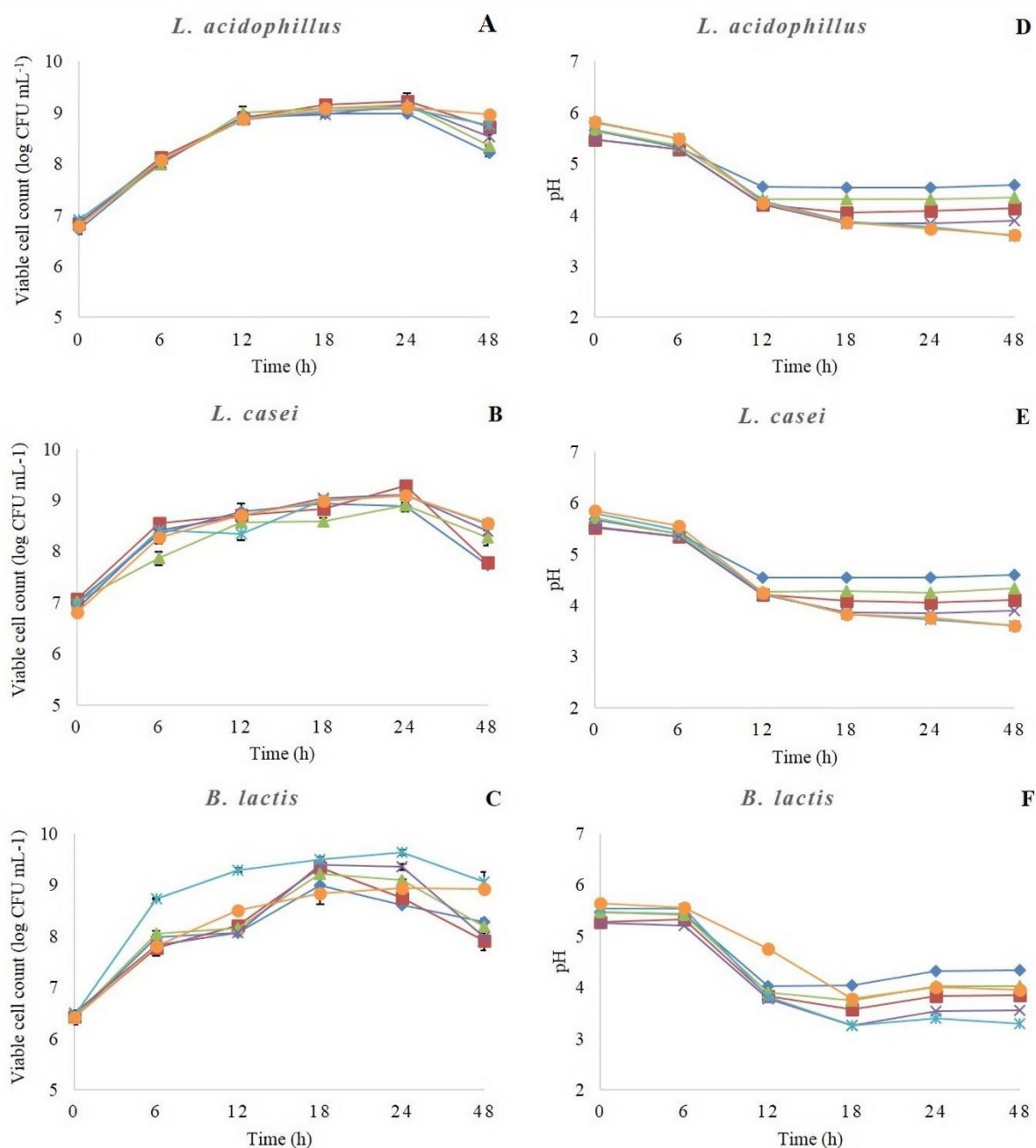


Figura 5 – Contagens de células viáveis (A,B,C) e valores de pH (D,E,F) durante o cultivo de *L. acidophilus* LA-05, *L. casei* L-26 e *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 em caldos com 20 g/L de glicose (—*), 20 g/L de frutooligossacarídeos (—○), 20 g/L de farinha de uva Isabel: controle (FS2%; —×), com agave e xilitol (FAX2%; —■), ou 10 g/L de farinha de uva Isabel: controle (FS1%; —▲), com agave e xilitol (FAX1%; —◆) durante 48 h de incubação a 37 °C.



Na Figura 5 são apresentados os resultados da contagem de células viáveis do *L. acidophilus*, *L. casei* e *B. lactis* e o pH dos meios com as farinhas de uva Isabel, glicose e FOS. Foi observado o mesmo comportamento exibido com os preparados quando utilizou-se as farinhas (FS 10 e 20 g/L ou FAX 10 e 20 g/L), com maiores contagens das cepas analisadas entre 12 e 24 horas, assim como os menores valores de pH no mesmo período. Os probióticos exibiram contagens em torno de 9 log UFC/mL, permanecendo superiores a 8 log UFC/mL após 48 horas.

Ao serem inoculados com o *L. acidophilus* até 24 horas não houve diferença entre as contagens nos meios com as amostras de farinha (9 – 9,2 log UFC/mL) ou FOS (9,1 log UFC/mL) e, após 48 horas, as contagens permaneceram similares ($p \geq 0,05$) no meio com FAX 20 g/L (8,7 UFC/mL) ou FOS (8,9 log UFC/mL). No meio contendo FAX 20 g/L (7 – 9,3 log UFC/mL) o *L. casei* exibiu contagens semelhantes ao com FOS (6,8 – 9,1 log UFC/mL) até 24 horas após a inoculação. O *B. lactis* após 18 horas de inoculação teve maiores contagens nos meios com as farinhas (9 – 9,4 log UFC/mL) que no com FOS (8,8 log UFC/mL). No entanto, essa cepa parece ter preferência pela glicose como principal fonte de carbono, uma vez que suas maiores contagens foram nos meios com glicose.

4.3 IMPACTO DA INCORPORAÇÃO DE PRODUTOS DE UVA ISABEL NAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, MICROBIOLÓGICAS E SENSORIAIS DO IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO

4.3.1 Composição nutricional, propriedades físicas e perfil de açúcares e ácidos orgânicos

A composição nutricional dos iogurtes caprinos probióticos elaborados ou não com adição de produtos de uva apresentou os seguintes teores de proteína para o YC (3,11 $\pm$ 0,04), YP (2,66 $\pm$ 0,04) e YPF (2,84 $\pm$ 0,04), e gordura no YC (3,95 $\pm$ 0,05), YP (2,95 $\pm$ 0,25) e YPF (2,60 $\pm$ 0,10). Esses valores foram menores ($p < 0,05$) no YP e YPF em relação ao controle (YC), uma vez que a adição dos produtos da uva provoca a diluição desses componentes que são provenientes predominantemente da matriz láctea (SILVA et al., 2017a), devido à substituição desta por matriz vegetal, pobre em proteína e gordura. Em relação aos sólidos totais, as formulações do iogurte

acrescidas dos produtos de uva apresentaram maior conteúdo ($p < 0,05$), destacando-se o YPF ($17,95 \pm 0,01$), seguido do YP ($17,03 \pm 0,02$) em relação ao YC ($14,80 \pm 0,08$). Os valores de resíduo mineral fixo foram ($0,78 \pm 0,01$; $0,74 \pm 0,01$; $0,76 \pm 0,00$) para o YC, YP e YPF, respectivamente.

Os valores de pH do YC (4,52; 4,32; 4,14), YP (4,11; 3,91; 3,70) e YPF (4,13; 3,89; 3,69) avaliados nos tempos 1, 14 e 28, respectivamente, demonstram um possível efeito da adição dos produtos de uva nessa propriedade, uma vez que as formulações acrescidas desses produtos tiveram os menores resultados. Ao longo dos 28 dias também ocorreu decréscimo ($p < 0,05$) nesses valores para todos os iogurtes, possivelmente, devido à quebra da lactose pela atividade metabólica das bactérias durante a fermentação e armazenamento desse produto, levando à produção de ácido láctico e, conseqüentemente, à diminuição do pH (COSTA et al., 2016; NDABIKUNZE et al., 2017). A produção de outros ácidos orgânicos pelas bactérias, principalmente as probióticas, também está relacionada com a redução do pH (COSTA et al., 2015; OLSON, ARYANA, 2008).

Em relação à cor o YPF ($23,78 \pm 0,08$) teve os menores valores ($p < 0,05$) de L^* (luminosidade), indicando uma coloração roxa mais intensa, seguido pelo YP ($24,55 \pm 0,03$), também com valores baixos, enquanto no YC ($35,48 \pm 0,18$) esses valores foram maiores ($p < 0,05$), uma vez que ele não contém nenhum produto de uva. O valor de a^* (verde-vermelho) foi maior ($p < 0,05$) para o YP ($5,25 \pm 0,04$) e YPF ($5,35 \pm 0,01$) em comparação com o YC ($-0,86 \pm 0,02$), indicando a presença de tons avermelhados nos iogurtes adicionados dos produtos de uva. Os valores de b^* foram $1,40 \pm 0,04$, $-1,46 \pm 0,01$ e $-1,50 \pm 0,02$ para o YC, YP e YPF, respectivamente. Tseng e Zhao (2013) observaram que a luminosidade diminuiu com o aumento da quantidade de bagaço de uva adicionada em iogurtes, assim como, o aumento do valor de a^* e os menores valores de b^* levaram a uma maior tendência ao vermelho e ao azul, respectivamente. Essa coloração roxa intensa encontrada nos iogurtes com produtos de uva está relacionado com a concentração de antocianinas proveniente da casca da uva.

O YPF destacou-se também com relação ao maior ($p < 0,05$) teor de açúcares (Tabela 7), visto que ele foi adicionado tanto do preparado quanto da farinha de uva Isabel, seguido do YP que contém apenas o preparado e, por último, o iogurte controle

que não teve adição de outros ingredientes. Observou-se também um aumento ($p < 0,05$) da concentração dos açúcares ao longo dos 28 dias.

Os ácidos orgânicos quantificados nos iogurtes elaborados neste estudo foram o tartárico, cítrico, succínico e láctico. De modo geral, os valores médios dos ácidos foram maiores ($p < 0,05$) nos iogurtes acrescidos dos produtos de uva que no controle (Tabela 7), provavelmente, devido aos ácidos próprios da uva que foram agregados às formulações YP e YPF com a adição desses produtos. Os valores crescentes dos ácidos orgânicos no iogurte podem revelar a intensidade da fermentação da lactose por bactérias ácido lácticas (BORSATO-MOYSÉS et al., 2009), uma vez que a atividade metabólica dessas bactérias leva ao aumento da produção de ácido láctico, e da glicose e galactose, pela quebra da lactose (TSENG, ZHAO, 2013).

Tabela 7 – Perfil de açúcares e ácidos orgânicos do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.

Parâmetros (mg/100 g)	Dia	Formulação		
		YC	YP	YPF
Açúcares				
Maltose	1	0,53 ±0,05 ^{Bb}	0,92 ±0,04 ^{Aa}	0,86 ±0,02 ^{Ba}
	14	0,96 ±0,08 ^{Aa}	0,67 ±0,00 ^{Cb}	0,83 ±0,02 ^{Bab}
	28	1,02 ±0,12 ^{Aa}	0,80 ±0,00 ^{Ba}	0,94 ±0,00 ^{Aa}
Glicose	1	<LOD	0,09 ±0,03 ^{Bb}	0,27 ±0,00 ^{Ba}
	14	0,02 ±0,01 ^{Ac}	0,15 ±0,00 ^{Ab}	0,26 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,02 ±0,00 ^{Ac}	0,20 ±0,00 ^{Ab}	0,36 ±0,00 ^{Aa}
Frutose	1	<LOD	0,46 ±0,01 ^{Ab}	0,55 ±0,00 ^{Ba}
	14	0,12 ±0,02 ^{Ac}	0,31 ±0,00 ^{Cb}	0,52 ±0,02 ^{Ba}
	28	0,13 ±0,00 ^{Ac}	0,40 ±0,00 ^{Bb}	0,70 ±0,01 ^{Aa}
Total	1	0,53 ±0,05 ^{Bb}	1,48 ±0,06 ^{Aa}	1,67 ±0,02 ^{Ba}
	14	1,11 ±0,11 ^{Ab}	1,13 ±0,00 ^{Bb}	1,61 ±0,00 ^{Ca}
	28	1,17 ±0,12 ^{Ab}	1,40 ±0,00 ^{Ab}	2,00 ±0,01 ^{Aa}
Ácidos orgânicos				
Ácido cítrico	1	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,05 ±0,01 ^{Aa}	0,04 ±0,00 ^{Aa}
	14	0,05 ±0,01 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,03 ±0,01 ^{Ab}
	28	0,06 ±0,00 ^{Aa}	0,04 ±0,00 ^{Aa}	0,04 ±0,01 ^{Aa}
Ácido tartárico	1	<LOD	0,05 ±0,00 ^A	0,07 ±0,01 ^A
	14	<LOD	0,01 ±0,00 ^{Cb}	0,03 ±0,01 ^{Ba}
	28	<LOD	0,03 ±0,00 ^B	0,01 ±0,00 ^B
Ácido láctico	1	0,38 ±0,06 ^{Bb}	0,61 ±0,04 ^{Aa}	0,59 ±0,02 ^{Aa}
	14	0,83 ±0,07 ^{Aa}	0,52 ±0,00 ^{Bb}	0,57 ±0,06 ^{Ab}
	28	1,01 ±0,01 ^{Aa}	0,63 ±0,00 ^{Ac}	0,71 ±0,00 ^{Ab}

Ácido succínico	1	0,07 ±0,00 ^{Bb}	<LOD	0,11 ±0,01 ^{Aa}
	14	0,13 ±0,00 ^{Aa}	0,09 ±0,00 ^{Ab}	0,13 ±0,02 ^{Aa}
	28	0,12 ±0,01 ^{Aa}	0,09 ±0,01 ^{Ab}	<LOD
Total	1	0,47 ±0,06 ^{Bb}	0,77 ±0,05 ^{ABa}	0,86 ±0,02 ^{Aa}
	14	1,00 ±0,08 ^{Aa}	0,68 ±0,00 ^{Bb}	0,83 ±0,04 ^{Aab}
	28	1,20 ±0,00 ^{Aa}	0,86 ±0,01 ^{Ab}	0,89 ±0,01 ^{Ab}

^{A-C} Médias ± desvio padrão com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação ao período de armazenamento.

^{a-c} Médias ± desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel. <LOD: abaixo do limite de detecção.

4.3.2 Qualidade microbiológica

A qualidade microbiológica do iogurte foi satisfatória em todas as formulações durante os 28 dias de armazenamento refrigerado, assegurando sua segurança para o consumo humano. Os coliformes totais e termotolerantes e os fungos e leveduras estavam de acordo com os limites estabelecidos pela legislação em vigor, assim como a ausência de *Salmonella* spp. (dados não apresentados).

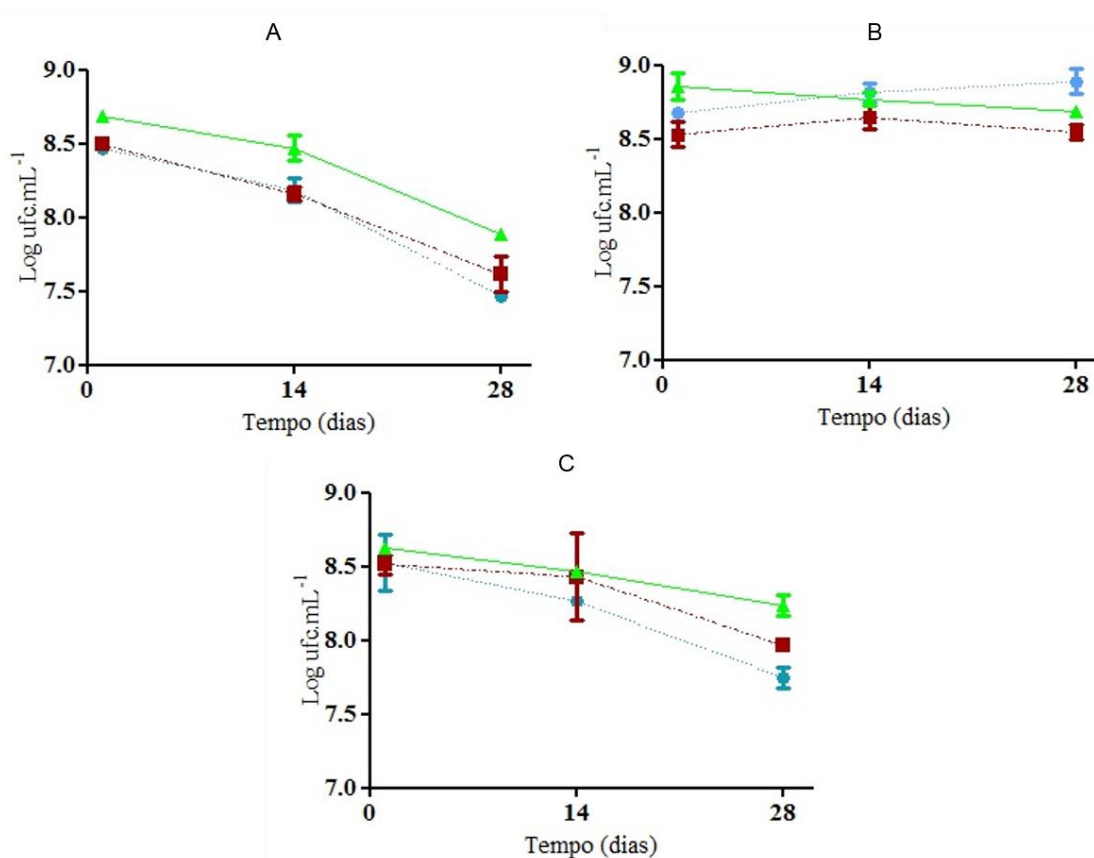
4.3.2.1 Viabilidade das bactérias ácido lácticas

As bactérias ácido lácticas podem continuar a crescer durante o armazenamento do iogurte, sendo o número de células viáveis no momento do seu consumo um importante fator no que diz respeito aos benefícios nutricionais à saúde atribuídos a esses produtos (SILVA et al., 2017b). O efeito da adição dos produtos de uva na sobrevivência das bactérias lácticas do iogurte foi determinado nos dias 1, 14 e 28 do armazenamento refrigerado. Os resultados da contagem de células viáveis das culturas starter do iogurte (*S. thermophilus* e *L. bulgaricus*) e do probiótico (*L. acidophilus*) estão apresentados na Figura 6.

De modo geral, a contagem de células viáveis do *S. thermophilus* permaneceu constante em todas as formulações ao longo dos 28 dias, mantendo valores entre 8,55 e 8,89 log UFC/mL. Já o *L. bulgaricus* diminuiu em todas as formulações durante o período, contudo, ainda mantendo valores entre 7,47 e 7,89 log UFC/mL ao fim dos 28 dias. Os resultados dessas contagens são satisfatórios, uma vez que para ser considerado iogurte a contagem de células viáveis de bactérias lácticas deve ser maior que 7 log UFC/g (CODEX ALIMENTARIUS, 2010; COSTA et al., 2015).

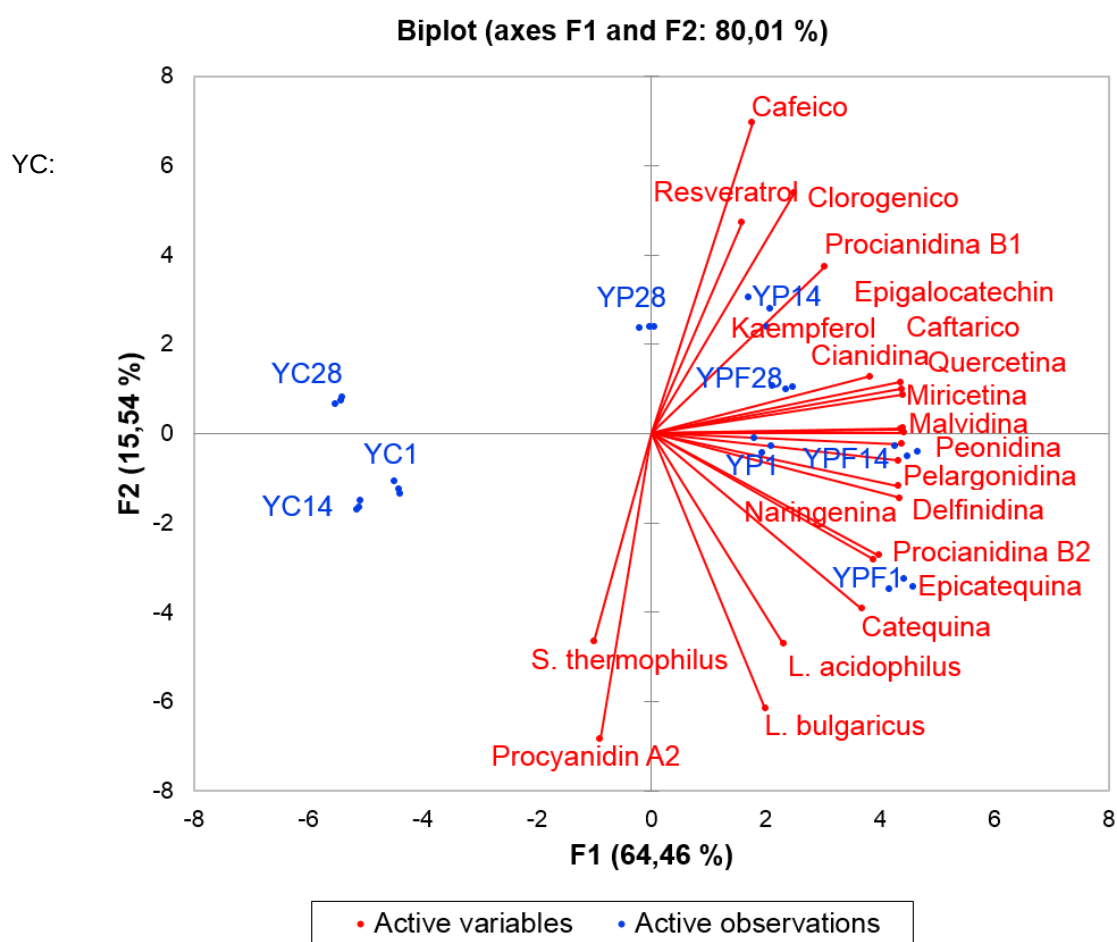
O *L. acidophilus* também apresentou redução nas contagens de células viáveis ao longo do armazenamento nos iogurtes avaliados, com valores entre 8,24 e 7,75 log UFC/mL ao fim dos 28 dias. Já entre os tratamentos não houve diferença nos tempos 1 e 14, contudo, no tempo 28 as contagens foram maiores ($p < 0,05$) no YPF em relação aos demais. Ao fim do período avaliado ocorreu um decréscimo de aproximadamente 9% nas contagens do *L. acidophilus* do YC, enquanto no YP ela foi de 6,6% e no YPF de apenas 4,5%, demonstrando uma maior resistência desse probiótico na formulação com farinha. Esse resultado pode estar relacionado com a maior estabilidade do teor total de ácidos orgânicos nessa formulação ao longo do armazenamento (Tabela 7), visto que a ausência de oscilações bruscas na acidez pode ter levado a uma preservação da viabilidade desse microorganismo.

Figura 6 – Viabilidade do *Lactobacillus bulgaricus* (A), *Streptococcus thermophilus* (B) e *Lactobacillus acidophilus* (C) no iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.



YC (●) - iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP (■) - iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF (▲) - iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel.

Figura 7 – Análise de Componentes Principais (ACP) dos compostos fenólicos e bactérias ácido lácticas e a distribuição iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel para o ACP.



iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel.

A Análise de Componentes Principais (ACP) foi utilizada para correlacionar a viabilidade das bactérias lácticas e os compostos fenólicos (Fig. 7). Os principais componentes explicaram 80% da variação dos dados, sendo 64,46% explicada pelo F1 e 15,54% pelo F2. A cianidina 3-glicosídeo, malvidina 3-glicosídeo, delfinidina 3-glicosídeo, pelargonidina 3-glicosídeo, peonidina 3-glicosídeo, catequina,

epigallocatequina galato, epicatequina galato, procianidina B2, quercetina 3-glicosídeo, kaempferol glicosídeo, miricetina, naringenina e ácido caftárico apresentaram uma forte correlação com o F1, com r de 0,2 a 0,99. O F1 também exibiu uma forte correlação com as formulações YP e YPF, as quais estão associadas com o *L. bulgaricus* e o *L. acidophilus*, como pode ser observado na Figura 7, corroborando com a maior viabilidade dessas bactérias nas formulações com preparado e farinha de uva (Fig. 6).

Santos et al. (2017) e Azevedo et al. (2018) também relatam a associação entre os compostos fenólicos dos produtos de uva e a viabilidade de probióticos através de um efeito protetor, que pode estar relacionado com as propriedades antioxidantes desses compostos sobre metabólitos oxigenados formados durante a produção e armazenamento dos produtos lácteos fermentados e podem prejudicar a viabilidade dos probióticos (SANTOS et al., 2017). Os compostos fenólicos e seus respectivos metabólitos produzidos pela atividade das bactérias podem afetar de formas diferentes o crescimento de cepas distintas, possivelmente devido às diferenças em suas estruturas químicas e atividade antioxidante (SILVA et al., 2017b).

Para que sejam assegurados os efeitos benéficos ao organismo atribuídos ao consumo de probióticos eles devem exibir um número adequado de células viáveis no momento do consumo, sendo recomendada uma dose de no mínimo 8–9 log UFC por g ou mL, a qual pode ser alcançada pelo consumo de pelo menos 100 g do alimento com contagens entre 6–7 log/mL (VERRUCK; DANTAS; PRUDENCIO, 2019; FAZILAH et al., 2017). Assim, considerando que a porção média de consumo de iogurtes é entre 100 e 200 mL, todos os iogurtes analisados são capazes de atender o consumo de probióticos, uma vez que as contagens foram condizentes com a dose recomendada.

4.3.3 Perfil de fenólicos

O perfil de fenólicos do iogurte identificou compostos pertencentes ao grupos dos flavanoides, flavonoides, ácidos fenólicos e antocianinas (Tabela 8). Nenhum desses compostos foi detectado no iogurte controle. Dentre os compostos quantificados, destaca-se o teor de catequina (0,45 – 1,25 mg/100 g), ácido caftárico

(1,20 – 1,80 mg/100 g) e malvidina-3-glicosídeo (0,31 – 0,55 mg/100 g), com as maiores concentrações ($p < 0,05$) encontradas na formulação YPF.

Segundo Oliveira et al. (2015b) o iogurte contribui para a estabilidade de alguns compostos, em especial da catequina, epicatequina e kaempferol, o que pode ter favorecido as elevadas concentrações da catequina ao longo do armazenamento nas amostras analisadas. Entre os compostos fenólicos predominantes em produtos de uva estão a catequina, epicatequina, procianidinas e antocianinas (TSENG, ZHAO, 2013), o que explica a prevalência desses compostos nos iogurtes elaborados com adição de produtos de uva no presente estudo.

Entre as antocianinas, a malvidina foi a que teve maiores concentrações tanto no YPF quanto no YP. A malvidina é a antocianina majoritária no suco de uvas tintas (SANTOS et al., 2017), além de ser descrita como principal composto responsável pela coloração do bagaço da uva (TORRES et al., 2010). No que diz respeito às formulações, os maiores valores ($p < 0,05$) de todas as antocianinas quantificadas foram observados no YPF (Tabela 8), indicando que a adição da farinha de uva contribuiu favoravelmente para essa maior concentração.

Tabela 8 – Perfil de compostos fenólicos do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.

Composto	Dia	Formulação	
		YP	YPF
Flavanois (mg/100 g)			
Catequina	1	0,65 ±0,01 ^{Ab}	1,25 ±0,02 ^{Aa}
	14	0,45 ±0,01 ^{Bb}	1,19 ±0,02 ^{Aa}
	28	0,45 ±0,01 ^{Bb}	1,02 ±0,02 ^{Ba}
Epicatequina galato	1	0,04 ±0,00 ^{Ab}	0,11 ±0,00 ^{Aa}
	14	0,03 ±0,00 ^{Ab}	0,11 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,03 ±0,00 ^{Ab}	0,07 ±0,00 ^{Ba}
Epigallocatequina galato	1	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,04 ±0,00 ^{Ba}
	14	0,04 ±0,00 ^{Ab}	0,05 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,04 ±0,00 ^{Ab}	0,05 ±0,00 ^{Aa}
Procianidina B1	1	0,05 ±0,00 ^{Aa}	0,05 ±0,00 ^{Ba}
	14	0,05 ±0,00 ^{Ab}	0,07 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,05 ±0,00 ^{Aa}	0,04 ±0,00 ^{Bb}
Procianidina B2	1	0,05 ±0,00 ^{Ab}	0,13 ±0,00 ^{Aa}
	14	0,04 ±0,00 ^{Ab}	0,14 ±0,00 ^{Aa}

	28	0,04 ±0,00 ^{Ab}	0,10 ±0,00 ^{Ba}
	1	0,02 ±0,00 ^{Ac}	0,06 ±0,00 ^{Aa}
Procianidina A2	14	0,03 ±0,00 ^{Ab}	0,02 ±0,00 ^{Cc}
	28	0,03 ±0,00 ^{Aa}	0,03 ±0,00 ^{Ba}
Flavonois (mg/100 g)			
	1	0,09 ±0,00 ^{Ab}	0,11 ±0,00 ^{Aa}
Quercitina 3-glicosideo	14	0,08 ±0,00 ^{Bb}	0,11 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,08 ±0,00 ^{Bb}	0,10 ±0,00 ^{Ba}
	1	0,01 ±0,00 ^{Aa}	0,01 ±0,00 ^{Aa}
Kaempferol glicosideo	14	0,01 ±0,00 ^{Aa}	0,01 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,01 ±0,00 ^{Aa}	0,01 ±0,00 ^{Aa}
	1	0,17 ±0,00 ^{Ab}	0,20 ±0,00 ^{Aa}
Miricetina	14	0,10 ±0,00 ^{Bb}	0,18 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,10 ±0,00 ^{Bb}	0,14 ±0,00 ^{Ca}
	1	0,02 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Aa}
Naringenina	14	0,01 ±0,00 ^{Bb}	0,02 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,01 ±0,00 ^{Ba}	0,01 ±0,00 ^{Ba}
Ácidos fenólicos (mg/100 g)			
	1	<LOD	<LOD
Cafeico	14	0,05 ±0,00 ^{Aa}	0,01 ±0,00 ^{Bb}
	28	0,03 ±0,00 ^{Ba}	0,03 ±0,00 ^{Aa}
	1	1,37 ±0,02 ^{Ab}	1,72 ±0,03 ^{Aa}
Caftárico	14	1,31 ±0,02 ^{Ab}	1,80 ±0,03 ^{Aa}
	28	1,20 ±0,02 ^{Bb}	1,56 ±0,03 ^{Ba}
	1	<LOD	<LOD
Clorogênico	14	0,10 ±0,00 ^{Ab}	0,13 ±0,00 ^{Aa}
	28	0,09 ±0,00 ^{Bb}	0,12 ±0,00 ^{Ba}
	1	0,02 ±0,00 ^{Ba}	0,02 ±0,00 ^{Aa}
Trans-Resveratrol (mg/100 g)	14	0,14 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Ab}
	28	0,01 ±0,00 ^{Bb}	0,02 ±0,00 ^{Aa}
Antocianinas (mg/100 g)			
	1	0,03 ±0,00 ^{Ab}	0,04 ±0,00 ^{Aa}
Cianidina 3-glicosideo	14	0,03 ±0,00 ^{Aa}	0,03 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,02 ±0,00 ^{Bb}	0,03 ±0,00 ^{Bb}
	1	0,02 ±0,00 ^{Ab}	0,03 ±0,00 ^{Aa}
Delfinidina 3-glicosideo	14	0,02 ±0,00 ^{Aa}	0,02 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,01 ±0,00 ^{Bb}	0,02 ±0,00 ^{Ba}
	1	0,50 ±0,00 ^{Ab}	0,55 ±0,01 ^{Aa}
Malvidina 3-glicosideo	14	0,40 ±0,01 ^{Bb}	0,48 ±0,01 ^{Ba}
	28	0,31 ±0,01 ^{Cb}	0,37 ±0,01 ^{Ca}
	1	0,07 ±0,00 ^{Ab}	0,08 ±0,00 ^{Aa}
Pelargonidina 3-glicosideo	14	0,05 ±0,00 ^{Bb}	0,07 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,04 ±0,00 ^{Ca}	0,04 ±0,00 ^{Ca}
	1	0,08 ±0,00 ^{Ab}	0,09 ±0,00 ^{Aa}
Peonidina 3-glicosideo	14	0,06 ±0,00 ^{Bb}	0,08 ±0,00 ^{Ba}
	28	0,05 ±0,00 ^{Cb}	0,06 ±0,00 ^{Ca}

^{A-C} Médias $\pm$ desvio padrão com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação ao período de armazenamento.

^{a-b} Médias $\pm$ desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel. <LOD: abaixo do limite de detecção.

Com relação ao período de armazenamento, houve uma tendência de redução nas concentrações dos compostos fenólicos analisados, o que pode ser justificado pelos diversos fatores que podem afetar a estabilidade desses compostos, tais como oxigênio, pH, temperatura e outras características físico-químicas do alimento (OLIVEIRA et al., 2015b). De modo geral, observaram-se as maiores concentrações ($p < 0,05$) de compostos fenólicos para YPF, confirmando o efeito positivo da adição da farinha nessa formulação. Karnopp et al. (2017) observaram que a combinação do suco e da farinha da casca de uva aumentam o conteúdo de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em iogurtes, tendo sido adotada a incorporação de compostos bioativos nesses produtos como uma estratégia para aumentar a atuação desses compostos na manutenção da saúde e melhorar a relação entre alimento e bem estar.

4.3.4 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos iogurtes foi analisada pelos métodos DPPH e FRAP (Tabela 9). A ação da atividade antioxidante está relacionada com a inibição da oxidação dos produtos de radicais livres, protegendo o alimento durante sua vida útil, a exemplo do iogurte, como também protegendo o corpo humano contra danos oxidativos (ALENISAN et al., 2017). No DPPH, os valores para o YP e o YPF foram superiores ao YC cerca de 77 e 82%, respectivamente. Em relação ao tempo de armazenamento, o YP exibiu um decréscimo da atividade antioxidante de 25% ao final dos 28 dias, enquanto no YPF ela foi de apenas 7%, o que pode estar relacionado ao maior teor de compostos fenólicos na farinha em relação ao preparado, como similarmente descrito por Karnopp et al. (2017) ao analisar a farinha e o suco de uva (produto com características próximas ao preparado). Além de sugerir que a incorporação dos polifenóis da uva ao iogurte na forma de farinha possui um maior efeito protetor sobre a atividade antioxidante dos mesmos.

As diferenças nos resultados entre os métodos de determinação de atividade antioxidante devem-se aos mecanismos distintos envolvidos em cada um deles (SILVA ET AL., 2016). Apesar disso, o comportamento entre as amostras para o FRAP foi similar ao do DPPH, com maiores valores para o YP e o YPF em relação ao YC cerca de 52 e 83%, respectivamente, também ocorrendo redução dos valores durante os 28 dias. Tseng e Zhao (2013) também relatam a diminuição da atividade antioxidante durante o período de armazenamento de iogurtes enriquecidos com o bagaço da vinificação. A qual pode ser explicada, possivelmente, pela interação entre compostos fenólicos e proteínas do leite, que leva a formação de um complexo, ocasionando a redução da atividade antioxidante (O'SULLIVAN et al., 2016; XIAO et al., 2011).

Contudo, tanto o YP quanto o YPF apresentaram valores elevados de atividade antioxidante, o que confirma que os produtos de uva são boas opções para aumentar a atividade antioxidante *in vitro* dos iogurtes, como descrito por Karnopp et al. (2017) ao estudar a adição do suco e da farinha da casca de uva Bordeaux em iogurtes orgânicos. Já os valores de atividade antioxidante encontrados para o iogurte controle podem ser atribuídos ao peptídeos oriundos do leite que foram liberados no iogurte (OLIVEIRA et al., 2015b).

Tabela 9 – Atividade antioxidante do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado.

Atividade antioxidante (μ M TEAC/100 g)	Dia	Formulação		
		YC	YP	YPF
DPPH	1	44,40 $\pm$ 2,50 ^{Bc}	194,21 $\pm$ 2,49 ^{Ab}	238,20 $\pm$ 8,98 ^{Aa}
	14	54,49 $\pm$ 3,45 ^{Ac}	155,52 $\pm$ 11,99 ^{Bb}	237,24 $\pm$ 5,99 ^{Aa}
	28	47,35 $\pm$ 2,16 ^{ABc}	145,54 $\pm$ 13,99 ^{Bb}	222,34 $\pm$ 12,98 ^{Aa}
FRAP	1	2,03 $\pm$ 0,22 ^{Ac}	4,23 $\pm$ 0,05 ^{Ab}	11,69 $\pm$ 0,36 ^{Aa}
	14	2,22 $\pm$ 0,23 ^{Ac}	4,52 $\pm$ 0,08 ^{Ab}	7,10 $\pm$ 0,40 ^{Ba}
	28	2,17 $\pm$ 0,06 ^{Ac}	3,56 $\pm$ 0,24 ^{Bb}	7,04 $\pm$ 0,48 ^{Ba}

^{A-B} Médias $\pm$ desvio padrão com letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação ao período de armazenamento.

^{a-c} Médias $\pm$ desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com

Lactobacillus acidophilus, preparado e farinha de uva Isabel. TEAC: atividade antioxidante equivalente ao trolox.

4.3.5 Bioacessibilidade dos compostos fenólicos

Os compostos analisados exibiram elevada bioacessibilidade (Tabela 10), o que pode ser resultado da quebra das ligações entre esses compostos e as proteínas, por meio da ação das alterações de pH e das enzimas digestivas durante o processo de digestão simulada, favorecendo assim sua liberação. As proteínas podem interagir com micelas de gordura e exercer um efeito protetivo sobre os compostos fenólicos (DANTAS et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2015b), dessa forma, uma vez que o iogurte é rico nesses componentes, ele representa uma matriz favorável para proteção dos compostos fenólicos durante a passagem pelo trato gastrointestinal.

A catequina foi o composto com as maiores concentrações ($p < 0,05$) após o processo de digestão simulada, especialmente na formulação YPF (24,92 mg/100 g). Enquanto a procianidina B1 foi o composto com maior bioacessibilidade (150,2%) também na formulação YPF. Já o ácido gálico foi detectado nas amostras analisadas apenas após o processo de digestão simulada, com concentrações variando entre 0,30 a 0,77 mg/100 g. Tabasco et al. (2011) relatam que algumas enzimas relacionadas com bactérias lácticas podem levar à hidrólise de polifenóis da uva e ocasionar a formação de ácido gálico, pirogallol e catecol.

Algumas propriedades desenvolvidas pelos compostos fenólicos no organismo passaram a ser atribuídas, principalmente, aos metabólitos originados pela biotransformação desses compostos por microrganismos, a exemplo dos probióticos, ao mesmo tempo em que a presença desses compostos pode aumentar a sobrevivência dos probióticos, sugerindo que o uso combinado de compostos fenólicos e probióticos em alimentos pode melhorar suas características gerais, além de aumentar os efeitos benéficos à saúde desempenhado por eles (SOUZA et al., 2018). Gil-Sanchez et al. (2017) observaram diferentes metabólitos ativos oriundos de compostos fenólicos após fermentação do bagaço de uva, confirmando sua metabolização pela microbiota intestinal e os efeitos benéficos sobre a mesma. Assim, sua incorporação em alimentos como iogurtes é uma excelente opção para enfatizar os benefícios que esse derivado lácteo já exerce na saúde dos consumidores.

Contudo, alguns compostos não foram detectados na análise com HPLC em nenhuma das amostras após o processo de digestão simulada, especialmente o grupo das antocianinas (dados não mostrados), o que indica que os mesmos não resistiram a esse processo. As antocianinas são bastante instáveis e susceptíveis à degradação, sua estabilidade pode ser afetada por fatores como pH, temperatura, luz, oxigênio e presença de proteínas nos alimentos (OLIVEIRA et al., 2015b). Durante a simulação da digestão ocorrem alterações de pH e hidrólise enzimática que podem ocasionar a degradação de alguns compostos fenólicos (O'SULLIVAN et al., 2016), essas condições desfavoráveis podem ter sido responsáveis pelas antocianinas não terem resistido ao processo.

4.3.6 Avaliação Sensorial

Os resultados dos testes de aceitação sensorial e intenção de compra dos provadores (n = 102) dos iogurtes, avaliados após 14 dias de armazenamento refrigerado, estão expostos na Tabela 11. Os maiores escores ($p < 0,05$) foram observados nas formulações YP e YPF, colocando-os entre os termos hedônicos “gostei ligeiramente” a “gostei muito” para a aceitação sensorial e “talvez comprasse/talvez não comprasse” a “possivelmente compraria” para a intenção de compra. Os resultados da ordenação de preferência geral dos provadores (n = 102) também colocaram o YP e YPF como os mais preferidos ($p < 0,05$) em relação ao controle (YC) pela soma das ordens de cada amostra avaliada pelo teste de Friedman (Tabela 12).

Os resultados do teste sensorial pelo JAR estão apresentados na Tabela 13. De modo geral, todos os atributos avaliados neste experimento estavam perto do ideal (JAR variando de 2,25 a 3,74) em todas as formulações, com exceção da doçura no iogurte controle (1,68) que foi percebida como abaixo do ideal. Contudo, percebeu-se que a adição dos produtos de uva nos iogurtes resultou em uma maior percepção de doçura e diminuiu a percepção de acidez e aroma caprino, o que pode ser favorável para facilitar o consumo desses produtos por consumidores que não estão habituados aos derivados caprinos.

Tabela 10 – Perfil de compostos fenólicos do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado de preparado e farinha de uva Isabel durante armazenamento refrigerado após simulação de digestão gastrointestinal *in vitro*.

Composto	Fração inicial (mg/100 g)		Fração bioacessível (mg/100 g)		Bioacessibilidade (%)	
	YP	YPF	YP	YPF	YP	YPF
Flavanols						
Catequina	0,45 ±0,01 ^b	1,02 ±0,02 ^a	11,37 ±0,19 ^b	24,92 ±0,41 ^a	128,36	122,77
Epicatequina	<LOD	<LOD	0,06 ±0,00 ^b	0,18 ±0,00 ^a	-	-
Epigallocatequina galato	0,04 ±0,00 ^b	0,05 ±0,00 ^a	0,96 ±0,02 ^a	<LOD	134,70	-
Procianidina B1	0,05 ±0,00 ^a	0,04 ±0,00 ^b	0,44 ±0,01 ^b	1,34 ±0,02 ^a	40,56	150,20
Procianidina B2	0,04 ±0,00 ^b	0,10 ±0,00 ^a	0,17 ±0,00 ^b	0,30 ±0,00 ^a	22,95	15,66
Procianidina A2	0,03 ±0,00 ^a	0,03 ±0,00 ^a	0,28 ±0,00 ^b	0,54 ±0,01 ^a	48,89	97,57
Ácidos fenólicos						
Gálico	<LOD	<LOD	0,30 ±0,00 ^b	0,77 ±0,01 ^a	-	-
Caftárico	1,20 ±0,02 ^b	1,56 ±0,03 ^a	1,30 ±0,02	<LOD	5,48	-

^{a-b} Médias ± desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste t de Student ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel. <LOD: abaixo do limite de detecção.

Tabela 11 – Escores médios da aceitação sensorial e intenção de compra do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.

Atributo	Formulação		
	YC	YP	YPF
Aparência	7,28 ±1,52 ^b	7,95 ±0,95 ^a	7,54 ±1,42 ^{ab}
Cor	7,36 ±1,44 ^b	7,85 ±1,01 ^a	7,68 ±1,39 ^{ab}
Consistência	6,99 ±1,57 ^a	7,39 ±1,42 ^a	6,98 ±1,50 ^a
Aroma	5,88 ±1,63 ^b	6,93 ±1,65 ^a	6,86 ±1,67 ^a
Sabor	4,17 ±1,84 ^b	6,01 ±2,03 ^a	6,10 ±2,20 ^a
Aceitação global	5,50 ±1,53 ^b	6,79 ±1,52 ^a	6,75 ±1,71 ^a
Intenção de compra	2,32 ±1,00 ^b	3,42 ±1,23 ^a	3,32 ±1,26 ^a

^{a-b} Médias ± desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel.

Tabela 12 – Distribuição das notas de acordo com a ordenação de preferência geral pelos provadores (n= 102) na análise sensorial do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.

Iogurte	Número de provadores por ordem*			Soma das ordens**
	1	2	3	
YC	81	11	10	133 ^b
YP	8	43	51	247 ^a
YPF	13	48	41	232 ^a

^{a-b} letras minúsculas sobrescritas indicam as diferenças significativas apresentadas entre os iogurtes ($p < 0,05$) pelo teste de Friedman.

YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel. * 1 = menos preferido, 3 = mais preferido ** Soma das ordens de cada amostra = (1 x nº de provadores) + (2 x nº de provadores) + (3 x nº provadores).

Tabela 13 – Escores de aceitação pela Escala-do-Ideal (Just-about-right - JAR) do iogurte caprino elaborado com *L. acidophilus* LA-05 e adicionado ou não de preparado e farinha de uva Isabel.

Atributo	Formulação		
	YC	YP	YPF
Cor	3,14 ±0,51 ^a	2,75 ±0,53 ^b	2,91 ±0,56 ^b
Consistência	2,80 ±0,70	2,69 ±0,58	2,78 ±0,67
Textura	2,93 ±0,72 ^b	2,93 ±0,56 ^b	3,35 ±0,84 ^a
Doçura	1,68 ±0,64 ^b	2,25 ±0,79 ^a	2,34 ±0,79 ^a
Acidez	3,74 ±0,78 ^a	3,46 ±0,76 ^b	3,32 ±0,77 ^b
Aroma caprino	3,49 ±0,83 ^a	3,16 ±0,80 ^b	3,02 ±0,70 ^b
Aroma de uva	NA	2,43 ±0,85	2,47 ±0,81
Sabor de uva	NA	2,39 ±0,82	2,43 ±0,90

^{a-b} Médias ± desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em relação às formulações. YC: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*; YP: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus* e preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com *Lactobacillus acidophilus*, preparado e farinha de uva Isabel. NA: não aplicável.

A adição de uva e derivados no iogurte caprino pode ser uma excelente estratégia para aumentar a aceitação desses produtos por consumidores, uma vez que essa aceitação depende tanto dos potenciais benefícios à saúde quanto do sabor do produto. Essa estratégia além de aumentar o teor de compostos bioativos dos iogurtes, também consegue mascarar o odor característico dos produtos caprinos (NDABIKUNZE et al., 2017; RANADHEERA et al., 2012). Além disso, o processo de fermentação do leite pode amenizar as características indesejáveis típicas do leite caprino, além de aumentar o seu valor nutritivo (VEDRAN et al., 2010; VERRUCK et al., 2019).

4.4 INTERAÇÃO ENTRE POLIFENÓIS E PROTEÍNAS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE SIMULAÇÃO DA DIGESTÃO GASTROINTESTINAL NOS IOGURTES COM PRODUTOS DE UVA

4.4.1 Atividade antioxidante

O comportamento da atividade antioxidante (AA) dos iogurtes pelos métodos DPPH, ABTS e ORAC foi semelhante, como pode ser observado na Tabela 14. O YPF teve a maior atividade antioxidante ($p < 0,05$) para as frações livre e ligada nos três métodos utilizados, seguido pelo YP e com os valores mais baixos para o YC. Os resultados também demonstraram que a fração de FLV apresentou valores mais altos de AA que a fração de FLG. Contudo, as formas ligadas dos polifenóis podem ser benéficas mesmo em pequenas proporções, elas podem ser parcialmente liberadas e absorvidas durante o processo de digestão, além de que a fração que sobrevive à digestão gástrica e intestinal pode atingir o cólon e exercer benefícios à saúde, como efeito prebiótico na microbiota (ACOSTA-ESTRADA et al., 2014).

Tabela 14 – Atividade antioxidante dos compostos fenólicos livres e ligados em iogurtes caprinos probióticos com produtos de uva.

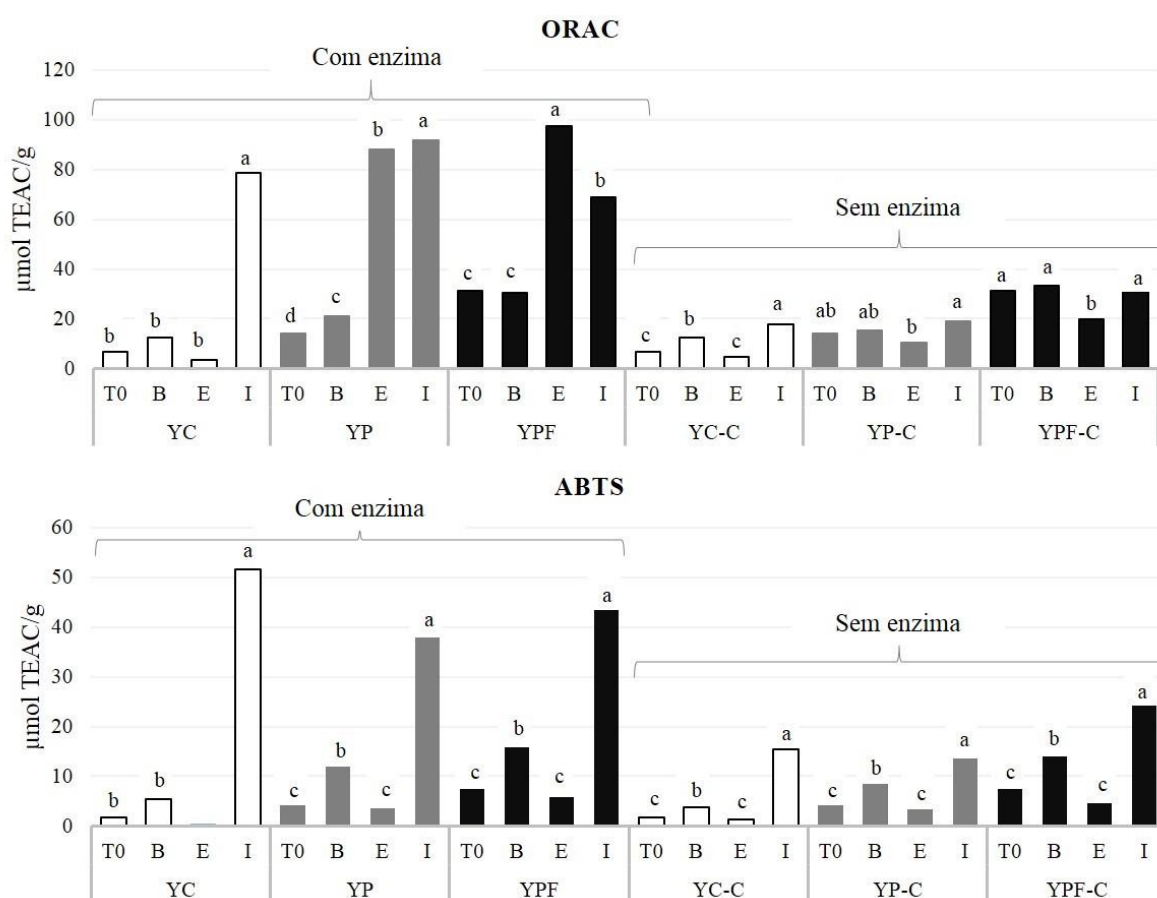
Atividade antioxidante ($\mu\text{M TEAC/g}$)		YC	YP	YPF
DPPH	FLV	0.83 ± 0.01^b	1.73 ± 0.15^b	4.32 ± 0.11^a
	FLG	-	-	0.29 ± 0.05
	Total	0.83^b	1.73^b	4.61^a
ABTS	FLV	1.60 ± 0.06^c	4.09 ± 0.02^b	7.52 ± 0.28^a
	FLG	-	0.39 ± 0.02^b	0.77 ± 0.04^a
	Total	1.60^c	4.48^b	8.29^a
ORAC	FLV	6.60 ± 0.12^c	14.03 ± 0.20^b	31.20 ± 0.11^a
	FLG	1.24 ± 0.17^c	2.81 ± 0.01^b	6.33 ± 0.07^a
	Total	7.84^c	16.84^b	37.53^a

^{a-c} Médias $\pm$ desvio padrão com letras minúsculas diferentes na mesma linha diferiram entre as formulações pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). FLV: fenólicos livres; FLG: fenólicos ligados. YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel.

O efeito da digestão GI simulada no potencial antioxidante dos iogurtes foi avaliado pelos ensaios ABTS e ORAC, como observado na Figura 8. Com o objetivo de remover o impacto da enzima nos resultados de AA, foi avaliado um controle das enzimas em cada etapa da digestão e os valores descontados dos resultados para os iogurtes. De modo geral, foi observado um aumento da AA ao longo da digestão GI das amostras para os dois métodos. Curiosamente, apesar dos valores iniciais de AA terem sido mais altos para YPF, YP e YC, respectivamente, o YC apresentou o maior

aumento ao final do sistema GI (cerca de 3000% para ABTS e 1000% para ORAC), seguido por YP (820% para ABTS e 550% para ORAC) e YPF (480% para ABTS e 120% para ORAC).

Figura 8 – Atividade antioxidante dos iogurtes probióticos com produtos de uva após simulação *in vitro* da digestão na boca (B), estômago (E) e intestino (I) com e sem enzimas.



YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel. a – c: letras minúsculas diferentes representam diferenças entre as formulações pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O potencial antioxidante dos iogurtes pode resultar da incorporação de ingredientes com altos níveis de compostos bioativos, como produtos de uva ricos em fenólicos, ou da interação com outros componentes, uma vez que o iogurte é uma matriz complexa (TRIGUEROS et al., 2014). Durante a fermentação do iogurte são produzidos vários aminoácidos e pequenos peptídeos que exibiram efeitos

antioxidantes (FENG et al., 2019). Outros componentes dos iogurtes, como açúcares redutores, ácidos graxos, oligossacarídeos e bactérias ácido lácticas, também podem atuar como agentes redutores e exibir propriedades antioxidantes (PÉSIC et al., 2019; TAVAKOLI et al., 2018).

Polifenóis e proteínas têm uma forte afinidade que leva à formação de complexos solúveis, o que parece envolver múltiplas interações (principalmente hidrofóbicas) entre as cadeias laterais de aminoácidos e os anéis aromáticos de polifenóis, indicando que essa associação é principalmente um fenômeno superficial. No entanto, em alguns casos, elas podem ser complementadas pela ligação de hidrogênio, levando ao reforço e estabilização dos complexos (OLIVEIRA et al., 2018). O aumento desses complexos proteína-polifenol está relacionado à redução da atividade antioxidante (TRIGUEROS et al. 2014).

Embora o sistema de digestão simulado sem enzimas tenha exibido valores mais baixos do que o sistema com as mesmas (Fig. 8), em geral, também foi demonstrado um aumento da AA neles durante a passagem pelo trato GI. Esses resultados sugerem um efeito sinérgico das alterações de pH e ação enzimática nas liberações de polifenóis a partir de compostos da matriz, como proteínas e polissacarídeos, conforme observado de forma semelhante por Oliveira et al. (2015c).

O pH exerce forte influência na atividade de eliminação de radicais dos polifenóis, e, geralmente, ocorre um aumento da mesma em valores mais altos de pH, o que causa a desprotonação das porções hidroxila presentes nos anéis aromáticos dos compostos fenólicos. Essa desprotonação está associada a uma diminuição da energia necessária para a dissociação hemolítica da ligação O-H devido à carga negativa adicional gerada na molécula e, conseqüentemente, facilitando as reações de doação de átomos de hidrogênio (OLIVEIRA et al., 2015c).

Os resultados do ORAC mostram uma diferença interessante entre os iogurtes com preparado e farinha de uva Isabel (YP e YPF), que apresentaram AA maior no estômago (88 e 97 $\mu\text{mol TEAC/g}$), e o controle sem produtos de uva (YC), que teve apenas 3,5 $\mu\text{mol TEAC/g}$. Isso sugere que a maior AA no estômago está, principalmente, relacionada aos polifenóis dos produtos de uva adicionados aos iogurtes, provavelmente porque as primeiras enzimas capazes de hidrolisar proteínas estão nessa etapa da digestão. O que levou à quebra da ligação proteína-polifenol

com a liberação desses compostos fenólicos e, conseqüentemente, ao aumento da AA, uma vez que os polifenóis tem alta estabilidade contra a degradação em meio ácido gástrico (PINEDA-VADILLO et al., 2016).

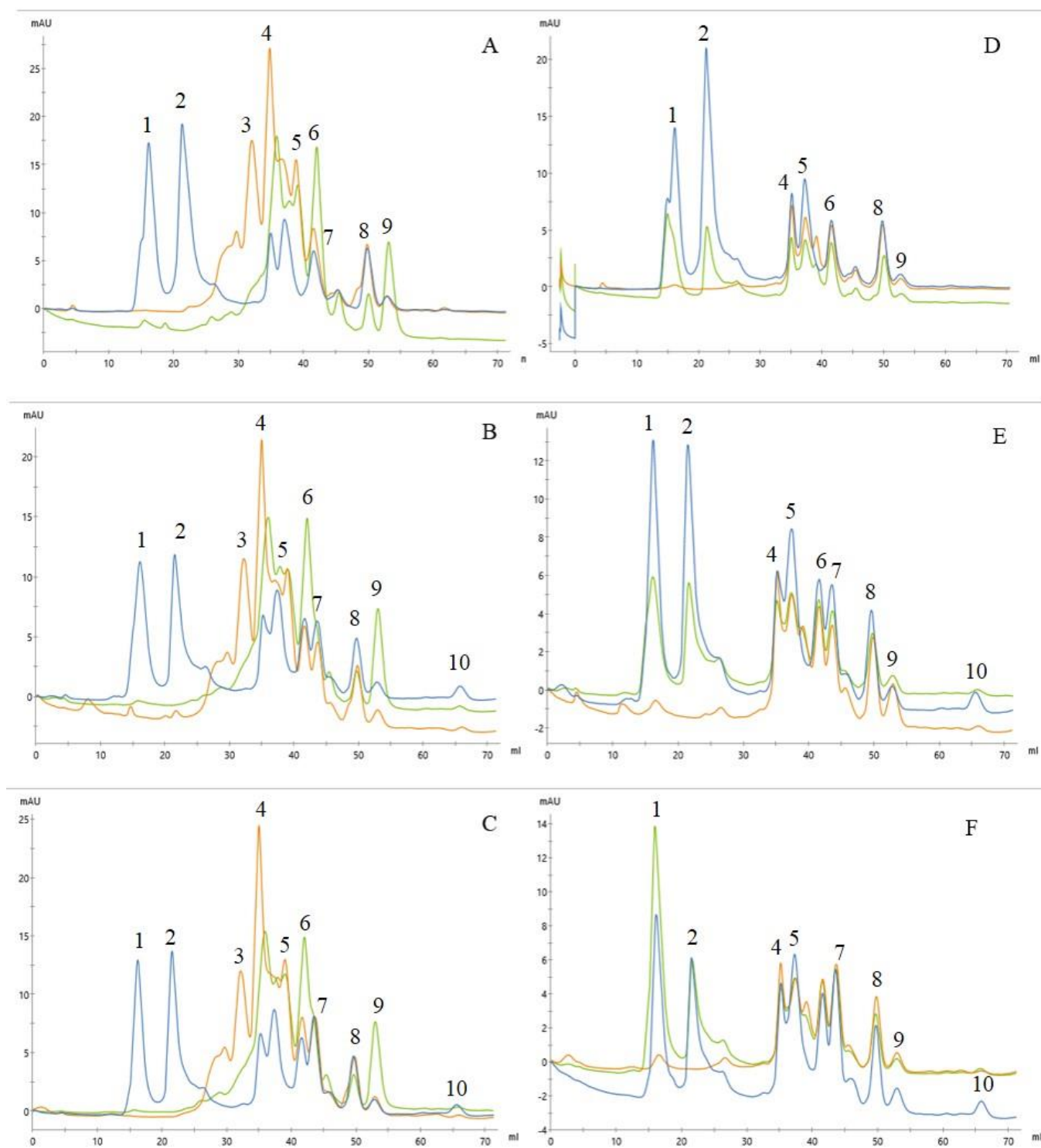
Além disso, os polifenóis podem ter alguns efeitos na saúde que não exigem sua absorção pela barreira intestinal, por exemplo, a proteção contra os danos oxidativos relacionados a muitas doenças degenerativas do trato gastrointestinal, como câncer colorretal ou doença inflamatória intestinal, associada à atividade antioxidante das antocianinas (PINEDA-VADILLO et al., 2016). Por outro lado, embora apenas a fração solúvel seja bioacessível (disponível para absorção na circulação sistêmica), a fração insolúvel (compreendendo os compostos não bioacessíveis) será capaz de atingir o intestino grosso para fermentação no cólon (PINEDA-VADILLO et al., 2016).

4.4.2 Perfil de peso molecular de proteínas e peptídeos

O perfil de proteínas e peptídeos de iogurtes caprinos com ou sem produtos de uva durante a digestão GI foram monitorados por FPLC, como mostrado na Fig. 9. O comportamento do YC, YP e YPF foi muito semelhante, diferindo apenas no pico 10, que está presente apenas na etapa da boca nos iogurtes adicionados de produtos de uva, YP (Fig. 9 B e E) e YPF (Fig. 9 C e F), que, provavelmente, está associado a um componente da uva.

Em relação ao processo digestivo, ocorre o desaparecimento dos picos 1 e 2, que possuem maior peso molecular, e o aumento da intensidade dos picos com alto volume de eluição (>30 mL), os quais estão associados a um menor peso molecular. A prevalência de fragmentos de baixo peso molecular nos estágios estomacal e intestinal apenas em amostras de ensaios realizados com enzimas, como pode ser observado nos picos 3–9 para YC, YP e YPF (Fig. 9 A, B e C), indica uma efeito proteolítico das soluções enzimáticas adicionadas à amostra nos diferentes estágios do GI.

Figura 9 – Perfil de peso molecular de proteínas e peptídeos obtidos por FPLC do YC (iogurte caprino sem produtos de uva) **(A,D)**, YP (iogurte caprino com preparado de uva Isabel) **(B,E)**, e YPF (iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel) **(C,F)** após digestão simulada *in vitro* na boca (—), estômago (—) e intestino (—) com e sem enzimas, respectivamente.



A quebra das proteínas de alto peso molecular em pequenos peptídeos, os quais possuem reconhecidas propriedades antioxidantes (FENG et al., 2019), nas etapas de digestão do estômago e intestino também pode ter liberado os compostos fenólicos ligados a essas proteínas, aumentando sua capacidade antioxidante (TRIGUEROS et al., 2014). Esse comportamento corrobora com os resultados de atividade antioxidante mais elevados, exibidos pelos iogurtes nas etapas de digestão do estômago e intestino (Fig. 8).

4.5 POTENCIAL PREBIÓTICO E IMPACTO NA MICROBIOTA INTESTINAL DOS IOGURTES CAPRINOS COM PRODUTOS DE UVA

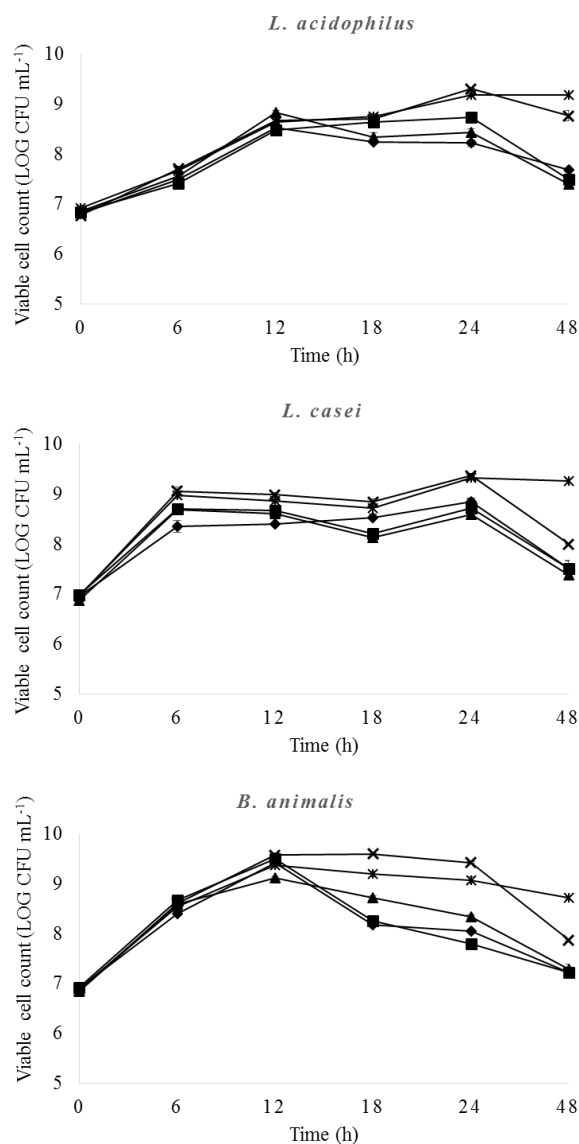
4.5.1 Potencial prebiótico

Parâmetros relacionados com a atividade metabólica fermentativa de bactérias probióticas, como a contagem de células viáveis, valores de pH e a quantificação de ácidos orgânicos e açúcares são utilizados para avaliação do potencial prebiótico (DUARTE et al., 2017). Tais parâmetros foram avaliados em meios com amostras de iogurte caprino (YC, YP e YPF) e comparados aos resultados obtidos em meios com FOS (prebiótico conhecido) e glicose.

4.5.1.1 Crescimento das cepas probióticas

A contagem de células viáveis do *L. acidophilus*, *L. casei* e *B. lactis* nos meios com os iogurtes digeridos, glicose e FOS são apresentadas na Figura 10. Os probióticos analisados tiveram altas contagens ($> 8 \log \text{ UFC/mL}$) após 24 h de cultivo nos meios com o YC, YP, YPF, glicose ou FOS, seguido por uma redução após 48 h de cultivo, contudo as mesmas não ficaram inferiores a $7 \log \text{ UFC/mL}$. Bactérias do gênero *Lactobacillus* geralmente atingem o crescimento máximo após aproximadamente 24 h (COSTA et al., 2019), comportamento similar também foi observado para o *Bifidobacterium* no presente estudo.

Figura 10 – Contagem de células viáveis de *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* L-26 e *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 nos meios com glicose (20 g/L, —x—), FOS (20 g/L, —*—), YC - iogurte caprino sem produtos de uva (20 g/L, —◆—), YP - iogurte caprino com preparado de uva Isabel (20 g/L, —■—), YPF - iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel (20 g/L, —▲—) durante 48 h de cultivo.



As contagens de células viáveis das cepas analisadas foram maiores nos meios com FOS e glicose que naqueles com os iogurtes ao fim do período de incubação, com um aumento de 2–2,5 log UFC/mL quando comparado com a população bacteriana inicial. O que pode ser explicado pela preferência dessas cepas por glicose como principal fonte de carbono, como previamente reportado (DUARTE et al., 2017;

MELO et al., 2020). A fermentação seletiva de carboidratos por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* está relacionada a diferentes aspectos, como a cepa e o substrato (COSTA et al., 2019). Apesar disso, o YC, YP e YPF também apresentaram um aumento considerável, 1–2 log UFC/mL, demonstrando sua capacidade de estimular o crescimento desses microrganismos potencialmente benéficos, uma vez que possuem em sua composição açúcares como lactose, e no caso do YP e YPF contêm também frutose e fibras, que também podem servir de substratos fermentáveis permitindo o crescimento desses probióticos (MELO et al., 2020; PAYLING et al., 2020).

4.5.1.2 Atividade metabólica

Foi observada uma diminuição ($p < 0,05$) no pH dos meios com as diferentes fontes de carbono ao longo do período de cultivo para todas as cepas analisadas (Tabela 15). Essa redução representa um efeito do metabolismo das cepas probióticas nos meios com as diferentes fontes de carbono (MASSA et al., 2020). Após as 48 h de cultivo os menores valores de pH foram observados nos meios com FOS e glicose (3.2 – 4.8) independente da cepa inoculada. Já entre os iogurtes, os menores valores foram observados nos meios com YP e YPF (~ 4.5 com o *B. lactis* e 5 – 5.4 com *L. acidophilus* e *L. casei*) em relação ao com YC (4.8 com o *B. lactis* e 5.3 – 5.7 com *L. acidophilus* e *L. casei*).

Os ácidos láctico e acético apresentaram aumento das concentrações ao longo das 48 h independente da fonte de carbono e cepa inoculada (Tabela 15). O ácido láctico foi o ácido orgânico detectado em maior quantidade nos meios. Após 48 de inoculação, as maiores concentrações foram observadas nos meios com glicose inoculados com *L. acidophilus* ou *B. lactis*, resultado que deve ser associado com os menores valores de pH encontrados nesses meios após 48h quando comparados com os meios com os iogurtes ou FOS (Tabela 15). O ácido acético teve concentração superior nos meios com iogurtes comparados aos meios com FOS e glicose quando inoculados com *B. lactis*. Quando inoculados com *L. acidophilus* seu conteúdo foi maior nos meios com YC, YPF e glicose comparado ao meio com FOS. Já quando inoculados com *L. casei* as concentrações do ácido acético nos meios com iogurte foram superiores ao com glicose, mas inferiores ao com FOS. Esses ácidos são

reconhecidos como principais produtos finais da metabolização de carboidratos, tais quais glicose e frutose, por espécies como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e seu aumento está relacionado ao elevado metabolismo das cepas probióticas inoculadas (DUARTE et al., 2017; MASSA et al., 2020).

De modo geral, os meios com iogurtes apresentaram maiores teores iniciais de ácido cítrico ($p < 0,05$) quando inoculados com *L. acidophilus*, *L. casei* ou *B. lactis*. As concentrações desse ácido apresentaram redução ao longo das 48 h nos meios com qualquer das fontes de carbono ou cepa inoculada. O ácido succínico não foi detectado nos meios com FOS ou glicose inoculados com qualquer das cepas. As concentrações desse ácido apresentaram comportamentos distintos ao longo das 48h nos meios com as diferentes fontes de carbono. Apesar disso, no meio com YPF o conteúdo de ácido succínico teve uma redução das concentrações ($p < 0,05$) após 48 h, independente da cepa inoculada. Os ácidos cítrico e succínico são ácidos orgânicos naturalmente presentes na uva e seus derivados (COSTA et al., 2019), mas também podem ser produzidos por bactérias lácticas em diferentes condições de fermentação (DUARTE et al., 2017).

A redução do pH e do conteúdo de açúcares, assim como o aumento na concentração de ácidos orgânicos são parâmetros diretamente associados com o metabolismo das bactérias inoculadas (ALBUQUERQUE et al., 2020). Dessa forma, a associação dos resultados descritos para esses parâmetros nos meios com YC, YP e YPF com o aumento da contagem de células viáveis das cepas inoculadas corroboram com o efeito promotor do crescimento exercido nesses probióticos. As diferenças observadas nos resultados entre as cepas podem estar relacionadas com as distintas características metabólicas de cada uma, como produção de diferentes enzimas e sistemas de transporte, as quais interferem na utilização dos nutrientes disponíveis nos meios por elas e, conseqüentemente, no seu crescimento e produção de metabólitos (ALBUQUERQUE et al., 2020; ZHANG et al., 2018).

Tabela 15 – Valores de pH e conteúdo de ácidos orgânicos (mg/mL) nos meios com glicose (20 g/L), FOS (20 g/L) ou iogurtes caprinos digeridos adicionados ou não depreparado e farinha de uva Isabel (20 g/L) e inoculados com *L. acidophilus*, *L. casei* ou *B. lactis* durante 48 h de incubação.

Parâmetro	Time (h)	<i>L. acidophilus</i> LA 05				
		YC	YP	YPF	GLI	FOS
pH	0	6,06 ±0,00 ^{Ba}	6,11 ±0,01 ^{Aa}	6,12 ±0,01 ^{Aa}	5,94 ±0,01 ^{Da}	5,97 ±0,00 ^{Ca}
	6	5,98 ±0,00 ^{Ab}	5,89 ±0,00 ^{Cb}	5,93 ±0,00 ^{Bb}	5,65 ±0,01 ^{Db}	5,66 ±0,00 ^{Db}
	12	5,70 ±0,01 ^{Ac}	5,29 ±0,00 ^{Bd}	5,20 ±0,00 ^{Cd}	4,33 ±0,00 ^{Dc}	4,33 ±0,00 ^{Dc}
	18	5,60 ±0,00 ^{Ad}	5,41 ±0,00 ^{Bc}	5,24 ±0,00 ^{Cc}	3,93 ±0,01 ^{Dd}	3,92 ±0,01 ^{Dd}
	24	5,37 ±0,01 ^{Ae}	5,22 ±0,01 ^{Be}	5,18 ±0,01 ^{Cd}	3,81 ±0,00 ^{De}	3,82 ±0,01 ^{De}
	48	5,37 ±0,01 ^{Ae}	5,14 ±0,01 ^{Bf}	5,04 ±0,00 ^{Ce}	3,73 ±0,00 ^{Ef}	3,81 ±0,00 ^{De}
Ácido láctico	0	0,98 ±0,01 ^{Cf}	1,45 ±0,01 ^{Bf}	2,89 ±0,00 ^{AcD}	<LOD	<LOD
	6	2,00 ±0,01 ^{Ae}	2,61 ±0,01 ^{Ae}	2,28 ±0,08 ^{Ad}	3,38 ±0,64 ^{Ae}	2,94 ±0,04 ^{Ad}
	12	2,48 ±0,10 ^{Dd}	4,70 ±0,01 ^{Cd}	5,26 ±0,14 ^{Cb}	7,20 ±0,01 ^{Bd}	8,87 ±0,41 ^{Ac}
	18	5,44 ±0,01 ^{Ca}	5,54 ±0,01 ^{Cb}	4,64 ±0,16 ^{Dbc}	16,18 ±0,34 ^{Ab}	9,94 ±0,02 ^{Bb}
	24	4,05 ±0,00 ^{Cc}	7,22 ±0,01 ^{Ba}	7,85 ±0,25 ^{Ba}	13,26 ±0,12 ^{Ac}	14,27 ±0,25 ^{Aa}
	48	4,74 ±0,01 ^{Db}	4,96 ±0,01 ^{Ca}	8,37 ±0,68 ^{Ca}	20,62 ±0,04 ^{Aa}	14,00 ±0,10 ^{Ba}
Ácido acético	0	1,99 ±0,01 ^{ABe}	2,53 ±0,01 ^{ABd}	2,62 ±0,15 ^{Ab}	1,92 ±0,28 ^{BCd}	1,41 ±0,05 ^{Cc}
	6	2,48 ±0,01 ^{Ad}	2,24 ±0,01 ^{Af}	2,42 ±0,01 ^{Ab}	2,33 ±0,27 ^{AcD}	2,17 ±0,09 ^{Ab}
	12	2,57 ±0,15 ^{Bd}	3,04 ±0,01 ^{Ac}	2,27 ±0,03 ^{BCb}	1,85 ±0,17 ^{Cd}	2,29 ±0,16 ^{BCb}
	18	3,86 ±0,00 ^{Aa}	3,36 ±0,01 ^{Bb}	1,90 ±0,02 ^{Cb}	3,94 ±0,13 ^{Ab}	2,05 ±0,05 ^{Cb}
	24	3,11 ±0,00 ^{ABc}	3,52 ±0,01 ^{Aa}	3,09 ±0,03 ^{ABb}	2,98 ±0,02 ^{ABc}	2,71 ±0,04 ^{Ba}
	48	3,45 ±0,00 ^{ABb}	2,47 ±0,00 ^{Be}	4,38 ±0,64 ^{Aa}	4,74 ±0,11 ^{Aa}	2,69 ±0,04 ^{Ba}
Ácido cítrico	0	3,08 ±0,22 ^{Aa}	3,15 ±0,32 ^{Aa}	2,93 ±0,39 ^{Aa}	2,51 ±0,20 ^{Ab}	2,09 ±0,23 ^{Ab}
	6	3,14 ±0,09 ^{Aa}	2,17 ±0,12 ^{Bb}	2,50 ±0,35 ^{ABa}	2,82 ±0,00 ^{ABa}	2,82 ±0,11 ^{ABa}
	12	<LOD	1,54 ±0,18 ^{ABc}	2,06 ±0,21 ^{Aa}	1,29 ±0,06 ^{Bd}	1,66 ±0,08 ^{ABb}
	18	<LOD	<LOD	<LOD	1,60 ±0,02 ^{Ac}	1,01 ±0,06 ^{Bcd}

	24	<LOD	<LOD	<LOD	0,62 ±0,11 ^{Be}	1,23 ±0,05 ^{Ac}
	48	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0,78 ±0,08 ^d
Ácido succínico	0	<LOD	1,15 ±0,00 ^{Ba}	1,72 ±0,05 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	6	<LOD	0,97 ±0,01 ^{Bb}	1,60 ±0,01 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	12	<LOD	0,92 ±0,01 ^{Bc}	1,51 ±0,01 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	18	<LOD	0,85 ±0,01 ^{Bd}	1,46 ±0,01 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	24	<LOD	0,83 ±0,01 ^{Ad}	1,37 ±0,01 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	48	<LOD	0,55 ±0,01 ^{Ce}	1,40 ±0,22 ^{Ba}	<LOD	<LOD
<i>L. casei</i> L26						
		YC	YP	YPF	GLI	FOS
pH	0	6,04 ±0,01 ^{Ba}	6,06 ±0,00 ^{ABa}	6,08 ±0,01 ^{Aa}	5,88 ±0,00 ^{Ca}	5,90 ±0,01 ^{Ca}
	6	5,89 ±0,01 ^{Ab}	5,65 ±0,00 ^{Bb}	5,57 ±0,01 ^{Cc}	5,39 ±0,00 ^{Eb}	5,51 ±0,01 ^{Db}
	12	5,87 ±0,01 ^{Ab}	5,63 ±0,01 ^{Bb}	5,65 ±0,00 ^{Bb}	4,13 ±0,01 ^{Dd}	5,22 ±0,00 ^{Cc}
	18	5,65 ±0,00 ^{Ad}	5,49 ±0,00 ^{Bc}	5,50 ±0,00 ^{Bd}	4,15 ±0,01 ^{Dd}	4,20 ±0,00 ^{BCd}
	24	5,58 ±0,01 ^{Ae}	5,47 ±0,01 ^{Bc}	5,38 ±0,00 ^{Ce}	4,19 ±0,00 ^{Dc}	4,04 ±0,01 ^{Ee}
	48	5,69 ±0,01 ^{Ac}	5,39 ±0,01 ^{Bd}	5,22 ±0,00 ^{Cf}	4,21 ±0,00 ^{Dc}	3,97 ±0,01 ^{Ef}
Ácido láctico	0	1,23 ±0,04 ^{Ad}	1,38 ±0,09 ^{Ad}	1,39 ±0,17 ^{Af}	<LOD	0,74 ±0,05 ^{Bf}
	6	1,95 ±0,14 ^{Cc}	2,87 ±0,00 ^{Bc}	3,08 ±0,06 ^{ABe}	1,85 ±0,06 ^{Cd}	3,20 ±0,08 ^{Ae}
	12	2,26 ±0,06 ^{Dc}	4,03 ±0,02 ^{Cb}	3,79 ±0,02 ^{Cd}	9,97 ±0,20 ^{Ab}	5,06 ±0,02 ^{Db}
	18	3,77 ±0,06 ^{Cb}	4,34 ±0,01 ^{Cab}	5,66 ±0,09 ^{Bb}	11,20 ±0,09 ^{Aa}	11,28 ±0,25 ^{Ab}
	24	4,25 ±0,19 ^{Da}	4,75 ±0,32 ^{Da}	5,97 ±0,05 ^{Ca}	11,42 ±0,26 ^{Aa}	8,36 ±0,34 ^{Bc}
	48	4,17 ±0,00 ^{Dab}	4,54 ±0,14 ^{CDab}	5,12 ±0,04 ^{CBc}	5,81 ±0,01 ^{Bc}	16,04 ±0,37 ^{Aa}
Ácido acético	0	2,09 ±0,05 ^{Ac}	2,10 ±0,08 ^{Aa}	1,47 ±0,05 ^{Be}	0,76 ±0,01 ^{Df}	1,20 ±0,05 ^{Ce}
	6	2,12 ±0,12 ^{Bc}	2,55 ±0,12 ^{Aa}	2,58 ±0,02 ^{Ad}	1,04 ±0,00 ^{Ce}	2,60 ±0,05 ^{Ad}
	12	2,02 ±0,03 ^{Cc}	2,93 ±0,01 ^{Aa}	2,85 ±0,02 ^{ABc}	2,82 ±0,01 ^{ABc}	2,70 ±0,07 ^{Bcd}
	18	2,66 ±0,10 ^{Cb}	2,80 ±0,02 ^{Ca}	3,75 ±0,09 ^{Aa}	3,24 ±0,01 ^{Bb}	3,33 ±0,08 ^{Bb}
	24	3,18 ±0,01 ^{Aa}	2,86 ±0,35 ^{Aa}	3,32 ±0,01 ^{Ab}	3,32 ±0,01 ^{Aa}	2,85 ±0,01 ^{Ac}
	48	3,23 ±0,03 ^{Ba}	2,63 ±0,16 ^{Ca}	2,61 ±0,04 ^{Cd}	1,61 ±0,01 ^{Dd}	5,41 ±0,04 ^{Aa}
Ácido cítrico	0	3,35 ±0,07 ^{Aa}	3,23 ±0,09 ^{Aa}	1,88 ±0,08 ^{Ba}	0,92 ±0,00 ^D	1,49 ±0,09 ^C

	6	3,14 ±0,07 ^{Aa}	2,67 ±0,13 ^{Bb}	1,70 ±0,05 ^{bc}	<LOD	<LOD
	12	2,40 ±0,19 ^b	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	18	1,72 ±0,10 ^c	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	24	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	48	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Ácido succínico	0	0,22 ±0,06 ^{Ba}	1,05 ±0,05 ^{Aa}	1,01 ±0,13 ^{Ae}	<LOD	<LOD
	6	0,18 ±0,06 ^{Ca}	0,99 ±0,10 ^{Bab}	1,33 ±0,04 ^{Abc}	<LOD	<LOD
	12	0,10 ±0,02 ^{Ca}	0,91 ±0,04 ^{Bab}	1,26 ±0,04 ^{Acd}	<LOD	<LOD
	18	0,19 ±0,03 ^{Ca}	0,78 ±0,01 ^{Babc}	1,68 ±0,05 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	24	0,22 ±0,01 ^{Ca}	0,78 ±0,05 ^{Babc}	1,49 ±0,03 ^{Aab}	<LOD	<LOD
	48	0,26 ±0,07 ^{Ca}	0,60 ±0,05 ^{Bc}	1,06 ±0,06 ^{Ade}	<LOD	<LOD
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12						
		YC	YP	YPF	GLI	FOS
pH	0	5,76 ±0,00 ^{Aa}	5,70 ±0,00 ^{Ba}	5,68 ±0,01 ^{Ba}	5,39 ±0,01 ^{Da}	5,45 ±0,00 ^{Ca}
	6	5,45 ±0,01 ^{Ab}	5,22 ±0,00 ^{Bb}	5,21 ±0,00 ^{Bb}	4,91 ±0,00 ^{Db}	4,97 ±0,01 ^{Cb}
	12	4,66 ±0,01 ^{Ac}	4,45 ±0,01 ^{Bc}	4,43 ±0,00 ^{Bd}	3,63 ±0,01 ^{Dc}	4,61 ±0,00 ^{Cf}
	18	4,80 ±0,00 ^{Ad}	4,56 ±0,01 ^{Ce}	4,39 ±0,01 ^{De}	3,45 ±0,00 ^{Ed}	4,71 ±0,01 ^{Be}
	24	4,79 ±0,01 ^{Ad}	4,55 ±0,00 ^{Ce}	4,38 ±0,00 ^{De}	3,35 ±0,01 ^{Ee}	4,75 ±0,01 ^{Bd}
	48	4,81 ±0,01 ^{Ad}	4,59 ±0,00 ^{Bd}	4,52 ±0,01 ^{Cc}	3,27 ±0,00 ^{Df}	4,81 ±0,01 ^{Ac}
Ácido láctico	0	1,28 ±0,08 ^{CDe}	0,28 ±0,01 ^{Dd}	4,89 ±0,07 ^{Bd}	8,17 ±0,79 ^{Ad}	2,98 ±0,05 ^{Ca}
	6	2,89 ±0,00 ^{Bd}	3,89 ±0,12 ^{ABc}	4,22 ±0,06 ^{Ae}	4,01 ±0,42 ^{Ae}	1,78 ±0,01 ^{Cc}
	12	6,51 ±0,40 ^{BCa}	6,88 ±0,08 ^{BCa}	7,49 ±0,03 ^{Ba}	12,12 ±0,67 ^{Ac}	3,18 ±0,18 ^{Da}
	18	4,99 ±0,05 ^{BCb}	6,39 ±0,15 ^{Bb}	6,18 ±0,01 ^{Bc}	16,70 ±0,89 ^{Ab}	3,24 ±0,00 ^{Ca}
	24	4,91 ±0,01 ^{Cb}	6,39 ±0,03 ^{Bb}	6,96 ±0,01 ^{Bb}	13,20 ±0,32 ^{Ac}	3,08 ±0,01 ^{Da}
	48	4,10 ±0,03 ^{Cc}	6,88 ±0,12 ^{Ba}	6,97 ±0,13 ^{Bb}	20,77 ±0,91 ^{Aa}	2,41 ±0,01 ^{Db}
Ácido acético	0	2,23 ±0,10 ^{Cc}	2,07 ±0,01 ^{Cb}	3,13 ±0,06 ^{Bbc}	2,11 ±0,00 ^{Cc}	3,43 ±0,13 ^{Aa}
	6	2,37 ±0,01 ^{Bc}	2,17 ±0,02 ^{Cb}	2,98 ±0,05 ^{Ac}	1,93 ±0,01 ^{Dd}	1,65 ±0,01 ^{Ee}
	12	4,24 ±0,24 ^{Aa}	4,35 ±0,16 ^{Aa}	3,51 ±0,02 ^{Bab}	2,09 ±0,01 ^{Dc}	3,11 ±0,06 ^{Cc}
	18	4,07 ±0,07 ^{Ba}	4,22 ±0,06 ^{Aa}	2,70 ±0,01 ^{Dc}	2,20 ±0,00 ^{Eb}	3,28 ±0,01 ^{Cb}

Ácido cítrico	24	4,05 ±0,00 ^{Aa}	4,13 ±0,10 ^{Aa}	2,77 ±0,03 ^{Cc}	1,54 ±0,01 ^{De}	3,33 ±0,00 ^{Bb}
	48	3,52 ±0,08 ^{Bb}	4,58 ±0,14 ^{Aa}	3,71 ±0,20 ^{Ba}	2,37 ±0,01 ^{Ca}	2,77 ±0,01 ^{Cd}
	0	3,21 ±0,02 ^{AB}	3,23 ±0,00 ^{Aa}	2,16 ±0,04 ^{BCc}	1,82 ±0,02 ^{Ca}	2,50 ±0,01 ^{ABCab}
	6	0,78 ±0,01 ^{Cb}	2,86 ±0,03 ^{Ab}	3,11 ±0,07 ^{Aa}	1,85 ±0,10 ^{Ba}	2,48 ±0,38 ^{ABb}
	12	<LOD	<LOD	2,74 ±0,07 ^{Bb}	1,60 ±0,08 ^{Cab}	3,24 ±0,10 ^{Aa}
	18	<LOD	<LOD	1,15 ±0,01 ^{Be}	1,31 ±0,26 ^{Babc}	2,90 ±0,01 ^{Aab}
	24	<LOD	<LOD	1,48 ±0,01 ^{Ad}	0,77 ±0,05 ^{Bc}	<LOD
Ácido succínico	48	<LOD	<LOD	1,64 ±0,05 ^{Ad}	0,89 ±0,25 ^{Bbc}	<LOD
	0	0,27 ±0,01 ^{Bd}	0,17 ±0,00 ^{Cb}	1,19 ±0,02 ^{Abc}	<LOD	<LOD
	6	0,31 ±0,01 ^{Bd}	0,11 ±0,01 ^{Cb}	1,33 ±0,07 ^{Ab}	<LOD	<LOD
	12	0,35 ±0,01 ^{Cc}	1,01 ±0,03 ^{Ba}	2,30 ±0,00 ^{Aa}	<LOD	<LOD
	18	0,42 ±0,01 ^{Cb}	1,03 ±0,08 ^{Aa}	0,74 ±0,01 ^{Bd}	<LOD	<LOD
	24	0,45 ±0,01 ^{Ca}	0,98 ±0,03 ^{Aa}	0,85 ±0,05 ^{Bd}	<LOD	<LOD
	48	0,44 ±0,00 ^{Bab}	1,08 ±0,01 ^{Aa}	1,13 ±0,05 ^{Ac}	<LOD	<LOD

A–E: diferentes letras maiúsculas na mesma linha para a mesma cepa probiótica representam diferenças ($p < 0,05$) entre amostras, baseado no teste Tukey; a-f: diferentes letras minúsculas na mesma coluna para o mesmo parâmetro representam diferenças ($p < 0,05$) entre as horas, baseado no teste Tukey. YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel, GLI: glicose, FOS: frutooligosacarídeos, <LOD: abaixo do limite de detecção.

4.5.2 Fermentação fecal

O efeito dos iogurtes caprinos (YC, YP e YPF) digeridos na microbiota intestinal foi avaliado através da análise da população bacteriana nas fezes humanas por PCR e da atividade metabólica.

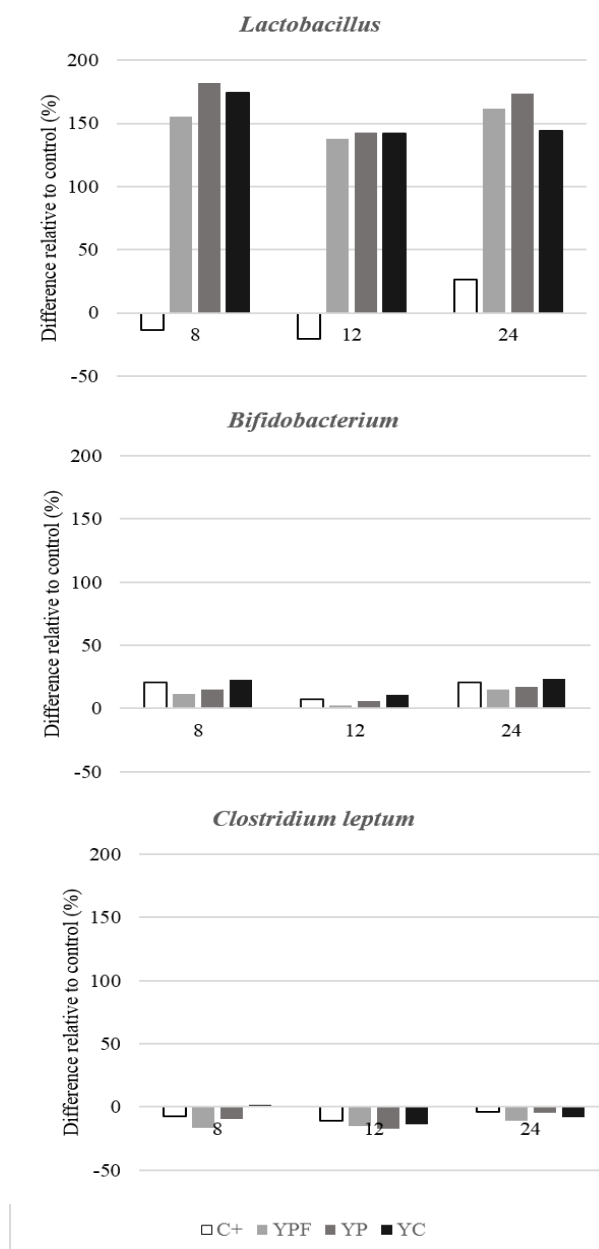
4.5.2.1 Grupos bacterianos da microbiota intestinal

Na Figura 11 são apresentados os resultados da diferença relativa entre os grupos da microbiota das amostras analisadas e o controle (apenas o meio basal) durante 8, 12 e 24 horas de fermentação. O YPF, YP e YC, assim como o FOS, promoveram um efeito positivo no *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp., os quais representam grupos bacterianos benéficos relacionados com a saúde intestinal (ANDRADE et al., 2020). No *Lactobacillus* spp. o efeito dos iogurtes foi maior que o do FOS, com uma promoção do crescimento mais que 100% superior, principalmente com o YPF e YP. Com relação ao *Bifidobacterium* spp., assim como o FOS, os iogurtes promoveram um crescimento de cerca de 25% nesse grupo após 24 horas.

Os compostos fenólicos provenientes da incorporação dos produtos de uva no YP e YPF podem ter contribuído para o efeito positivo nesses grupos bacterianos, uma vez que os polifenóis são associados com um efeito estimulador no aumento do *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino (MA; CHEN, 2020). Muitos grupos de bactérias intestinais, incluindo *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp., exibem atividade da β -glucosidase, uma enzima relacionada com o catabolismo de polifenóis pela microbiota, indicando que tais bactérias podem metabolizar esses compostos (FARIA et al., 2014).

Por outro lado, tanto o FOS como os iogurtes tiveram um efeito negativo no crescimento do *Clostridium leptum*. A estimulação específica do *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. em oposição ao efeito negativo no *Clostridium leptum* indica a seletiva utilização das amostras, um dos critérios exigidos para caracterizar um prebiótico (GIBSON et al., 2017). A diferença relativa ao controle fornece uma excelente representação do comportamento da microbiota em relação às amostras (CAMPOS et al., 2020). Desta forma, foi demonstrado que os iogurtes promoveram um efeito positivo na microbiota.

Figura 11 – Diferenças relativas ao controle negativo da fermentação de fezes humanas do iogurte caprino elaborado ou não com produtos de uva Isabel durante 24 h de fermentação.



YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel, C+: frutooligosacarídeos (FOS).

Como pode ser observado na Figura 12, em relação ao *Lactobacillus*, o FOS pareceu não promover o crescimento desse grupo, apresentando resultados similares ($p \geq 0,05$) ao controle negativo. Já o YPF, YP e YC apresentaram resultados similares

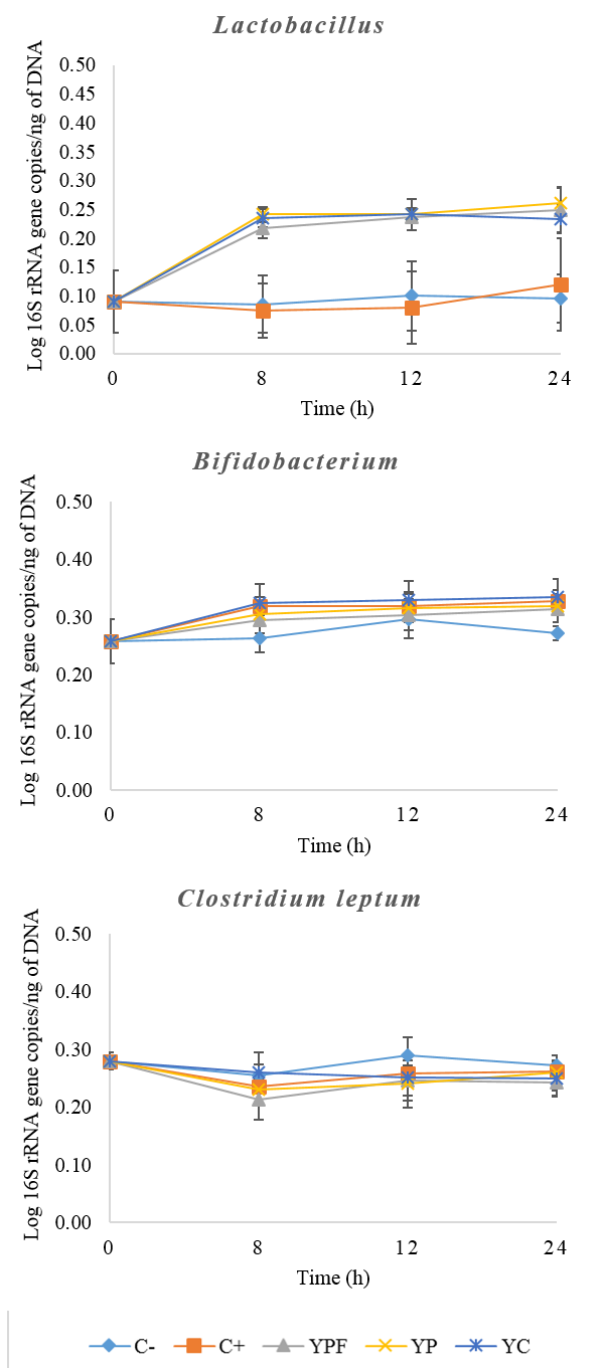
($p \geq 0,05$) entre si e superiores ($p < 0,05$) ao controle negativo e ao FOS. Para o *Bifidobacterium*, os iogurtes apresentaram comportamento similar ao FOS com aumento ($p < 0,05$) dos valores ao longo do período de fermentação e crescimento superior ($p < 0,05$) ao controle negativo. *Lactobacillus* são mais restritivos quanto aos substratos que são capazes de fermentar quando comparados ao *Bifidobacterium*, e, também, são mais exigentes, além de carboidratos necessitam de outros compostos, como aminoácidos e peptídeos (ANDRADE et al., 2020).

Os iogurtes possuem uma excelente composição proteica (CLARK; GARCÍA, 2019), o que pode ter contribuído para o estímulo positivo que o YPF, YP e YC tiveram no *Lactobacillus* em oposição ao que foi observado para o FOS. A combinação de proteínas e carboidratos no intestino pode contribuir para a saúde intestinal, uma vez que o nitrogênio proveniente da proteína dietética é fundamental para metabolização de carboidratos e crescimento da microbiota intestinal (ZHANG; JU; ZUO, 2018).

No que diz respeito ao *Clostridium leptum*, observa-se uma tendência decrescente entre o início e o fim da fermentação, contudo não foram constatadas diferenças significativas entre as amostras e o controle ($p \geq 0,05$). Esse resultado pode estar relacionado com a variação dos valores entre os doadores, uma vez que características como dieta, composição da microbiota e fatores genéticos são individuais, e, por isso, respondem de forma variável a diferentes substratos prebióticos (GIBSON et al., 2017).

Os resultados de pH, consumo de açúcares e produção de ácidos orgânicos relacionados com a atividade metabólica dos grupos bacterianos durante a fermentação fecal são apresentados na Tabela 16. Houve uma tendência decrescente do pH ao longo da fermentação para o FOS e os iogurtes, enquanto o controle negativo não apresentou alterações ($p \geq 0,05$). O pH apresentou menores valores ($p < 0,05$) para o FOS entre os tempos 8 e 24 h, enquanto os iogurtes apresentaram valores inferiores ($p < 0,05$) ao controle negativo durante todo o período de fermentação (Tabela 16).

Figura 12 – Número de cópias de DNA por PCR em tempo real durante período de fermentação dos iogurtes caprinos elaborados ou não com produtos de uva Isabel durante 24 h de fermentação.



YC: iogurte caprino sem produtos de uva; YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel, C+: frutooligosacarídeos (FOS), C-: apenas meio base.

4.5.2.2 Atividade metabólica da microbiota intestinal

A frutose foi encontrada em quantidades similares ($p \geq 0,05$) no meio com FOS e nos meios com iogurtes adicionados de produtos de uva (YP e YPF). Os meios com YC, YP, e YPF apresentaram concentrações elevadas de lactose, com as maiores concentrações iniciais observadas no meio com YC ($p < 0,05$), em comparação com os iogurtes YP e YPF, como já era esperado, visto que a presença dos produtos de uva no YP e YPF diminui a concentração dos compostos próprios do leite, como a lactose, nesses iogurtes (SILVA et al., 2017). A glicose também foi encontrada nos meios com iogurte, possivelmente devido à quebra da lactose pelas bactérias. Esses açúcares foram quase ou totalmente metabolizados ao longo das 24 h de fermentação em todos os meios (Tabela 16), confirmando a utilização como substrato pelas bactérias da microbiota. No controle negativo não foram encontrados açúcares.

Os ácidos láctico e acético foram os encontrados em maior quantidade nos meios com iogurte, assim como no com FOS, e, de modo geral, com concentrações similares ($p \geq 0,05$) entre os iogurtes. Eles tiveram aumento das suas concentrações ao longo do período de fermentação, coincidindo com a metabolização dos açúcares e corroborando com o metabolismo dos grupos bacterianos.

Os ácidos láctico e acético são importantes produtos do metabolismo fermentativo do *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (ALBUQUERQUE et al., 2020; HOLSHER, 2017), e o aumento em suas concentrações pode ser associado com o impacto positivo que os iogurtes, assim como o FOS, demonstraram nesses grupos (Fig. 11). O ácido láctico é considerado um produto intermediário, e, sua utilização pela microbiota intestinal ocorre, geralmente, para a produção de outros ácidos orgânicos (DUARTE et al., 2017; MASSA et al., 2020).

Muitos microrganismos interagem entre si e são mutuamente dependentes, uma vez que os produtos finais do metabolismo de um podem se tornar substrato para outro, ocorrendo alimentação metabólica cruzada (CARVALHO et al., 2019).

Tabela 16 – Valores de pH, conteúdo de açúcares (mg/mL) e ácidos orgânicos(mg/mL) durante fermentação do iogurte elaborado ou não com preparado e farinha de uva Isabel, FOS e controle negativo.

Parâmetro	Tempo (h)	Controle negativo	FOS	YC	YP	YPF
pH	0	6,54 ±0,02 ^{Aa}	6,46 ±0,02 ^{Ba}	6,13 ±0,02 ^{Ea}	6,25 ±0,02 ^{Ca}	6,20 ±0,03 ^{Da}
	8	6,26 ±0,16 ^{Ab}	3,82 ±0,31 ^{Cb}	4,82 ±0,38 ^{Bb}	4,58 ±0,42 ^{Bb}	4,59 ±0,38 ^{Bb}
	12	6,34 ±0,14 ^{Aab}	3,56 ±0,23 ^{Cbc}	4,53 ±0,27 ^{Bb}	4,23 ±0,24 ^{Bb}	4,28 ±0,25 ^{Bb}
	24	6,48 ±0,09 ^{Aab}	3,30 ±0,20 ^{Dc}	4,65 ±0,26 ^{Bb}	4,16 ±0,23 ^{Cb}	4,18 ±0,22 ^{BCb}
Glicose	0	ND	ND	0,90 ±0,24 ^{Ba}	2,80 ±0,42 ^{Aa}	2,43 ±0,30 ^{Aa}
	8	ND	ND	0,71 ±0,13 ^{Ba}	2,70 ±0,42 ^{Aa}	2,33 ±0,30 ^{Aa}
	12	ND	ND	<LOD	<LOD	<LOD
	24	ND	ND	<LOD	<LOD	<LOD
Frutose	0	ND	1,51 ±0,37 ^{Aa}	ND	2,00 ±0,26 ^{Aa}	1,91 ±0,13 ^{Aa}
	8	ND	0,93 ±0,35 ^{Aab}	ND	1,90 ±0,26 ^{Aa}	1,81 ±0,13 ^{Aa}
	12	ND	0,48 ±0,30 ^{Ab}	ND	1,35 ±0,31 ^{Ab}	1,18 ±0,37 ^{Ab}
	24	ND	0,44 ±0,18 ^{Ab}	ND	0,40 ±0,14 ^{Ac}	0,60 ±0,31 ^{Ab}
Lactose	0	ND	ND	5,42 ±0,36 ^{Aa}	3,32 ±0,51 ^{Ba}	3,45 ±0,17 ^{Ba}
	8	ND	ND	0,91 ±0,36 ^{Bb}	3,20 ±0,51 ^{Aa}	3,30 ±0,17 ^{Aa}
	12	ND	ND	<LOD	0,76 ±0,17 ^{Ab}	0,39 ±0,16 ^{Ab}
	24	ND	ND	<LOD	<LOD	<LOD
Ácido láctico	0	ND	0,48 ±0,01 ^{Bb}	1,13 ±0,12 ^{Ab}	0,97 ±0,14 ^{Ac}	1,04 ±0,13 ^{Ac}
	8	ND	1,57 ±0,45 ^{Bb}	1,84 ±0,34 ^{Bb}	4,09 ±0,69 ^{Aa}	4,17 ±0,68 ^{Aa}
	12	ND	2,35 ±0,30 ^{Ab}	2,92 ±0,56 ^{Aa}	2,09 ±0,43 ^{Ab}	2,34 ±0,50 ^{Ab}
	24	ND	4,05 ±0,80 ^{Aa}	2,99 ±0,62 ^{Aa}	2,96 ±0,65 ^{Aab}	3,19 ±0,41 ^{Aab}

Ácido acético	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	8	0,20 ±0,03 ^{Cb}	1,24 ±0,09 ^{A^{Bb}}	1,10 ±0,36 ^{Ba}	1,55 ±0,19 ^{Aa}	1,46 ±0,21 ^{ABa}
	12	0,26 ±0,05 ^{Bb}	1,67 ±0,34 ^{Aab}	1,50 ±0,36 ^{Aa}	1,07 ±0,38 ^{Aa}	1,09 ±0,34 ^{Aa}
	24	0,77 ±0,17 ^{Ca}	2,26 ±0,35 ^{Aa}	1,58 ±0,28 ^{Ba}	1,48 ±0,34 ^{Ba}	1,40 ±0,29 ^{BCa}
Ácido succínico	0	ND	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	8	ND	0,24 ±0,01 ^{Aa}	0,30 ±0,07 ^{Aa}	0,61 ±0,28 ^{Aa}	0,21 ±0,05 ^{Aa}
	12	ND	0,22 ±0,01 ^{Aa}	0,48 ±0,06 ^{Aa}	0,37 ±0,06 ^{Aa}	0,30 ±0,12 ^{Aa}
	24	ND	0,24 ±0,01 ^{Aa}	0,52 ±0,10 ^{Aa}	0,74 ±0,07 ^{Aa}	0,42 ±0,08 ^{Aa}
Ácido propiônico	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	8	<LOD	<LOD	<LOD	1,11 ±0,01 ^{Aa}	0,84 ±0,05 ^{Bb}
	12	0,24 ±0,01 ^{Cb}	0,24 ±0,01 ^{Ca}	0,85 ±0,01 ^{Ab}	0,43 ±0,01 ^{Bc}	0,70 ±0,01 ^{ABc}
	24	0,36 ±0,03 ^{Ba}	0,22 ±0,01 ^{Ba}	1,05 ±0,01 ^{Aa}	0,92 ±0,01 ^{Ab}	1,04 ±0,01 ^{Aa}
Ácido butírico	0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	8	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	12	<LOD	0,37 ±0,01 ^{Aa}	<LOD	0,37 ±0,01 ^{Ab}	0,35 ±0,01 ^{Aa}
	24	0,24 ±0,03 ^C	0,17 ±0,01 ^{Db}	0,20 ±0,02 ^{CD}	0,46 ± 0,01 ^{Aa}	0,35 ±0,01 ^{Ba}

A-E: diferentes letras maiúsculas na mesma linha para a mesma cepa probiótica representam diferenças ($p < 0,05$) entre amostras, baseado no teste Tukey; a-d: diferentes letras minúsculas na mesma coluna para o mesmo parâmetro representam diferenças ($p < 0,05$) entre as horas, baseado no teste Tukey.

FOS: frutooligosacarídeos, YC: iogurte caprino sem produtos de uva Isabel, YP: iogurte caprino com preparado de uva Isabel; YPF: iogurte caprino com preparado e farinha de uva Isabel, <LOD: abaixo do limite de detecção, ND: não detectado.

Alguns ácidos são produtos intermediários do processo de fermentação, como é o caso do láctico e succínico, e são prontamente utilizados no processo de alimentação cruzada. Por exemplo, o ácido láctico pode ser utilizado para síntese de acetato por bactérias redutoras de sulfato, o succínico pode ser utilizado para síntese do propiônico, principalmente por *Bacteroidetes* e alguns *Firmicutes*. Já o butírico pode ser sintetizado utilizando ácido acético, e em menor proporção, também através do láctico por algumas espécies de *Clostridium* em baixas concentrações de glicose (PAYLING et al., 2020).

As amostras também apresentaram em menores concentrações os ácidos succínico, propiônico e butírico, os quais só puderam ser quantificados após 8 ou 12 h de fermentação, uma vez que esses ácidos podem ser formados a partir de vias metabólicas que utilizam o acético e o láctico como precursores. Os ácidos acético, butírico e propiônico são AGCCs, eles são absorvidos pelas células epiteliais e metabolizados pelo hospedeiro (PAYLING et al., 2020), por isso são reconhecidos por estarem relacionados com mecanismos que propiciam benefícios à saúde (GIBSON et al., 2017). O butírico e propiônico estão associados com a regulação da fisiologia intestinal e com a função imunológica, enquanto o acético atua como substrato na lipogênese e gliconeogênese (MARCHESI et al., 2016). Os únicos compostos encontrados no controle negativo foram os ácidos acético, propiônico e butírico, contudo, em proporções bem inferiores ($p < 0,05$) aos demais meios, especialmente do acético.

A produção dos AGCCs está diretamente relacionada com a amplitude dos processos de fermentação dos substratos. Esses ácidos podem ter diversos benefícios à saúde, a exemplo da ação na função intestinal, modulação da inflamação e propriedades anti-carcinogênicas (PAYLING et al., 2020). Sua presença no cólon tem sido relacionado a efeitos benéficos à saúde, como melhora nas respostas imunológicas e inflamatórias, aumento da biodisponibilidade de nutrientes, além de estar associada com a inibição de patógenos entéricos (ALBUQUERQUE et al., 2020; FREIRE et al., 2017; GIBSON et al., 2017).

Desta forma, a associação entre o efeito positivo no crescimento de grupos bacterianos benéficos com a diminuição do pH, consumo de açúcares e aumento dos AGCCs caracterizam os iogurtes como potenciais prebióticos.

5 CONCLUSÕES

As diferentes formulações do preparado e da farinha de uva Isabel apresentaram composições semelhantes, diferindo basicamente no teor e perfil de açúcares. Com relação às farinhas, pode-se destacar o relevante conteúdo de fibras demonstrado pelas mesmas. Esses produtos elaborados a partir da uva Isabel também exibiram um perfil interessante de compostos fenólicos, os quais tiveram boa bioacessibilidade, além de maiores valores de antocianinas e atividade antioxidante que a uva *in natura*.

Em adição, a utilização dos adoçantes naturais não prejudicou o potencial efeito prebiótico exibido pelo preparado e pela farinha, visto que tanto as formulações com sacarose quanto as com agave e xilitol demonstraram efeito benéfico no crescimento de cepas probióticas isoladas. Dessa forma, o processamento teve efeito positivo nesses produtos, podendo favorecer as propriedades benéficas à saúde que podem ser atribuídas a eles e sugerir sua potencial utilização como ingredientes funcionais em alimentos.

A incorporação dos produtos de uva Isabel aos iogurtes caprinos elaborados com adição de *L. acidophilus* resultou em um alimento com perfil interessante de compostos fenólicos e uma elevada atividade antioxidante. Todos os iogurtes exibiram contagens adequadas do probiótico *L. acidophilus*, com destaque ao fim do armazenamento para as contagens da formulação YPF, sugerindo um efeito positivo da presença da farinha de uva Isabel na viabilidade desse microrganismo. Além de que, a adição dos produtos de uva Isabel também aumentou a aceitação desse iogurte pelos consumidores.

O processo de digestão teve uma elevada influência na capacidade antioxidante dos iogurtes, com valores mais altos nas etapas do estômago e intestino para ambos os sistemas com ou sem enzimas, porém com valores mais elevados para o primeiro. Durante a digestão foi observada uma quebra das proteínas em pequenos peptídeos, o que pode ter levado à liberação de polifenóis durante a digestão gastrointestinal, indicando a influência tanto dos fenólicos como dos peptídeos no potencial antioxidante dos iogurtes.

Os iogurtes, especialmente o YP e YPF, foram utilizados pelas cepas probióticas estudados isoladamente, assim como pela microbiota intestinal, promovendo o aumento de grupos bacterianos específicos e AGCCs relacionados com benefícios à saúde. Esse resultado indica a contribuição dos compostos fenólicos provenientes dos produtos de uva no efeito benéfico que os iogurtes desempenharam na modulação dos grupos bacterianos benéficos da microbiota intestinal humana após digestão gastrointestinal *in vitro*. Apesar desses efeitos positivos exibidos pelos iogurtes, estudos *in vivo* devem ser realizados para avaliar o impacto das variações desses grupos bacterianos nos seres humanos.

Com base nisso, pode-se dizer que a incorporação do preparado e da farinha de uva Isabel ao iogurte caprino probiótico resulta em um novo produto com potencial alegação funcional e efeitos positivos à saúde humana.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods: a review. **Food Chemistry**, v. 152, n. 1, p. 46–55, 2014.
- ALBUQUERQUE, J. G. F.; ASSIS, V. L.; ALMEIDA, A. J. P. O.; BASÍLIO, I. J. L. D.; LUCIANO, M. N.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; ARAÚJO, I. G. A.; VERAS, R. C.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A. Antioxidant and vasorelaxant activities induced by northeastern Brazilian fermented grape skins. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 376, p. 1–8, 2017.
- ALBUQUERQUE, T. M. R.; BORGES, C. W. P.; CAVALCANTI, M. T.; LIMA, M. S.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. **Food Bioscience**, v. 36, n. 1, p. 100614, 2020.
- ALENISAN, M. A.; ALQATTAN, H. H.; TOLBAH, L. S.; SHORI, A. B. Antioxidant properties of dairy products fortified with natural additives: A review. **Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences**, v. 24, p. 101–106, 2017.
- ALEXANDRE, E. M.; SILVA, S.; SANTOS, S. A.; SILVESTRE, A. J.; DUARTE, M. F.; SARAIVA, J. A.; PINTADO, M. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. **Food Research International**, v. 115, n. 1, p. 167–176, 2019.
- ALMINGER, M.; AURA, A. M.; BOHN, T.; DUFOUR, C.; EL, S. N.; GOMES, A.; SANTOS, C. N. *In vitro* models for studying secondary plant metabolite digestion and bioaccessibility. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 413–436, 2014.
- AKESOWAN, A. Optimization of textural properties of konjac gels formed with K-carrageenan or xanthan and xylitol as ingredients in jelly drink processing. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 39, n. 1, p. 1735–1743, 2015.
- American Public Health Association [APHA]. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed., Washington, 2001.
- Association of Official Analytical Chemists - International [AOAC]. **Official Methods of Analysis**. 20th ed. AOAC, Gaithersburg, MD, USA, 2016.
- AZEVEDO, P. O. S.; ALIAKBARIAN, B.; CASAZZA, A. A.; LEBLANC, J. G.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, R. P. S. (2018). Production of fermented skim milk supplemented with different grape pomace extracts: Effect on viability and acidification performance of probiotic cultures. **PharmaNutrition**, 6, 64–68.
- BALL, S.; BULLOCK, S.; LLOYD, L.; MAPP, K. P.; EWEN, A. Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography.

Agilent Hi-Plex Columns Applications Compendium. Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA, 2011.

BATISTA, K. S.; ALVES, A. F.; LIMA, M. D. S.; SILVA, L. A.; LINS, P. P.; GOMES J. A. S.; SILVA, A. S.; TOSCANO, L. T.; MEIRELES, B. R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; CONCEIÇÃO, M. L.; SOUZA, E. L.; AQUINO, J. S. Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 1, p. 30-41, 2018.

BENDER, A. B. B.; LUVIELMO, M. M.; LOUREIRO, B. B.; SPERONI, C. S.; BOLIGON, A. A.; SILVA, L. P.; PENNA, N. G. Obtention and characterization of grape skin flour and its use in an extruded snack. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 19, n. 10, p. 1–10, 2016.

BERTOLINO, M.; BELVISO, S.; DAL BELLO, B.; GHIRARDELLO, D.; GIORDANO, M.; ROLLE, L.; GERBI, V.; ZEPPA, G. Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 1145–1154, 2015.

BLAIOTTA, G.; GATTA, B.; CAPUA, M.; LUCCIA, A.; COPPOLA, R.; APONTE, M. Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic Lactobacillus strains under gastrointestinal tract conditions. **Food Microbiology**, v. 36, n. 1, p. 161–169, 2013.

BRANDÃO, M. P.; ANJOS, V. C.; BELL, M. J. V. Time resolved fluorescence of cow and goat milk poder. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 171, n. 1, p. 193–199, 2017.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, n. 281, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 263, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 22 set. 2005. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 54, de 12 novembro de 2012. Regulamento técnico Mercosul sobre informação nutricional complementar. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 12 nov. 2012.

BOAS, A. C. V.; HENRIQUE, P. C.; LIMA, L. C. O.; DECARLOS NETO, A. Antioxidant activity, anthocyanins and organic acids content of grape juices produced in southwest of Minas Gerais, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 5, p. 480–486, 2014.

BOHN, T. Dietary factors affecting polyphenol bioavailability. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 7, p. 429–452, 2014.

BORSATO-MOYSES, J.; CARVALHO, I. F.; HOFFMANN, F. L. Avaliação físico-química do leite pasteurizado tipo C produzido e comercializado na região de Tangará da Serra – MT, Brazil – Case study. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 64, p. 22–27, 2009.

BURIN, V. M.; FERREIRA-LIMA, N. E.; PANCERI, C. P.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Vitis vinifera* and *Vitis labrusca* grapes: Evaluation of different extraction methods. **Microchemical Journal**, v. 114, n. 1, p. 155–163, 2014.

CAMPOS, D. A.; COSCUETA, E. R.; VILAS-BOAS, A. A.; SILVA, S.; TEIXEIRA, J. A.; PASTRANA, L. M.; PINTADO, M. M. Impact of functional flours from pineapple by-products on human intestinal microbiota. **Journal of Functional Foods**, v. 67, n. 1, p. 103830, 2020.

CARVALHO, N. M.; WALTON, G. E.; POVEDA, C. G.; SILVA, S. N.; AMORIM, M.; MADUREIRA, A. R.; PINTADO, M. E.; GIBSON, G. R.; JAUREGI, P. Study of *in vitro* digestion of *Tenebrio molitor* flour for evaluation of its impact on the human gut microbiota. **Journal of Functional Foods**, v. 59, n. 1, p. 101–109, 2019.

CHATTOPADHYAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Artificial sweeteners – a review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 4, p. 611–621, 2014.

CILLA, A.; BOSCH, L.; BARBERÁ, R.; ALEGRÍA, A. Effect of processing on the bioaccessibility of bioactive compounds – a review focusing on carotenoids, minerals, ascorbic acid, tocopherols and polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 68, n. 1, p. 3–15, 2018.

CLARK, S.; GARCÍA, M. B. M. A 100-Year Review: Advances in goat milk research. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10026–10044, 2017.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION [CODEX]. **Codex Alimentarius Guidelines on Nutrition Labeling CAC/GL 2–1985 as Last Amended 2010**. Rome: FAO, 2010.

COELHO, E. M.; PADILHA, C. V. S.; MISKINIS, G. A.; SÁ, A. G. B.; PEREIRA, G. E.; AZEVÊDO, L. C.; LIMA, M. L. Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 66, n. 1, p. 160–167, 2018.

COSTA, M. P.; FRASAO, B. S.; SILVA, A. C.; FREITAS, M. Q.; FRANCO, R. M.; CONTE-JUNIOR, C. A. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on colour, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 5995–6003, 2015.

COSTA, R. G.; BELTRÃO FILHO, E. M.; SOUSA, S.; CRUZ, G. R. B.; QUEIROGA, R. C. R. E.; CRUZ, E. N. Physicochemical and sensory characteristics of yoghurts made from goat and cow milk. **Animal Science Journal**, v. 87, p. 703–709, 2016.

COSTA, J. R.; AMORIM, M.; VILAS-BOAS, A.; TONON, R. V.; CABRAL, L. M. C.; PASTRANA, L.; PINTADO, M. Impact of: In vitro gastrointestinal digestion on the chemical composition, bioactive properties, and cytotoxicity of *Vitis vinifera* L. cv. Syrah grape pomace extract. **Food & Function**, v. 10, n. 4, p. 1856–1869, 2019.

DANTAS, A. M.; MAFALDO, I. M.; OLIVEIRA, P. M. L.; LIMA, M. S.; MAGNANI, M.; BORGES, G. S. C. Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. **Food Chemistry**, v. 274, n. 1, p. 202–214, 2019.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC–fluorescein) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48–54, 2004.

DUARTE, F. N. D.; RODRIGUES, J. B.; LIMA, M. C.; LIMA, M. S.; PACHECO, M. T. B.; PINTADO, M. M. E.; AQUINO, J. S.; SOUZA, E. L. Potential prebiotic properties of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) agro-industrial byproduct on *Lactobacillus* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 1, p. 3712–3719, 2017.

DUTRA, R. L.; DANTAS, A. M.; MARQUES, D. A.; BATISTA, J. D. F.; MEIRELES, R. L. A.; CORDEIRO, A. M. T. M.; MAGNANI, M.; BORGES, G. S. C. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 100, n. 1, p. 650–657, 2017.

DUTRA, M. C. P.; RODRIGUES, L. L.; OLIVEIRA, D.; PEREIRA, G. E.; LIMA, M. S. Integrated analyses of phenolic compounds and minerals of Brazilian organic and conventional grape juices and wines: Validation of a method for determination of Cu, Fe and Mn. **Food Chemistry**, v. 269, n. 1, p. 157–165, 2018.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R.; FALCÃO, L. D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geleia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637–642, 2007.

FALCÃO, A. P.; CHAVES, E. S.; FALCÃO, L. D.; GAUCHE, C.; BARRETO, P. L. M.; LUIZ, M. T. B. Rheological behavior and color stability of anthocyanins from Merlot (*Vitis vinifera* L.) and Bordô (*Vitis labrusca* L.) grapes in a jam model system. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 1, p. 857–862, 2009.

FAO/WHO. **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**, Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. Canada, 2002. Disponível em:

<http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2017.

FARIA, A.; FERNANDES, I.; NORBERTO, S.; MATEUS, N.; CALHAU, C.. Interplay between anthocyanins and gut microbiota. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 29, 6898–6902, 2014.

FAZILAH, N. F.; ARIFFA, A. B.; KHAYATB, M. E.; RIOS-SOLIS, L.; HALIM, M. Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. **Journal of Functional Foods**, v. 48, n. 387–399, 2018.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A.; WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y.; CAO, B.; ZHANG, F. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. **Food Chemistry**, v. 277, n. 1, p. 238–245, 2019.

FREIRE, F. C.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; ANTONIASSI, R.; CHAVES, A. C. S. D.; 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, n. 1, p. 315–327, 2017.

FERNANDEZ, M. A.; MARETTE, A. Potential Health Benefits of Combining Yogurt and Fruits Based on Their Probiotic and Prebiotic Properties. **Advances in Nutrition**, v. 8, n. 1, p. 155S–64S, 2017.

GAHRUIE, H. H.; ESKANDARI, M. H.; MESBAHI, G.; HANIFPOUR, M. A. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. **Food Science and Human Wellness**, v. 4, n. 1, p. 1–8, 2015.

GAYOSO, L.; CLAERBOUT, A.; 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, n. 1, p. 428–438, 2016.

GARCÍA, V.; ROVIRA, S.; BOUTOIAL, K.; LÓPEZ, M.B. Improvements in goat milk quality: A review. **Small Ruminant Research**, v. 121, n. 1, p. 51-57, 2014.

GIÃO, M. S.; GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; RIVERO-PÉREZ, M. D.; PEREIRA, C. I.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 1, p. 2638–2647, 2007.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K.; AND REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

GIL-SÁNCHEZ, I.; AYUDA-DURÁN, B.; GONZÁLEZ-MANZANO, S.; SANTOS-BUELGA, C.; CUEVA, C.; MARTÍN-CABREJAS, M.; SANZ-BUENHOMBRE, M.; GUADARRAMA, A.; MORENO-ARRIBAS, MV.; BARTOLOMÉ, B. Chemical characterization and *in vitro* colonic fermentation of grape pomace extracts. **Journal of the Science of Food Agricultural**, v. 97, p. 3433–3444, 2017.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Antocyanins: characterization and measurement with uv-visible spectroscopy**. In: Wrolstad, R. E. Current protocols in food analytical chemistry. New York: John Wiley & Sons, 2001.

GOMES, T. M.; TOALDO, I. M.; HAAS, I. C. S.; BURIN, V. M.; CALIARI, V.; LUNA, A. S.; GOIS, J. S.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Differential contribution of grape peel, pulp, and seed to bioaccessibility of micronutrients and major polyphenolic compounds of red and white grapes through simulated human digestion. **Journal of Functional Foods**, v. 52, n. 1, p. 699–708, 2019.

GULLON, B.; PINTADO, M. E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. *In vitro* gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. **Journal of Functional Foods**, v. 19, n. 1, p. 617–628, 2015.

GUNENC, A.; KHOURY, C.; LEGAULT, C.; MIRRASHED, H.; RIJKE, J.; HOSSEINIAN, F. Seabuckthorn as a Novel Prebiotic Source Improves Probiotic Viability 1 in Yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 66, n. 1, p. 490–495, 2016.

GUPTA, K.; ALAM, S. Modeling of thin layer drying kinetics of grape juice concentrate and quality assessment of developed grape leather. **Agricultural Engineering International: CIGR Journal**, v. 16, n. 2, p. 196–207, 2014.

GURAK, P. D.; CABRAL, L. M. C.; ROCHA-LEÃO, M. H. M.; MATTA, V. M.; FREITAS, S. P. Quality evaluation of grape juice concentrated by reverse osmosis. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n. 3, p. 421–426, 2010.

GURAK, P. D.; CABRAL, L. M. C.; ROCHA-LEÃO, M. H. M. Production of Grape Juice Powder Obtained by Freeze drying after Concentration by Reverse Osmosis. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 6, p. 1011–1017, 2013.

GURLER, E. B.; OZBEYLĐ, D.; BUZCU, H.; BAYRAKTAR, S.; CARUS, D.; DAĞ, B.; GERĐS, Y.; JERAL, S.; YEĐEN, B. C. Natural sweetener agave inhibits gastric emptying in rats by a cholecystokinin-2- and glucagon like peptide-1 receptor-dependent mechanism. **Food & Function**, v. 8, n. 2, p. 741–745, 2017.

HAAS, I. C. S.; TOALDO, I. M.; BURIN, V. M.; BORDIGNON-LUIZ, M. T. Extraction optimization for polyphenolic profiling and bioactive enrichment of extractives of non-

pomace residue from grape processing. **Industrial Crops & Products**, v. 112, n. 1, p. 593–601, 2018.

HOLSCHER, H. D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. **Gut Microbes**, v. 8, n. 2, p. 172–184, 2017.

HOOSHMAND, S.; HOLLOWAY, B.; NEMOSECK, T.; COLE, S.; PETRISKO, Y.; HONG, M. Y.; KERN, M. Effects of Agave Nectar versus Sucrose on Weight Gain, Adiposity, Blood Glucose, Insulin, and Lipid Responses in Mice. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 9, p. 1017–1021, 2014.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Censo Agro 2017**. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/agricultura.html?localidade=0&tema=76399>. Acesso em: 20 fev. 2019.

KARNOPP, A. R.; OLIVEIRA, K. G.; ANDRADE, E. F.; POSTINGHER, B. M.; GRANATO, D. Optimization of an organic yogurt based on sensorial, nutritional, and functional perspectives. **Food Chemistry**, v. 233, p. 401–411, 2017.

KATO, C. G.; TONHI, C. D.; CLEMENTE, E. Antocianinas de uvas (*Vitis vinífera* L.) produzidas em sistema convencional. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, n. 2, p. 809–821, 2012.

KEMPERMAN, R. A.; GROSS, G.; MONDOT, S.; POSSEMIERS, S.; MARZORATI, M.; VAN DE WIELE, T.; DORÉ, J.; VAUGHAN, E. E. Impact of polyphenols from black tea and red wine/grape juice on a gut model microbiome. **Food Research International**, v. 53, n. 2, p. 659–669, 2013.

LAGO-VANZELA, E. S.; PROCÓPIO, D. P.; FONTES, E. A. F.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Aging of red wines made from hybrid grape cv. BRS Violeta: Effects of accelerated aging conditions on phenolic composition, color and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 56, n. 1, p. 182–189, 2014.

LAVELLI, V.; HARSHA, P. S. C. S.; MARIOTTI, M.; MARINONI, L.; CABASSI, G. Tuning Physical Properties of Tomato Puree by Fortification with Grape Skin Antioxidant Dietary Fiber. **Food and Bioprocess Technology**, v. 8, n. 1, p. 1668–1679, 2015.

LIMA, K. G. C.; KRUGER, M. C.; BEHRENS, J.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 491–495, 2009.

LIMA, M. D. S.; SILANI, I. S. V.; TOALDO, I. M.; CORREA, L. C.; BIASOTO, A. C. T.; PEREIRA, G. E.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; NINOW, J. L. (2014). Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new

Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food Chemistry**, v. 161, n. 1, p. 94–103, 2014.

LIMA, M. S.; DUTRA, M. C. P.; TOALDO, I. M.; CORREA, L. C.; PEREIRA, G. E.; OLIVEIRA, D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; NINOW, J. L. Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced in industrial scale by different processes of maceration. **Food Chemistry**, v. 188, n. 1, p. 384–392, 2015.

LÓPEZ-OLIVA, M. E.; AGIS-TORRES, A.; GOÑI, I.; MUNOZ-MARTÍNEZ, E. Grape antioxidant dietary fibre reduced apoptosis and induced a pro-reducing shift in the glutathione redox state of the rat proximal colonic mucosa. **British Journal of Nutrition**, v. 103, n. 1, p. 1110–1117, 2010.

MA, G.; CHEN, Y. Polyphenol supplementation benefits human health via gut microbiota: A systematic review via meta-analysis. **Journal of Functional Foods**, v. 66, n. 1, p. 103829, 2020.

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 465–470, 2011.

MADUREIRA, A. R.; CAMPOS, D. A.; GULLON, B.; MARQUES, C.; RODRÍGUEZ-ALCALÁ, L. M.; CALHAU, C.; ALONSO, J. L.; SARMENTO, B.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. Fermentation of bioactive solid lipid nanoparticles by human gut microflora. **Food & function**, v. 7, n. 1, p. 516–529, 2016.

MÄKINEN, K. K. Gastrointestinal Disturbances Associated with the Consumption of Sugar Alcohols with Special Consideration of Xylitol: Scientific Review and Instructions for Dentists and Other Health-Care Professionals. **International Journal of Dentistry**, v. 1, n. 1, p. 1–16, 2016.

MASSA, N. M. L. ; MENEZES, F. N. D. D. ; ALBUQUERQUE, T. M. R. ; OLIVEIRA, S. P. A.; LIMA, M. S.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. S. Effects of digested jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) by-product on growth and metabolism of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* indicate prebiotic properties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 131, n. 1, p. 109766, 2020.

MEILGAARD, M.; CARR, B. T.; CIVILLE, G. V. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. **Boca Raton**: CRC Press, 2007.

MELLADO-MOJICA, E.; LÓPEZ, M. G. Identification, classification, and discrimination of agave syrups from natural sweeteners by infrared spectroscopy and HPAEC-PAD. **Food Chemistry**, v. 167, n. 1, p. 349–357, 2015.

MELO, F. H. C.; MENEZES, F. N. D. D.; SOUSA, J. M. B. S.; LIMA, M. S.; BORGES, G. S. C.; SOUZA, E. L.; MAGNANI, M. Prebiotic activity of monofloral honeys produced by stingless bees in the semi-arid region of Brazilian Northeastern toward

Lactobacillus acidophilus LA-05 and *Bifidobacterium lactis* BB-12. **Food Research International**, v. 128, n. 1, p. 108809, 2020.

MESUROLLE, J.; SAINT-EVE, A.; DÉLÉRIS, I.; SOUCHON, I. Impact of fruit piece structure in yogurts on the dynamics of aroma release and sensory perception. **Molecules**, v. 18, n. 5, p. 6035–6056, 2013.

MINEKUS, M.; ALMINGER, M.; ALVITO, P.; BALANCE, S.; BOHN, T.; BOURLIEU, C.; CARRIÈRE, F.; BOUTROU, R.; CORREDIG, M.; DUPONT, D.; DUFOUR, C.; EGGER, L.; GOLDING, M.; KARAKAYA, S.; KIRKHUS, B.; LE FEUNTEUN, S.; LESMES, U.; MACIERZANKA, A.; MACKIE, A.; MARZE, S.; MCCLEMENTS, D. J.; MÉNARD, O.; RECIO, I.; SANTOS, C. N.; SINGH, R. P.; VEGARUD, G. E.; WICKHAM, M. S.; WEITSCHIES, W.; BRODKORB, A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. **Food & Function**, v. 5, n. 6, p. 1113–1124, 2014.

MORENO, T.; COCERO, M. J.; RODRÍGUEZ-ROJO, S. Storage stability and simulated gastrointestinal release of spray dried grape marc phenolics. **Food and Bioproducts Processing**, v. 112, n. 1, p. 96–107, 2018.

MOSELE, J. I.; MACIÀ, A.; ROMERO, M.; MOTILVA, M.; RUBIÓ, L. Application of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation models to pomegranate products (juice, pulp and peel extract) to study the stability and catabolism of phenolic compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 14, n. 1, p. 529–540, 2015.

MOSELE, J. I.; MACIÁ, A.; ROMERO, M.; MOLTIVA, M. Stability and metabolismo of *Arbutus unedo* bioactive compounds (phenolics and antioxidants) under in vitro digestion and colonic fermentation. **Food Chemistry**, v. 201, n. 1, p. 120–130, 2016.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v. 214, n. 1, p. 308–318, 2017.

MUNDIM, S. A. P. **Elaboração de iogurte funcional com leite de cabra, saborizado com frutos do cerrado e suplementado com inulina**. 2008, 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2008.

NDABIKUNZE, B. K.; MUMBA, F. G.; NGOWI, H.; CHOVE, L.; MONGI, R.; ABDULSUD, I. Development and sensory evaluation of yoghurt flavoured with solar dried fruits. **Journal of Agricultural Science and Food Technology**, v. 3, n. 7, p. 125–131, 2017.

NOORI, N.; HAMED, H.; KARGOZARI, M.; SHOTORBANI, P. M. Investigation of potential prebiotic activity of rye sprout extract. **Food Bioscience**, v. 19, n. 1, p. 121–127, 2017.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; OLIVEIRA, C. E. V.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E.; MADUREIRA, A. R. M. F.; CONCEIÇÃO, M. L.; QUEIROGA, R. C. R. E.; SOUZA, E. L. Addition of probiotic bacteria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bacteria. **Food Research International**, v. 64, n. 1, p. 241–247, 2014.

OLIVEIRA, A.; GOMES, M. H.; ALEXANDRE, E. M. C.; POCAS, F.; ALMEIDA, D. P. F.; PINTADO, M. Phytochemicals preservation in strawberry as affected by pH modulation. **Food Chemistry**, v. 170, n. 1, p. 74–83, 2015a.

OLIVEIRA, A.; ALEXANDRE, E. M. C.; COELHO, M.; LOPES, C.; ALMEIDA, D. P. F.; PINTADO, M. Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: impact on phytochemicals and milk proteins. **Food Chemistry**, v. 171, p. 370–378, 2015b.

OLIVEIRA, C. M.; Barros, A. S.; Ferreira, A. C. S.; Silva, A. M. S. Influence of the Temperature and Oxygen Exposure in Red Port Wine: A Kinetic Approach. **Food Research International**, v. 75, n. 1, p. 337–347, 2015c.

OLIVEIRA, A.; AMARO, A. L.; PINTADO, M. Impact of food matrix components on nutritional and functional properties of fruit-based products. **Current Opinion in Food Science**, v. 22, n. 1, p. 153–159, 2018.

OLSON, D. W.; ARYANA, K. J. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. **LWT–Food Science and Technology**, v. 41, p. 911–918, 2008.

O'SULLIVAN, A. M.; O'GRADY, M. N.; O'CALLAGHAN, Y. C.; SMYTH, T. J.; O'BRIEN, N. M.; KERRY, J. P. Seaweed extracts as potential functional ingredients in yogurt. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 37, p. 293–299, 2016.

PALAFOX-CARLOS, H.; AYALA-ZAVALA, J. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. The Role of Dietary Fiber in the Bioaccessibility and Bioavailability of Fruit and Vegetable Antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, p. R6–15, 2011.

PAYLING, L.; FRASER, K.; LOVEDAY, S. M.; SIMS, I.; ROY, N.; MCNABB, W. The effects of carbohydrate structure on the composition and functionality of the human gut microbiota. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, n. 1, p. 233–248, 2020.

PEREDO, A.G.; BERISTAIN, C.I.; PASCUAL, L.A.; AZUARA, JIMENEZ, E. M. The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic Bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, n. 1, p. 191–196, 2016.

PEŠIĆ, M. B.; MILINČIĆ, D. D.; KOSTIĆ, A. Ž.; STANISAVLJEVIĆ, N. S.; VUKOTIĆ, G. N.; KOJIĆ, M. O.; GAŠIĆ, U. M.; BARAĆ, M. B.; STANOJEVIĆ, S. P.; POPOVIĆ, D. A.; BANJACA, N. R.; TEŠIĆ, Ž. L. In vitro digestion of meat- and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How

are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected? **Food Chemistry**, v. 284, n. 1, p. 28–44, 2019.

PINEDA-VADILLO, C., NAU, F., DUBIARD, C. G., CHEYNIER, V., MEUDEC, E., SANZ-BUENHOMBRE, M., GUADARRAMA, A.; TÓTH, T.; CSAVAJDA, E.; HINGYI, H.; KARAKAYA, S., SIBAKOV, J.; CAPOZZI, F.; BORDONI, A.; GUERIN-DUBIARD, C.; DUPON, D. In vitro digestion of dairy and egg products enriched with grape extracts: Effect of the food matrix on polyphenol bioaccessibility and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 88, Part B, p. 284–292, 2016.

PEŠIĆ, M. B.; MILINČIĆ, D. D.; KOSTIĆ, A. Z.; STANISAVLJEVIĆ, N. S.; VUKOTIĆ, G. N.; KOJIĆ, M. O.; GAŠIĆ, U. M.; BARAĆ, M. B.; STANOJEVIĆ, S. P.; POPOVIĆ, D. A.; BANJAC, N. R.; TEŠIĆ, Z. L. In vitro digestion of meat- and cereal-based food matrix enriched with grape extracts: How are polyphenol composition, bioaccessibility and antioxidant activity affected? **Food Chemistry**, v. 284, n. 1, p. 28–44, 2019.

PINTAĆ, D.; MAJKIĆ, T.; TOROVIĆ, L.; ORČIĆ, D.; BEARA, I.; SIMIN, N.; MIMICA-DUKIĆ, N.; LESJAK, M. Solvent selection for efficient extraction of bioactive compounds from grape Pomace. **Industrial Crops & Products**, v. 111, n. 1, p. 379–390, 2018.

PINTO, J.; SPÍNOLA, V.; LORENT-MARTÍNEZ, E. J. L.; FERNÁNDEZ-DE-CÓRDOVA, M. L.; MOLINA-GARCÍA, L.; CASTILHO, P. C. Polyphenolic profile and antioxidant activities of Madeiran elderberry (*Sambucus lanceolata*) as affected by simulated in vitro digestion. **Food Research International**, v. 100, n. 3, p. 404–410, 2017.

PIZZOLATO, S.; ANDRADA, M.; RINALDONI, A. N.; CAMPDERROS, M. Process for integral use of blueberry. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 4, 2012. <https://doi-org.ez15.periodicos.capes.gov.br/10.1515/1556-3758.2415>.

POZUELO, M. J.; AGIS-TORRES, A.; HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; LÓPEZ-OLIVA, M. E.; MUÑOZ-MARTÍNEZ, E.; ROTGER, R.; GOÑI, I. Grape Antioxidant Dietary Fiber Stimulates *Lactobacillus* Growth in Rat Cecum. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 2, p. H59-62, 2012.

PUNITHAVATHI, V. R.; PRINCE, P. S. M.; KUMAR, R.; SELVAKUMARI, J. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 650, n. 1, p. 465–471, 2011.

QUIRÓS-SAUCEDA, A. E.; PALAFOX-CARLOS, H.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; AYALA-ZAVALA, J. F.; BELLO-PEREZ, L. A.; ÁLVAREZ-PARRILLA, E.; DE LA ROSA, L. A.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. **Food & Function**, v. 5, n. 1, p. 1063–1072, 2014.

RAMNANI, P.; COSTABILE, A.; BUSTILLO, A. G. R.; GIBSON, G. R. A randomised, double-blind, cross-over study investigating the prebiotic effect of agave fructans in healthy human subjects. **Journal of Nutritional Science**, v. 4, n. 10, p. 1–10, 2015.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. Probiotic viability and physicochemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. **Food Chemistry**, v. 135, n. 1, p. 1411–1418, 2012.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. Effect of dairy probiotic combinations on *in vitro* gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. **Journal of Functional Foods**, v. 8, n. 1, p. 18–25, 2014.

RIBAS-AGUSTÍ, A.; MARTÍN-BELLOSO O.; SOLIVA-FORTUNY R.; ELEZ-MARTÍNEZ P. Food processing strategies to enhance phenolic compounds bioaccessibility and bioavailability in plant-based foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, n. 1, p. 1–18, 2017.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; FETT, R. Composição de ácidos graxos de óleo de semente de uva (*Vitis vinifera* L. e *Vitis labrusca* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 1, n. 1, p. 23–26, 2010.

ROCKENBACH, I. I.; RODRIGUES, E.; GONZAGA, L. V.; CALIARI, V.; GENOVESE, M. I.; GONÇALVES, A. E. S. S.; FETT, R. Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 174–179, 2011.

RUFINO, M. D. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. D. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-COLIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 125, n. 1, p. 1–4, 2006.

SANTIAGO-GARCIA, P. A.; LOPEZ, M. G. Agavins from *Agave angustifolia* and *Agave potatorum* affect food intake, body weight gain and satiety-related hormones (GLP-1 and ghrelin) in mice. **Food & Function**, v. 5, n. 1, p. 3311–3319, 2014.

SANTIAGO-GARCÍA, P. A.; MELLADO-MOJICA, E.; LEÓN-MARTÍNEZ, F. M.; LÓPEZ, M. G. Evaluation of *Agave angustifolia* fructans as fat replacer in the cookies manufacture. **LWT – Food Science and Technology**, v. 77, n. 1, p. 100–109, 2017.

SANTOS, K. M. O.; OLIVEIRA, I. C.; LOPES, M. A. C. Addition of grape pomace extract to probiotic fermented goat milk: the effect on phenolic content, probiotic viability and sensory acceptability. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, p. 1108–1115, 2017.

SANTOS-ZEA, L.; ROSAS-PÉREZ, A. M.; LEAL-DÍAZ, A. M.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. Variability in Saponin Content, Cancer Antiproliferative Activity and Physicochemical Properties of Concentrated Agave Sap. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 8, p. H2069–2075, 2016.

SELANI, M. M.; BRAZACA, S. G. C.; DIAS, C. T. S.; RATNAYAKE, W. S.; FLORES, R. A.; BIANCHINI, A. Characterization and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. **Food Chemistry**, v. 163, n. 1, p. 23–30, 2014.

SETTE, P.; FERNANDEZ, A.; SORIA, J.; RODRIGUEZ, R.; SALVATORI, D.; MAZZA, G. Integral valorization of fruit waste from wine and cider industries. **Journal of cleaner production**, v. 242, n. 1, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118486>.

SILANIKOVE, N. G.; LEITNER, G.; MERIN, U.; PROSSER, C.G. Recent advances in exploiting goat's milk: Quality, safety and production aspects. **Small Ruminant Research**, v. 89, n. 2-3, p. 110–124, 2010.

SILVA, M. C. **Aproveitamento do resíduo do despulpamento da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) para obtenção de pigmento com propriedades funcionais**. 2012, 122f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

SILVA, J. K.; CAZARIN, C. B. B.; CORREA, L. C.; BATISTA, A. G.; FURLAN, C. P. B.; BIASOTO, A. C. T.; PEREIRA, G. E.; CAMARGO, A. C.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Bioactive compounds of juices from two Brazilian grape cultivars. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 1990–1996, 2016.

SILVA, F. A.; OLIVEIRA, M. E. G.; FIGUEIREDO, R. M. F.; SAMPAIO, K. B.; SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, C. E. V.; PINTADO, M. M. E.; QUEIROGA, R. C. R. The effect of Isabel grape addition on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic goat milk yogurt. **Food & Function**, v. 8, n. 1, p. 2121–2132, 2017a.

SILVA, D. F.; TENÓRIO JUNIOR, N. N.; GOMES, R. G.; POZZA, M. S. S.; BRITTEN, M.; MATUMOTO-PINTRO, P. T. Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, n. 6, p. 1608–1615, 2017b.

SOUSA, E. C.; UCHÔA-THOMAZ, A. M. A.; CARIOCA, J. O. B.; MORAIS, S. M.; LIMA, A.; MARTINS, C. G.; ALEXANDRINO, C. D.; FERREIRA, P. A. T.; RODRIGUES, A. L. M.; RODRIGUES, S. P.; SILVA, J. N.; RODRIGUES, L.L. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 135–142, 2014.

SOUSA, S.; PINTO, J.; PEREIRA, C.; MALCATA, F. X.; PACHECO, M. T. B.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E. *In vitro* evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. **Food Bioproduct Processing**, v. 95, n. 1, p. 96–105, 2015.

SOUZA, B. V.; THOMAZINI M.; BALIEIRO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and Bioproducts Processing**, 93, 39–50, 2015.

SOUZA, E. L.; ALBUQUERQUE, T. M. R.; SANTOS, A. S.; MASSA, N. M. L.; ALVES, J. L. B. Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their healthpromoting properties and food functionalities – A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 10, p. 1645–1659, 2018.

TABASCO, R.; SÁNCHEZ-PATÁN, F.; MONAGAS, M.; BARTOLOMÉ, B.; MORENO-ARRIBAS, M. V.; PELÁEZ, C.; REQUENA, T. Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: resistance and metabolism. **Food Microbiology**, v. 28, n. 1345–1352, 2011.

TAVAKOLI, H.; HOSSEINI, O.; JAFARI, S., M.; KATOUZIAN, I. Evaluation of Physicochemical and Antioxidant Properties of Yogurt Enriched by Olive Leaf Phenolics within Nanoliposomes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 9231–9240, 2018.

TORRES, C.; DÍAZ-MAROTO, M. C.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I.; PÉREZ-COELLO, M. S. Effect of freeze-drying and oven-drying on volatiles and phenolics composition of grape skin. **Analytica Chimica Acta**, v. 660, n. 1–2, p. 177–182, 2010.

TRIGUEROS, L.; WOJDYTO, A.; SENDRA, E. Antioxidant Activity and Protein Polyphenol Interactions in a Pomegranate (*Punica granatum*L.) Yogurt. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 6417–6425, 2014.

TSENG, A.; ZHAO, Y. Wine grape pomace as antioxidant dietary fibre for enhancing nutritional value and improving storability of yogurt and salad dressing. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 356–365, 2013.

UR-REHMAN, S.; MUSHTAQ, Z.; ZAHoor, T.; JAMIL, A.; MURTAZA, M. A. Xylitol: A review on Bio-production, Application, Health Benefits and Related Safety Issues. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 11, p. 1514–28, 2015.

VALERO-CASES, E.; FRUTOS, M. J. Development of prebiotic nectars and juices as potential substrates for *Lactobacillus acidophilus*: Special reference to physicochemical characterization and consumer acceptability during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 81, n. 1, p. 136–143, 2017.

VASCONCELOS, M. A. S.; MELO FILHO, A. B. **Conservação de alimentos**. Recife, EDUFRPE, 2010.

VEDRAN, S.; RAJKA, B.; JOVICA, H.; JUDIT, R. S.; MIRELA, L.; VINKO, K. Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, n. 2, p. 171–189, 2010.

VERRUCK, S.; CARVALHO, M. W.; LIZ, G. R.; AMANTE, E. R.; VIEIRA, C. R. W.; AMBONI, R. D. M. C.; PRUDENCIO, E. S. Survival of Bifidobacterium BB-12 microencapsulated with full-fat goat's milk and prebiotics when exposed to simulated gastrointestinal conditions and thermal treatments. **Small Ruminant Research**, v. 153, n. 1, p. 48–56, 2017.

VERRUCK, S.; DANTAS, A.; PRUDENCIO, E. S. Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. **Journal of Functional Foods**, v. 52, n.1, p. 243–257, 2019.

VIANA, E. S.; MAMEDE, M. E. O.; REIS, R. C.; CARVALHO, L. D.; FONSECA, M. D. Desenvolvimento de geleia de umbu-cajá tradicional e dietética. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 708–717, 2015.

VOSS, G. B., OSORIO, H., VALENTE, L. M. P.; PINTADO, M. E. Impact of thermal treatment and hydrolysis by Alcalase and Cynara cardunculus enzymes on the functional and nutritional value of Okara. **Process Biochemistry**, v. 83, n. 1, p. 137–147, 2019.

XIAO, J.; MAO, F.; YANG, F.; ZHAO, Y.; ZHANG, C.; YAMAMOTO, K. Interaction of dietary polyphenols with bovine milk proteins: Molecular structure–affinity relationship and influencing bioactivity aspects. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, p. 1637–1645, 2011.

XIE, P. J.; HUANG, L. X.; ZHANG, C. H.; ZHANG, Y. L. Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea* L.) extracts and their structure-activity relationships. **Journal of Functional Foods**, v. 16, n. 1, p. 460–471, 2015.

YU, J.; BANSODE, R. R.; SMITHA, I. N.; HURLEY, S. L. Impact of grape pomace consumption on the blood lipid profile and liver genes associated with lipid metabolism of young rats. **Food & Function**, v. 8, n. 1, p. 2731–2738, 2017.

ZHANG, N.; JU, Z.; ZUO, T. Time for food: The impact of diet on gut microbiota and human health. **Nutrition**, v. 51–52, n. 1, p. 80–85, 2018.

ZHANG, S.; HU, H.; WANG, L.; LIU, F.; PAN, S. Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. **Food Chemistry**, v. 244, n. 1, p. 232–237, 2018.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRIGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 310 - 316, 2009.

APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE).**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a), das pesquisas “**Elaboração de coprodutos de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) e o impacto da sua adição sobre o iogurte caprino**” e “**Desenvolvimento de iogurte caprino adicionado de geleia de xique-xique (*pilosocereus gounellei*): avaliação de características tecnológicas e potencial funcional**”. No caso de você concordar em participar, favor assinar ao final do documento. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador(a) ou com a instituição.

NOME DAS PESQUISAS: “Elaboração de coprodutos de uva Isabel (*Vitis labrusca* L.) e o impacto da sua adição sobre o iogurte caprino” e “Desenvolvimento de iogurte caprino adicionado de geleia de xique-xique (*pilosocereus gounellei*): avaliação de características tecnológicas e potencial funcional”.

PESQUISADORES RESPONSÁVEIS: Francieli Araújo Silva, Fabrícia França Bezerril, Rita de Cássia Ramos do E. Queiroga e Margarida Angélica da Silva Vasconcelos.

OBJETIVOS: Avaliar a influência da adição dos coprodutos de uva ou da geleia de xique-xique nos aspectos de qualidade do iogurte produzido com leite caprino.

Solicitamos a sua colaboração na avaliação sensorial, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo. Só deve participar desta pesquisa quem for consumidor de iogurte.

Os pesquisadores estarão a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido(a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura do Pesquisador Responsável

APÊNDICE B – FICHAS DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Teste de Aceitação e Intenção de compra

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Escolaridade: _____ Data: _____

Você está recebendo 03 amostras codificadas de iogurte caprino. Prove e avalie sensorialmente a amostra de acordo com cada atributo e escreva o valor da escala que você considera correspondente à amostra (código) no que diz respeito aos atributos avaliados. Antes de cada avaliação, você deverá fazer uso da água e da bolacha.

- 9 – gostei muitíssimo
- 8 – gostei muito
- 7 – gostei moderadamente
- 6 – gostei ligeiramente
- 5 – nem gostei/nem desgostei
- 4 – desgostei ligeiramente
- 3 – desgostei moderadamente
- 2 – desgostei muito
- 1 – desgostei muitíssimo

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)		
Aparência			
Cor			
Textura			
Aroma			
Sabor			
Avaliação Global			

Agora indique sua atitude ao encontrar este produto no mercado.

- 5 – compraria
- 4 – possivelmente compraria
- 3 – talvez comprasse/talvez não comprasse
- 2 – possivelmente não compraria
- 1 – jamais compraria

ATRIBUTOS	AMOSTRAS (Código)		
Intenção de Compra			

Teste de Ordenação-Preferência

Após avaliar as duas amostras Por favor, prove as amostras, da esquerda para direita, e ordene-as em ordem decrescente de **PREFERÊNCIA GERAL**. Espere 30 segundos antes de consumir a próxima amostra e utilize a água e a bolacha entre cada avaliação.

Mais preferida	→	Menos preferida
1º lugar	2º lugar	3º lugar

Teste JAR (escala do ideal)

Por favor, prove a amostra **210** de iogurte caprino e indique na escala abaixo sua opinião.

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Um pouco mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos grumoso/granuloso que o ideal	☐ Extremamente menos grumoso/granuloso que o ideal	

Em relação à sua doçura:

☐ Extremamente mais doce que o ideal	☐ Um pouco mais doce que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos doce que o ideal	☐ Extremamente menos doce que o ideal	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Por favor, prove a amostra 525 de iogurte caprino e indique na escala abaixo sua opinião.

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Em relação ao aroma de uva:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Um pouco mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos grumoso/granuloso que o ideal	☐ Extremamente menos grumoso/granuloso que o ideal	

Em relação à sua doçura:

☐ Extremamente mais doce que o ideal	☐ Um pouco mais doce que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos doce que o ideal	☐ Extremamente menos doce que o ideal	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Em relação ao sabor de uva:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Por favor, prove a amostra **738** de iogurte caprino e indique na escala abaixo sua opinião.

Em relação à sua cor:

☐ Extremamente mais branco que o ideal	☐ Um pouco mais branco que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos branco que o ideal	☐ Extremamente menos branco que o ideal	

Em relação ao aroma caprino:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Em relação ao aroma de uva:

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

Em relação a consistência:

☐ Extremamente mais viscoso que o ideal	☐ Um pouco mais viscoso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos viscoso que o ideal	☐ Extremamente menos viscoso que o ideal	

Em relação a textura:

☐ Extremamente mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Um pouco mais grumoso/granuloso que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos grumoso/granuloso que o ideal	☐ Extremamente menos grumoso/granuloso que o ideal	

Em relação à sua doçura:

☐ Extremamente mais doce que o ideal	☐ Um pouco mais doce que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos doce que o ideal	☐ Extremamente menos doce que o ideal	

Em relação à sua acidez:

☐ Extremamente mais ácido que o ideal	☐ Um pouco mais ácido que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos ácido que o ideal	☐ Extremamente menos ácido que o ideal	

Em relação ao sabor de uv

☐ Extremamente mais forte que o ideal	☐ Um pouco mais forte que o ideal	☐ Ideal
☐ Um pouco menos forte que o ideal	☐ Extremamente menos forte que o ideal	

ANEXO A – PATENTE DE INVENÇÃO
“IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO COM UVA”



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: **BR 10 2017 019085 4**

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: **UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA**

Tipo de Pessoa: **Pessoa Jurídica**

CPF/CNPJ: **24098477000110**

Nacionalidade: **Brasileira**

Qualificação Jurídica: **Instituição de Ensino e Pesquisa**

Endereço: **Cidade Universitária**

Cidade: **João Pessoa**

Estado: **PB**

CEP: **58059-900**

País: **Brasil**

Telefone: **(83) 32167558**

Fax:

Email: **inova@reitoria.ufpb.br**

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/09/2017 às 11:13, Petição 870170066184

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): IOGURTE CAPRINO PROBIÓTICO ADICIONADO DE UVA

Resumo: A presente patente de invenção refere-se à produção de um iogurte caprino adicionado de preparado de uva, preferencialmente a Isabel (*Vitis labrusca* L.), combinado à utilização de bactérias lácticas probióticas, preferencialmente *Lactobacillus acidophilus*, junto com a cultura simbiótica do iogurte, *Streptococcus thermophilus* e/ou *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Ele compreende uma matriz constituída de leite caprino, micro-organismos probióticos e o preparado de uva. O iogurte produzido é um alimento probiótico, apresenta características como alto valor nutritivo, textura uniforme, coloração agradável e excelente sabor, além de contribuir para a saúde do sistema digestivo. O processo de produção pode ser executado facilmente, apresenta um baixo custo e possui um alto rendimento em relação a outros derivados lácteos.

Figura a publicar: 1

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3**Nome:** FRANCYELI ARAÚJO SILVA**CPF:** 08405965459**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Estudante de Pós Graduação**Endereço:** Cidade Universitária, S/N, Departamento de Nutrição, Lab. de Bromatologia, Campus I.**Cidade:** João Pessoa**Estado:** PB**CEP:** 58091-100**País:** BRASIL**Telefone:** (83) 321 67826**Fax:****Email:** francyeli_araujo@hotmail.com**Inventor 2 de 3****Nome:** RITA DE CÁSSIA RAMOS DO EGYPTO QUEIROGA**CPF:** 39530019491**Nacionalidade:** Brasileira**Qualificação Física:** Professor do ensino superior**Endereço:** Cidade Universitária, S/N, Departamento de Nutrição, Lab. de Bromatologia, Campus I.**Cidade:** João Pessoa**Estado:** PB**CEP:** 58091-100**País:** BRASIL**Telefone:** (83) 321 67826**Fax:****Email:** rcqueiroga@uol.com.br**Inventor 3 de 3**

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 06/09/2017 às 11:13, Petição 870170066184

Nome: CARLOS EDUARDO VASCONCELOS DE OLIVEIRA
CPF: 04335272421
Nacionalidade: Brasileiro - Britânica
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: Cidade Universitária, S/N, Departamento de Nutrição, Lab. de Bromatologia, Campus I.
Cidade: João Pessoa
Estado: PB
CEP: 58091-100
País: BRASIL
Telefone: (83) 321 67826
Fax:
Email: duca_vasconcelos@hotmail.com

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	00_Comprovante GRU.pdf
Relatório Descritivo	01_Relatorio descritivo - logurte de uva.pdf
Reivindicação	02_Reivindicacoes - logurte de uva.pdf
Desenho	03_Desenho - logurte de uva.pdf
Resumo	04_Resumo - logurte de uva.pdf

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 06/09/2017 às 11:13, Petição 870170066184

ANEXO B – PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA
PARAÍBA - CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE



PROJETO DE PESQUISA

Título: Produção de derivados lácteos: tecnologias e agregação de valor a produtos da caprinocultura leiteira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 02226812.0.0000.5188

Pesquisador: Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga

Instituição: Universidade Federal da Paraíba

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Número do Parecer: 111.523

Data da Relatoria: 25/09/2012

Apresentação do Projeto:

Projeto de pesquisa tem por objetivo desenvolver e adaptar tecnologias de produtos lácteos caprinos (queijos, iogurte, bebidas lácteas), como também, aproveitar resíduos de indústrias de laticínios e frutos da biodiversidade regional, visando o aumento da produção e agregação de valor, para que contribuam na sustentabilidade da agricultura familiar da região Semiárida, procurando-se atender aos requisitos de segurança alimentar. Serão elaborados produtos lácteos com qualidade satisfatória os quais serão submetidos a testes sensoriais. Os procedimentos realizados na pesquisa serão explicados aos indivíduos e, em seguida, caso aceitem participar da mesma, assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido. Serão convidados e selecionados a formar o grupo de provadores estudantes e servidores da Instituição maiores de 18 anos. As análises sensoriais serão realizadas no Laboratório de Técnica Dietética DN/CCS/UFPB e para a realização das mesmas serão aplicados Testes de Aceitação (100 provadores) e de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) (12 provadores) de acordo com metodologia descrita por Faria & Yotsuyanagi (2002). Para participação do painel sensorial serão recrutados voluntários entre estudantes, funcionários e professores da UFPB. Os dados obtidos serão tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA). As diferenças entre os grupos estudados serão analisados utilizando o teste de média Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de significância. Com relação à análise sensorial, os dados serão tabulados em gráfico de planilha eletrônica EXCEL, sendo os valores médios de cada atributo sensorial comparado através de teste de Friedman. Para a comparação entre os tratamentos será realizada a análise de variância (ANOVA) dos provadores e comparação ao teste de Tukey com nível de 5 % de significância.

Objetivo da Pesquisa:

Desenvolver e adaptar tecnologias de produtos lácteos caprinos, como também, aproveitar resíduos de indústrias de laticínios e frutos da biodiversidade regional, visando o aumento da produção e agregação de valor, para que contribuam na sustentabilidade da agricultura familiar da região Semiárida, procurando-se atender aos requisitos de segurança alimentar.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não há riscos previsíveis, e o pesquisador relata que os benefícios gerados com a pesquisa são para a área de conhecimento, mas não ao participante diretamente. Também pode contribuir para a expansão da agroindústria especializada nestes produtos, pela valorização da caprinocultura leiteira brasileira e contribuição para o desenvolvimento sustentável do Semiárido brasileiro.

Endereço: UNIVERSITÁRIO S/N

Bairro: CASTELO BRANCO

CEP: 58.051-900

UF: PB

Município: JOÃO PESSOA

Telefone: (83)3216-7791

Fax: (83)3216-7791

E-mail: eticaccs@ccs.ufpb.br; elianemduarte@hotmail.com

UNIVERSIDADE FEDERAL DA
PARAÍBA - CENTRO DE
CIÊNCIAS DA SAÚDE



Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é relevante na sua área do conhecimento e atende a todas as considerações éticas da resolução 196/96.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram apresentados.
Todas as recomendações solicitadas no parecer da versão 01 foram acatadas pelo pesquisador e realizadas.

Recomendações:

Como todas as recomendações solicitadas no parecer da versão 02 foram acatadas pelo pesquisador, não temos mais recomendações a fazer.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Conforme acima relatado, salvo melhor juízo, somos de parecer que este Projeto deve ser considerado APROVADO.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

JOAO PESSOA, 01 de Outubro de 2012

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador)

Endereço: UNIVERSITARIO S/N
Bairro: CASTELO BRANCO CEP: 58.051-900
UF: PB Município: JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 Fax: (83)3216-7791 E-mail: eticaocs@ccs.ufpb.br; ellanemduarte@hotmail.com