



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

THIAGO RAMOS DA SILVA

**EFEITO DA CLARIFICAÇÃO DAS POLPAS DE GOIABA, MANGA E MARACUJÁ
NA PRODUÇÃO DE SUCOS PROBIÓTICOS E FERMENTADOS POR
Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469**

Recife-PE

2024

THIAGO RAMOS DA SILVA

Efeito da clarificação das polpas de goiaba, manga e maracujá na produção de sucos probióticos e fermentados por *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de mestre em Nutrição.

Área de concentração: Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a Dr.^a Ester Ribeiro de Andrade

Recife-PE

2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Silva, Thiago Ramos da.

Efeito da clarificação das polpas de goiaba, manga e maracujá na produção de sucos probióticos e fermentados por *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 / Thiago Ramos da Silva. - Recife, 2024.
48f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2024.

Orientação: Ester Ribeiro de Andrade.

1. Fermentação láctica; 2. Sucos de frutas; 3. *Lactobacillus rhamnosus*; 4. Clarificação; 5. Inóculo. I. Andrade, Ester Ribeiro de. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CDD 612.3

THIAGO RAMOS DA SILVA

**EFEITO DA CLARIFICAÇÃO DAS POLPAS DE GOIABA, MANGA E MARACUJÁ
NA PRODUÇÃO DE SUCOS PROBIÓTICOS E FERMENTADOS POR
Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, na área de concentração: **Ciência dos Alimentos**, como requisito para obtenção do título de Mestre em **Nutrição**.

Aprovado em: 05/08/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Thayza Christina Montenegro Stamford
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof^a. Dr^a. Christine Lamenha Luna Finkler
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Gilberto Henrique Teles Gomes Da Silva
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família. Minha mãe Maria de Lourdes por todo o amor e todos os esforços feitos até hoje para que eu pudesse alcançar meus objetivos. Ao meu irmão Diogo Ramos e minha cunhada Priscilla Moura, meus tios Antônio e Maria José, minhas primas Ana Lúcia e Lúcia Helena, minha irmã Soraya Ramos e meus sobrinhos Breno e Bárbara que sempre foram meus maiores incentivadores e apoiadores

Meus agradecimentos aos meus amigos e colegas de graduação, Amanda Santos, Allan Matheus, Jairo Luiz e Géssica Lira por sempre me acompanharem na minha jornada. A minha querida orientadora da graduação, Neide Shinohara que tanto me incentivou a seguir na área acadêmica.

Agradeço também a minha orientadora, a professora Ester Riberiro por todo apoio, ajuda e compreensão no período do mestrado. Assim como meus colegas de laboratório Thaysa Ramalho, Eliana Costa, Gabriel Barboza, Gilberto Henrique Teles, Jackeline Silva e Marcos Lopes por toda partilha, ajuda e troca de conhecimentos.

Agradeço imensamente ao meu companheiro Jefferson Torquato por tanto amor, esforço, partilha, companheirismo e incentivos em todos os processos e áreas da minha vida com paciência, carinho e dedicação, sempre ao meu lado em todas as conquistas.

Aos amigos e amigas Thaís Xavier, Alice Xavier, Erenildo Ferreira, Marisa Mello, Livia Xavier e Marcia Camila que sempre me trataram como um irmão e sempre estiveram ao meu lado em toda a minha jornada. Minhas cunhadas Jeniffer Torquato e Ítala Martins, meus sogros Vilma Ferreira e Josué Martins, meus queridos Emanuel Xavier, Shedinete Assis, Silvio Sá e Roseane Lima por tanto amor, carinho e também por sempre me receberem de braços abertos e me tratarem como filho.

Agradeço aos membros da banca pela participação, pelo tempo dedicado e qualidade nas contribuições na dissertação.

Agradeço, por fim, à CAPES pela oportunidade na concessão e pagamento da bolsa que me auxiliou e viabilizou financeiramente durante o período em que estive presente no programa de pós-graduação como pesquisador.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o impacto da clarificação e da concentração de inóculo na cinética de crescimento e na produção de metabólitos durante a fermentação láctica de sucos de goiaba, manga e maracujá, utilizando *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 como cultura iniciadora. Os sucos foram submetidos à clarificação por meio de ágar-ágar e inoculados com diferentes concentrações de microrganismos (5%, 7,5% e 10% v/v). A viabilidade celular, o pH, a produção de ácido láctico e o perfil de açúcares fermentáveis foram monitorados ao longo do processo fermentativo. Os resultados demonstraram que a clarificação impactou a cinética de crescimento e a produção de metabólitos. A concentração de inóculo mostrou-se um fator determinante para a produção de ácido láctico, com valores máximos de 4 g/L no suco de maracujá não clarificado inoculado com 10% de inóculo. O suco de maracujá apresentou maior susceptibilidade à fermentação, evidenciada por reduções mais acentuadas do pH e maior produção de ácido láctico. A análise do perfil de açúcares fermentáveis revelou variações entre os diferentes tratamentos, com maior consumo de glicose e frutose nos sucos clarificados e inoculados com maiores concentrações de microrganismos. Os resultados obtidos demonstram o potencial da fermentação láctica de sucos de frutas como estratégia para o desenvolvimento de novos alimentos funcionais, enriquecidos com probióticos e prebióticos. A clarificação sugeriu que a presença de sólidos em suspensão pode afetar a disponibilidade de nutrientes para o microrganismo. A concentração de inóculo mostrou-se um fator crucial para a produção de ácido láctico, indicando que uma maior quantidade de células viáveis no início da fermentação resulta em uma maior taxa de produção de metabólitos. Os resultados deste estudo contribuem para o avanço do conhecimento sobre a fermentação láctica de sucos de frutas e demonstram a viabilidade da produção de bebidas probióticas a partir de fontes naturais. No entanto, são necessárias investigações mais aprofundadas para otimizar o processo fermentativo e avaliar a estabilidade dos produtos sob diferentes condições de armazenamento. A caracterização completa do perfil sensorial e nutricional dos produtos fermentados, bem como a avaliação de seus efeitos benéficos na saúde humana, são aspectos importantes para o desenvolvimento de novos produtos com potencial comercial.

Palavras-chave: Fermentação láctica; sucos de frutas; *Lactobacillus rhamnosus*, clarificação; inóculo.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the impact of inoculum clarification and concentration on growth kinetics and metabolite production during lactic fermentation of guava, mango and passion fruit juices, using *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 as initiator culture. The juices were submitted to clarification by agar-agar and inoculated with different concentrations of microorganisms (5%, 7.5% and 10% v/v). Cell viability, pH, lactic acid production and fermentable sugars profile were monitored throughout the fermentation process. The results showed that clarification impacted growth kinetics and metabolite production. The inoculum concentration proved to be a determining factor for the production of lactic acid, with maximum values of 4 g/L in the unclarified passion fruit juice inoculated with 10% inoculum. Passion fruit juice showed greater susceptibility to fermentation, evidenced by more accentuated reductions in pH and higher lactic acid production. The analysis of the fermentable sugars profile revealed variations between the different treatments, with higher consumption of glucose and fructose in the clarified and inoculated juices with higher concentrations of microorganisms. The results obtained demonstrate the potential of lactic fermentation of fruit juices as a strategy for the development of new functional foods, enriched with probiotics and prebiotics. The clarification suggested that the presence of suspended solids may affect the availability of nutrients to the microorganism. The inoculum concentration was shown to be a crucial factor for lactic acid production, indicating that a higher amount of viable cells at the beginning of fermentation results in a higher rate of metabolite production. The results of this study contribute to the advancement of knowledge about the lactic fermentation of fruit juices and demonstrate the feasibility of producing probiotic beverages from natural sources. However, further investigations are needed to optimize the fermentation process and evaluate the stability of the products under different storage conditions. The complete characterization of the sensory and nutritional profile of fermented products, as well as the evaluation of their beneficial effects on human health, are important aspects for the development of new products with commercial potential.

Keywords: Lactic fermentation; fruit juices; *Lactobacillus rhamnosus*, clarification; Inoculum.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1	Alimentos funcionais	12
2.1.1	Microrganismos probióticos	13
2.1.2	<i>Lacticaseibacillus</i>	13
2.3	Sucos de frutas probióticos	16
2.4	Clarificação de sucos	18
3	HIPÓTESE	22
4	OBJETIVOS.....	23
4.3	Objetivo Geral	23
4.4	Objetivos Específicos	23
5	METODOLOGIA	24
5.3	Microrganismo: manutenção e inóculo.....	24
5.2	Clarificação das polpas de goiaba, de manga e de maracujá	24
5.3	Fermentações dos sucos com e sem clarificação.....	26
5.4	Métodos analíticos	27
5.4.1	Determinação do pH	27
5.4.2	Determinação da curva de crescimento	27
5.4.3	Determinação da viabilidade celular.....	27
5.4.4	Determinação das concentrações de ácido láctico, glicose e frutose	28
5.4.5	Análise de dados.....	28
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6.1	Influência do tamanho do inóculo no crescimento de <i>Lacticaseibacillus</i> <i>rhamnosus</i> ATCC 7469.....	29

6.2	Aspectos físico-químicos dos sucos clarificados e não clarificados probióticos e fermentados	34
7	CONCLUSÕES	39
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas (Alves *et al.*, 2024; Brazilian Farmers, 2024), com o nordeste do país apresentando um grande volume de produção de cerca de 9,7 milhões de toneladas em 2022 (Brazilian Farmers, 2024). Frutas como goiaba, manga e maracujá são cultivadas em larga escala, com números expressivos de produção em 2022: 564.764 toneladas de goiaba, 697.859 toneladas de maracujá e 1.546.375 toneladas de manga (IBGE, 2023). No caso do maracujá, o Brasil está em primeiro lugar na produção, respondendo por 70% de toda a safra mundial (Brazilian Farmers, 2024). Além de seu valor nutricional, essas frutas são amplamente aceitas pelos consumidores, oferecendo benefícios à saúde devido às suas vitaminas, minerais e antioxidantes (Teshome, 2023). Nesse sentido, os sucos de frutas surgem como uma alternativa promissora para a obtenção de produtos probióticos, sendo ricos em nutrientes, sais minerais, compostos bioativos, antioxidantes, vitaminas e fibras que são utilizadas pelos microrganismos no processo fermentativo, gerando metabólitos como ácido lático. Neste sentido, são indicados para consumidores com intolerâncias alimentares como o leite, por exemplo (Putnik *et al.*, 2020).

Um alimento com alegação funcional para ser aceito depende dos benefícios associados à saúde e ao sabor. A goiaba é fonte de vitamina C, potássio, cálcio e magnésio, além do licopeno, que é um composto bioativo associado à prevenção do câncer de próstata. A manga é rica em fibras, auxilia no sistema imunológico, possui vitaminas A e C que auxiliam na prevenção de doenças. O maracujá, por sua vez, é rico em vitaminas, minerais e antioxidantes. Assim, com base nas características nutricionais, econômicas e de consumo destas frutas, pode-se ressaltar que possuem um valor muitas vezes acessível e podem ser encontradas em todo o território nacional (Costa, 2019).

Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469 tem despertado crescente interesse em pesquisas recentes, principalmente em relação à sua viabilidade e aplicação em produtos não lácteos, como sucos fermentados (Farias *et al.*, 2016; Santos Filho *et al.*, 2019, Mendes *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2023). Esses estudos mostram sua eficácia em sucos fermentados à base de goiaba, acerola, maracujá amarelo e maracujá da Caatinga, bem como a influência de aditivos como pectina e sacarose em sua sobrevivência e viabilidade em bebidas simbióticas (Barros, 2020; Santos *et al.*, 2023). Esses esforços contínuos indicam um potencial promissor para o uso de *L. rhamnosus* ATCC 7469 em novas formulações de alimentos probióticos, oferecendo novas perspectivas e adaptações significativas às diversas condições de produção e consumo. O processo de clarificação na produção de sucos clarificados desperta

interesse devido às características visuais e sensoriais que possuem (Rosas *et al.*, 2021).

A clarificação de sucos é uma alternativa de processamento que garante a eliminação de partículas em suspensão, assim como as fibras, taninos e pectinas presentes em sua composição, visando um produto seguro e com qualidade sensorial. Esse processo garante vantagens econômicas para o mercado, o qual utiliza os sucos clarificados para a produção de outras bebidas, como sucos desportivos e isotônicos, água mineral saborizada, chás, refrigerantes, dentre outros. Uma das desvantagens é a perda de fibras e compostos bioativos, por exemplo, que auxiliam no trato gastrointestinal e o custo de produção que pode ser alto a depender do procedimento de clarificação a ser adotado.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo o uso da clarificação na produção de sucos probióticos de goiaba, manga e maracujá, fermentados por *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, variando o tamanho do inóculo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Alimentos funcionais

Os consumidores, atualmente, estão cada dia mais conscientes quanto ao seu perfil alimentar e à prevenção de doenças, fazendo com que o consumo de alimentos funcionais se torne uma tendência e o mercado destes alimentos apresente um rápido crescimento mundial. Dados de 2017 apontaram que 247 bilhões de dólares foram gastos por consumidores com produtos funcionais (Vorage *et al.*, 2020). A relação entre alimentação e saúde tem impulsionado a busca por novos alimentos funcionais porque além de garantir funções nutricionais, o seu consumo pode ser benéfico quando se trata do funcionamento fisiológico do organismo, podendo reduzir o risco de doenças cardiovasculares, diabetes, obesidade, dentre outras (Alkhatib *et al.*, 2017; Asgary *et al.*, 2018).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), atualizou, em 11 de dezembro de 2018, as leis nº 18 e 19 de 30 de abril de 1999, estabelecendo o termo “alimento funcional” no país. Sendo assim, os alimentos funcionais, além de nutrir, garantem outros benefícios à saúde. Os constituintes desses alimentos podem auxiliar em diversos fatores metabólicos, como regular os níveis de açúcar no sangue, combate aos radicais livres, redução do colesterol, um melhor funcionamento da microbiota intestinal, entre outros, desde que sejam mantidos hábitos de vida saudáveis (Brasil, 2019a).

Ainda segundo a ANVISA, as fibras alimentares, probióticos e quitosanas, entre outros são consideradas ingredientes funcionais (Brasil, 2019b). Os benefícios que o seu consumo traz às funções fisiológicas do organismo faz com que o interesse por esses componentes esteja em constante crescimento, devido ao seu favorecimento à saúde e à qualidade de vida (Silva *et al.*, 2016).

Mundialmente, os alimentos probióticos continuam sendo o suplemento alimentar mais consumido (Suez *et al.* 2019). Cientificamente, as linhagens de microrganismos probióticos já são bastante conhecidas, sendo atualmente um dos principais alvos no estudo e desenvolvimento desses produtos a busca por novas matérias primas que possam ser utilizadas como veículos para tais microrganismos.

O interesse na produção e desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos tem demonstrado crescimento, uma vez que o mercado ainda abrange uma quantidade dominante por laticínios. Fatores como o aumento da popularidade do vegetarianismo, intolerância à lactose, alto teor de colesterol em produtos lácteos e alergia à proteína do leite tem impulsionado a demanda por opções disponíveis não lácteas (Alves *et al.*,

2016; Nematollahi *et al.*, 2016).

2.1.1 Microrganismos probióticos

O termo probiótico ficou conhecido na década de 50 através de Ferdinand Vergin (Azad *et al.*, 2018) e, posteriormente, na década de 60, foi descrito como agente benéfico por Lilly e Stillwell. As propriedades funcionais e nutricionais foram inicialmente aprofundadas a partir de 2001 por especialistas, onde classificaram como “microrganismos vivos benéficos à saúde” (FAO/WHO, 2002).

Lactobacillus, *Bifidobacterium* e *Saccharomyces* são os gêneros mais estudados devido à sua importância funcional no organismo animal e humano (Kolaček *et al.*, 2017). A partir da sua importância ocorreu o crescimento de produtos probióticos em suas mais variadas formas. Para ter o efeito benéfico recomendado, o produto precisa ter 10^6 - 10^7 UFC/g ou mL do produto, para um consumo diário de 100 g ou 100 mL, em média (Kolaček *et al.*, 2017).

O uso de probióticos, ultimamente, está associado às alternativas de respostas imunes para infecções virais como COVID-19 (SARS- CoV-2) (Rao, 2021). Os probióticos melhoram as funções dos linfócitos, garantindo uma melhor imunidade e favorecimento no tratamento. Assim, os probióticos podem ser considerados potenciais auxiliares no combate à doença em questão (Darbandi *et al.*, 2021), porém ainda sem comprovação clínica e medicinal.

Estudos mostraram que o microrganismo *Lactobacillus* pode atuar no tratamento ou na prevenção de doenças infecciosas do trato respiratório e intestinal, asma, vírus de herpes tipo 1 e artrite reumatoide (Jang *et al.*, 2012; Nowak *et al.*, 2012).

A ingestão associada de *Lacticaseibacillus rhamnosus* com *Limosilactobacillus reuteri*, mostrou uma queda na taxa de *Streptococos* que colonizam o trato vaginal e retal de gestantes. A profilaxia com o microrganismo melhora o estado nutricional de crianças desnutridas quando associado às dietas adequadas e evita infecções (Ho *et al.*, 2016). Pode atuar de forma conjunta para curar a disbiose, como terapia complementar no tratamento de câncer e também no controle de câncer do cólon (Vivarelli *et al.* 2019; Zahra *et al.*, 2017).

2.1.2 *Lacticaseibacillus*

Proposto em 1901 por M. W. Beijerinck (Ozogul *et al.*, 2020), o gênero *Lacticaseibacillus* possui espécies de bactérias produtoras de ácido láctico como produto principal da fermentação de carboidratos (Rossi *et al.*, 2019). Conforme Tabela 1, as espécies deste gênero são encontradas em três grupos distintos. O grupo

homofermentativo é o que produz ácido láctico como produto final do metabolismo de carboidratos pela via glicolítica (Embden-Meyerhorf-Parnas), o grupo heterofermentativo facultativo produz ácido láctico e ácido acético por meio de glicólise ou fosfocetolase, e o grupo heterofermentativo obrigatório, que produz, além dos ácidos láctico e acético, CO₂ ou etanol por meio de fosfocetolase (Rossi *et al.*, 2019).

Tabela 1. Espécies de *Lactocaseibacillus* e *Lactobacillus* mais utilizadas em tecnologia de alimentos e como probióticos, tipo de metabolismo, aplicações tecnológicas e nichos ecológicos típicos.

Espécie	Metabolismo	Principais Nichos Ecológicos	Principais Tecnologias Aplicadas
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Homofermentativo	TGI, produtos lácteos	Probiótico
<i>Levilactobacillus brevis</i>	Heterofermentativo	Produtos hortícolas fermentados, TGI	Fermentação de massa
<i>Lentilactobacillus buchneri</i>	Heterofermentativo	Produtos hortícolas fermentados, produtos lácteos, TGI	Fermentação de silagem
<i>Lactocaseibacillus casei/paracasei</i>	Facultativamente heterofermentativo	Produtos lácteos, TGI	Produção de queijo probiótico
<i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and lactis</i>	Homofermentativo	Produtos lácteos	Leite fermentado e queijo produção
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Homofermentativo	Produtos lácteos	Produção de queijo
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Facultativamente heterofermentativo	Alimentos fermentados e ração, TGI	Queijo, salsicha, fermentação de produtos hortícolas, produção de silagem, probiótico
<i>Limosilactobacillus reuteri</i>	Heterofermentativo	TGI, pele e mucosas	Probiótico
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	Facultativamente heterofermentativo	Produtos lácteos, TGI	Probiótico
<i>Latilactobacillus sakei</i>	Facultativamente heterofermentativo	Carnes, legumes	Fermentação de salsicha
<i>Fructilactobacillus sanfranciscensis</i>	Heterofermentativo	Massa azeda	Fermentação de massa
<i>Ligilactobacillus salivarius</i>	Homofermentativo	TGI humano e animal	Probiótico
<i>Liquorilactobacillus oeni</i>	Heterofermentativo	Bagas de uva	Vinho malolático fermentação
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Homofermentativo	Materiais vegetais, queijo, carne fermentada produtos, TGI	Fermentação de salsicha, probiótico
<i>P. pentosaceus</i>	Homofermentativo	Materiais vegetais, queijo, carne fermentada produtos, TGI	Fermentação de salsicha, probiótico

Fonte: Ozogul *et al.*, 2020. (TGI: trato gastrointestinal.)

As bactérias ácido lácticas são encontradas em substratos ricos nutricionalmente, como vegetais em conserva ou em decomposição, produtos lácteos, proteína animal fermentada, fermento e em humanos e animais (König & Fröhlich, 2009). Além disso, este grupo apresenta importância econômica e nutricional devido à sua utilização na produção e preservação de diversos produtos fermentados (Pimentel *et al.*, 2019).

Há séculos, os lactobacilos são utilizados em processos de fermentação para transformar matérias-primas perecíveis em produtos mais conserváveis, desempenhando assim um importante papel na produção de laticínios, pães,

embutidos, vegetais fermentados, vinho e silagem (Rossi *et al.*, 2019). Assim sendo, dentro das espécies do gênero, podemos encontrar *L. rhamnosus*, que é utilizado nos produtos probióticos (Suez *et al.*, 2019).

Dentre as espécies do gênero *Lactobacillus*, *L. rhamnosus* é uma das espécies mais utilizadas, seja na elaboração de iogurtes (Chen *et al.*, 2019; Rosa *et al.*, 2022), produtos cárneos fermentados, bebidas ou queijo à base de soja (Mishra *et al.*, 2019) e de bebidas à base de frutas (Farias *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2019, Mendes *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2023), demonstrando cada vez mais a versatilidade quanto à capacidade de adaptação e sobrevivência em diferentes substratos, sendo lácteos ou não lácteos.

Anualmente, pesquisas baseadas na utilização de *L. rhamnosus* ATCC 7469 são crescentes e trazem novos aspectos e viabilidades a respeito deste probiótico que, por muitas vezes é encontrado no leite fermentado e como bactéria de ácido em queijos maturados. Além de constatada sua capacidade de resistência ao trato gastrointestinal, bem como sais biliares, baixo pH e a viabilidade de manutenção em condições de estresse (Santos *et al.*, 2019).

L. rhamnosus é uma bactéria anaeróbia aerotolerante, Gram-positiva e de morfologia bacilar (Rossi *et al.*, 2019). Seu cultivo é comumente realizado em meio ágar MRS (Man, Rogosa e Sharpe) a uma temperatura de 37°C, devido ao mesmo suprir as necessidades metabólicas do microrganismo. O seu potencial probiótico já foi largamente investigado e algumas linhagens apresentam um longo histórico de uso seguro (Doron & Snyderman, 2015; Yazdankhah *et al.*, 2019). No Brasil, assim como em outros países, esse microrganismo é classificado como probiótico (Brasil, 2019b). Estudos têm demonstrado sua habilidade no tratamento ou na prevenção de doenças, como infecções do trato respiratório e intestinal, dermatite, dentre outras (Marsella *et al.*, 2012; Nowak *et al.*, 2012). A ingestão de *L. rhamnosus* auxilia na redução de infecções e na melhoria do estado nutricional de crianças desnutridas juntamente com uma dieta adequada, além de reduzir o nível de *Streptococcus mutans* na saliva (Farias *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017).

A deficiência na oferta de produtos probióticos de origem vegetal ainda é uma necessidade de busca por novas alternativas de identificação e utilização de microrganismos. Para tanto, a viabilidade de crescimento e manutenção em meios vegetais se torna um interesse para consumidores que apresentem restrições alimentares para alimentos de origem láctica. *L. rhamnosus* ATCC 7469 tem demonstrado grande potencial de utilização em sucos fermentados, garantindo o surgimento de novos produtos (Farias *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017; Santos *et al.*,

2023; Mendes *et al.*, 2023).

2.3 Sucos de frutas probióticos

A utilização de sucos de fruta é uma boa aposta para a elaboração de bebidas probióticas. Apresentando diversos nutrientes em sua composição, como minerais, fibras, vitaminas, carboidratos e antioxidantes, os sucos se tornam alternativas de possíveis substratos para culturas probióticas (Rivera-Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010; Montanari *et al.*, 2020). Os sucos de fruta têm atraído o interesse do setor de inovação alimentar para o desenvolvimento de bebidas probióticas, especialmente por serem matrizes ricas em compostos bioativos (Pimentel *et al.*, 2021). Assim como cereais, vegetais e a soja, as frutas também são utilizadas na produção de alimentos probióticos não lácteos (Farias *et al.*, 2016). Sendo assim, estudos estão sendo impulsionados pela busca de alternativas inovadoras quando se trata de novos produtos e sabores funcionais (Montanari *et al.*, 2020).

Por apresentarem uma alta tolerância a ambientes ácidos, algumas espécies de lactobacilos podem ser utilizadas para gerar uma diversidade de bebidas feitas à base de frutas (Nematollahi *et al.*, 2016; Santos Filho *et al.*, 2019; Shori, 2016; Rooba *et al.*, 2020; Vieira *et al.*, 2020). Porém, além de avaliar o desempenho do probiótico no suco, a escolha da fruta deve levar em consideração sua disponibilidade regional como recurso alimentar.

No Brasil, dentre os exemplos de polpas de frutas que podem ser utilizadas para a elaboração de sucos probióticos, estão a goiaba (*Psidium guajava* L.), a manga (*Mangifera indica* L.) e o maracujá (*Passiflora edulis*). Os maiores produtores destas frutas encontram-se na região nordeste (IBGE, 2023). Segundo a Instrução Normativa nº 12, de 04 de setembro de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), as concentrações de sucos de manga e maracujá devem ser de no mínimo 50% e 12% para a polpa, respectivamente, desde que adoçados. Por sua vez, o suco de goiaba deve apresentar no mínimo 35 % de polpa (MAPA, 2003).

A goiaba tem sua origem na América tropical, precisamente no Brasil, e apresenta grande relevância nutricional e sensorial, pois é rica em carotenoides (Campoli *et al.*, 2018), possui um teor de vitamina C (80,6 mg) que chega a ser superior ao da laranja (53,7 mg) (TBCA, 2023). Esta fruta contém fibras, minerais, licopeno, carboidratos e ácido ascórbico (Montanari *et al.*, 2020; Tanwar *et al.*, 2014).

A manga é uma das frutas mais consumidas mundialmente e tem elevado valor nutritivo, o que garante fibras, vitaminas A e C e minerais, bem como compostos bioativos, como β -caroteno, ácido ascórbico e compostos polifenólicos com ação

antioxidante. Por ser perecível, o suco de sua polpa é uma alternativa para comercialização (Acevedo-Martínez et al., 2018). Ainda de acordo com Acevedo-Martínez et al. (2018), a manga é uma excelente matriz para sobrevivência de probióticos, devido às concentrações de carboidratos, minerais, vitaminas e fibras presentes em sua composição.

O maracujá é uma fruta bastante aceita pelos consumidores, principalmente na forma de suco. Além de ser encontrada em todo território nacional, ela é rica em vitaminas e minerais e garante um preço acessível (Meletti e Bruckner, 2001). A pectina e a polpa do Maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.) são excelentes fontes para produção de alimentos probióticos (Santos et al., 2017). Segundo Farias et al. (2016), em sua utilização no suco probiótico fermentado de Maracujá da Caatinga, *L. rhamnosus* ATCC 7469 apresentou viabilidade maior que 8 Log UFC/mL e concentração de ácido láctico em 6 g/L. Segundo Corrêa et al (2016), a polpa de maracujá contém baixo teor de gordura, minerais, carboidratos, vitamina C, quantidades significativas de β -caroteno, niacina (vitamina B3) e riboflavina.

A sobrevivência de probióticos é acompanhada através de estudos realizados em sucos de goiaba, manga e maracujá (Farias et al., 2016; Acevedo-Martínez et al., 2018; Santos et al., 2017). Dentre as pesquisas realizadas, a fermentação foi utilizada como estratégia de melhoria no desempenho das culturas probióticas, não somente atuando na preservação dos alimentos (Min et al., 2018), bem como evitando a contaminação durante seu armazenamento devido à produção de bacteriocinas (Pereira & Rodrigues, 2018), garantindo uma maior viabilidade para o probiótico (Pimentel et al., 2019).

O microrganismo *L. rhamnosus* ATCC 7469 também foi utilizado em sucos à base de goiaba fermentado e não fermentado (Santos et al., 2019). Posteriormente bebidas fermentadas à base de goiaba e acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) foram produzidas e foi constatado que a linhagem do microrganismo poderia ser utilizada na produção de sucos probióticos fermentados à base de frutas (Barros, 2020). Em outro estudo, Santos et al. (2023) avaliou a influência da adição de pectina da casca de maracujá da caatinga e de sacarose na viabilidade e sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 7469 em bebidas simbióticas utilizando o suco da mesma fruta para determinação das melhores condições em relação à sobrevivência do probiótico após 28 dias de estoque refrigerado.

Dessa forma, a fermentação apresenta algumas vantagens pois ocorre a produção de novos compostos, reduzindo o teor de açúcar, melhorando o valor nutricional e estendendo a vida útil da bebida (Rodríguez et al., 2021). Além disso, a

linhagem microbiana se torna mais adaptada ao meio conforme seu crescimento no suco, o que garante uma qualidade do produto devido às altas taxas de sobrevivência (Pereira & Rodrigues, 2018).

O constante empenho e produção de novos trabalhos visando a utilização de *L. rhamnosus* ATCC 7469 tem trazido novas perspectivas de relevância a respeito deste microrganismo, bem como os seus benefícios e as devidas adaptações às diversas condições as quais vem sendo testado (Farias *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2023).

Alguns processos térmicos industriais de clarificação acabam degradando as antocianinas presentes nos sucos afetando a sua cor e causando a não aceitação por parte dos consumidores (Spence, 2019). Para tanto, a clarificação destes produtos utilizando polissacarídeos em processos não térmicos pode ser uma alternativa para evitar essas consequências e manter a qualidade sensorial dos sucos (Lachowicz, 2018).

2.4 Clarificação de sucos

Para a conservação e preservação de sucos pela indústria, são realizados processos térmicos que utilizam temperaturas elevadas que acarretam na perda da coloração, nutrientes e a alteração sensorial do produto final (Lachowicz, 2018). Baseado nestes fatores, novos processos não térmicos que preservam a qualidade do produto final, sem perder cor, sabor e aroma, estão sendo inseridos no mercado ao longo dos anos (Santos *et al.*, 2019; Ramezani *et al.*, 2020). Dentre eles, pode-se destacar a clarificação de sucos, que permite a manutenção das características sensoriais, mesmo com a redução da turbidez e fibras presentes na composição, por meio de seus diversos processos (Lachowicz, 2018).

A clarificação de produtos líquidos representa uma etapa crucial em diversos processos industriais, visando a obtenção de produtos com alta pureza e qualidade. A remoção de partículas em suspensão, impurezas e outras substâncias indesejáveis é fundamental para atender aos padrões de qualidade exigidos pelos consumidores e pelas regulamentações (Lachowicz, 2016). Neste apontamento técnico, serão abordados os principais métodos de clarificação, com ênfase nos processos químicos, físicos e enzimáticos, bem como nas tecnologias de floculação, filtração e membranas.

Sobre os métodos de clarificação, podemos encontrar processos químicos como coagulação e floculação, onde ocorre a adição de coagulantes e floculantes neutralizando as cargas das partículas, promovendo a formação de flóculos de maior tamanho, facilitando a sua remoção por sedimentação ou filtração (Lachowicz, 2016).

É eficiente para remoção de partículas coloidais e é amplamente utilizado, mas pode alterar as propriedades do produto e requer dosagem precisa dos reagentes. A oxidação, que utiliza agentes oxidantes, como o ozônio e o peróxido de hidrogênio, permitindo a oxidação e a remoção de compostos orgânicos presentes no líquido. A precipitação, por meio da adição de reagentes químicos promovendo a formação de precipitados que arrastam as impurezas, facilitando a sua remoção por sedimentação ou filtração.

Assim como os processos físicos que envolvem a filtração, onde ocorre a passagem do líquido através de meios porosos retraindo as partículas sólidas, permitindo a obtenção de um efluente clarificado (Oszmiański, 2016). A escolha do tipo de filtro (profundo, superficial, membrana) depende das características das partículas a serem removidas e da vazão desejada. Tem como vantagens, a alta eficiência na remoção de partículas, ampla variedade de materiais filtrantes. E fatores limitantes como o entupimento dos filtros, além requerer manutenção constante e pode levar à perda de produto. A centrifugação, que utiliza da aplicação de uma força centrífuga separando as partículas sólidas do líquido, em função da diferença de densidade (Oszmiański, 2016). É amplamente utilizado na indústria farmacêutica e de alimentos. Sua vantagem se dá pela alta eficiência, rapidez, pode ser aplicado a líquidos com alta viscosidade, e limita-se quanto ao alto custo de equipamentos, consumo de energia. E a sedimentação, que é feita através da ação da gravidade promovendo a sedimentação das partículas mais densas, permitindo a separação das fases sólida e líquida. É um processo simples e de baixo custo, porém é lento e não é eficiente para partículas pequenas (Oszmiański, 2016).

Ademais, processos enzimáticos como a hidrólise enzimática, envolvendo a utilização de enzimas específicas que permitem a degradação de macromoléculas, facilitando a sua remoção por processos subsequentes. É comumente utilizado na clarificação de sucos de frutas e vinhos. Possui alta especificidade e condições de reação suaves, em contrapartida tem alto custo das enzimas e pode gerar subprodutos indesejáveis (Trindade *et al.*, 2016).

Outras tecnologias específicas também são empregadas para o processo de clarificação, como a flotação, onde as partículas sólidas aderem a bolhas de ar, formando flóculos que ascendem à superfície do líquido, facilitando a sua remoção (Oszmiański, 2016). E as membranas, que são permeáveis e seletivas permitindo a separação de partículas e moléculas com base em seu tamanho e carga. Elas podem ser classificadas em microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração e osmose reversa (Lachowicz, 2018). O processo possui alta eficiência, baixo consumo de energia e

produção de água pura, porém pode causar entupimento das membranas e tem alto custo de investimento.

Polissacarídeos como o ágar-ágar, pectina e quitosana são utilizados como agentes clarificantes devido à sua capacidade de formar géis e adsorver impurezas. Eles agem por meio de adsorção, onde as moléculas de polissacarídeo adsorvem as partículas em suspensão, formando complexos de maior tamanho (Lachowicz, 2018). Em seguida ocorre a formação de gel, o qual os polissacarídeos podem formar géis tridimensionais que aprisionam as impurezas. Tem como vantagens a alta eficiência na remoção de uma ampla variedade de impurezas, incluindo turbidez, cor e partículas em suspensão. São utilizados em condições moderadas de temperatura e pH. São obtidos de fontes naturais, sendo considerados mais seguros para o consumo. Alguns podem ser caros e sua adição pode aumentar a viscosidade do produto, além de poder causar alteração no sabor, aroma e textura (Lachowicz, 2018).

Alguns fatores devem ser levados em consideração na escolha do método de clarificação adequado, como a natureza das impurezas, que envolve o tamanho, a forma, a densidade e carga das partículas. As propriedades do líquido, como viscosidade, densidade, pH, temperatura. A vazão, com o volume de líquido a ser tratado por unidade de tempo (Lachowicz, 2018). Quanto ao nível de remoção de partículas e impurezas, os custos relacionados ao investimento inicial, custos operacionais e de manutenção, o impacto ambiental na geração de resíduos e consumo de energia.

O estudo de Lachowicz et al. (2018) investigou o efeito de diferentes polissacarídeos (ágar-ágar, pectina e quitosana) na clarificação de suco de arônia (fruta nativa do leste da América do Norte). Os autores observaram que os polissacarídeos foram eficazes na redução da turbidez e do teor de compostos fenólicos, além de melhorar a atividade antioxidante do suco. O ágar-ágar se mostrou o polissacarídeo mais eficaz na remoção de turbidez, enquanto a pectina apresentou maior efeito na redução do teor de compostos fenólicos.

A utilização de agentes clarificantes à base de polissacarídeos (quitosana, goma xantana, carboximetilcelulose, ágar-ágar, goma alfarrobeira, β -ciclodextrina e goma guar) garantiu um resultado significativo com relação à quantidade de compostos polifenólicos na produção de suco clarificado de arônia (Lachowicz, 2018). A maior quantidade destes compostos foi observada nos sucos com ágar-ágar e goma xantana, onde proporcionaram valores mais baixos de turbidez, maior atividade antioxidante e maior quantidade de compostos bioativos, além dos sucos clarificados apresentaram cores intensas e atraentes (Lachowicz, 2018).

Ainda segundo Lachowicz (2018), sucos clarificados com a adição de diferentes doses de polissacarídeos apresentaram maior atividade antioxidante, maior teor de flavonoides e de procianidinas. As concentrações de compostos fenólicos foram 70% e flavonóis 42% menores em sucos não clarificados, de acordo com Oszmiański e Lachowicz (2016). As concentrações de ácidos fenólicos e flavonóis no suco de arônia foram 70 e 42% menores do que no suco antes do armazenamento e sem agentes clarificantes. O que representou uma influência significativa ($p < 0,05$) no teor dos compostos citados, conforme a pesquisa realizada por estes autores.

As amostras de sucos com polissacarídeos resultaram em maior atividade antioxidante, sendo encontrado no suco clarificado com adição de carboximetilcelulose. A média mais baixa foi encontrada no suco clarificado com adição de goma guar, o que não exibiu influência significativa ($p < 0,05$) quanto a atividade antioxidante nos sucos clarificados (Lachowicz, 2018).

A escolha do método de clarificação depende de diversos fatores, incluindo o tipo de produto, as características das impurezas e os requisitos de qualidade (Lachowicz, 2018). Os polissacarídeos são uma alternativa interessante para a clarificação de líquidos, especialmente em produtos alimentícios, devido à sua origem natural e à sua capacidade de remover uma ampla variedade de impurezas. No entanto, a seleção do polissacarídeo mais adequado deve ser feita de forma cuidadosa, considerando as características específicas de cada produto.

3 HIPÓTESE

A clarificação das polpas de goiaba, manga e maracujá com polissacarídeo permite a obtenção de sucos fermentados contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em concentrações consideradas probióticas, promovendo a manutenção dos padrões de qualidade e de produtos bioativos, incluindo os produzidos por probióticos no suco fermentado.

4 OBJETIVOS

4.3 Objetivo Geral

Investigar o efeito da clarificação das polpas de goiaba, manga e maracujá na produção de sucos probióticos e fermentados por *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469.

4.4 Objetivos Específicos

- Realizar a clarificação das polpas de goiaba, manga e maracujá antes da produção dos sucos probióticos e fermentados utilizando ágar-ágar;
- Realizar a fermentação dos sucos clarificados e não clarificados, variando o tamanho do inóculo;
- Determinar e comparar a influência do tamanho do inóculo na viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 nas fermentações dos sucos de frutas clarificados e não clarificados;
- Determinar e comparar o pH, o consumo de glicose e frutose e a concentração de ácido láctico nas fermentações dos sucos de frutas clarificados e não clarificados.

5 METODOLOGIA

Todas as etapas experimentais e análises foram realizadas no Laboratório de Bioprocessos e Bioprodutos (LabBio) no Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

5.3 Microrganismo: manutenção e inóculo

A cultura de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 utilizada nas referidas análises e processos deste trabalho foi mantida em glicerol a 10% (v/v), a -20 °C em freezer, de acordo com a metodologia proposta por Chang e Liew (2012). O microrganismo foi reativado em frasco de Erlenmeyer de 125 mL, contendo 25 mL do meio ágar MRS (ágar De Man, Rogosa e Sharpe; 1,0 % de peptona, 1,0 % de extrato de carne bovina, 0,4 % de extrato de levedura, 2,0 % de glicose, 0,5 % de acetato de sódio tri-hidratado, 0,1 % de polissorbato 80, 0,2 % de hidrogenofosfato de dipotássio, 0,2 % de citrato de triamônio, 0,02 % de sulfato de magnésio hepta-hidratado, 0,005 % de sulfato de manganês tetra hidratado, 1,0 % de ágar). O frasco foi incubado em estufa (SP-101/216, LABOR) a 37 °C, durante 24 horas.

5.2 Clarificação das polpas de goiaba, de manga e de maracujá

As polpas de manga (*Mangifera indica* L.), maracujá amarelo (*Passiflora edulis*) e goiaba paloma (*Psidium guajava* L.) foram adquiridas comercialmente na Região Metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco, Brasil, as quais foram armazenadas à -20°C (FE 22, Eletrolux).

A clarificação foi baseada no método proposto por Lachowicz (2018), que utiliza como agente clarificante o polissacarídeo ágar-ágar. Esse processo tem como características proporcionar baixos valores de turbidez, garantir a intensidade da cor, assegurar os parâmetros bioquímicos dos sucos, assim como baixos valores de precipitado e compostos polifenólicos e maior teor de compostos bioativos e atividade antioxidante.

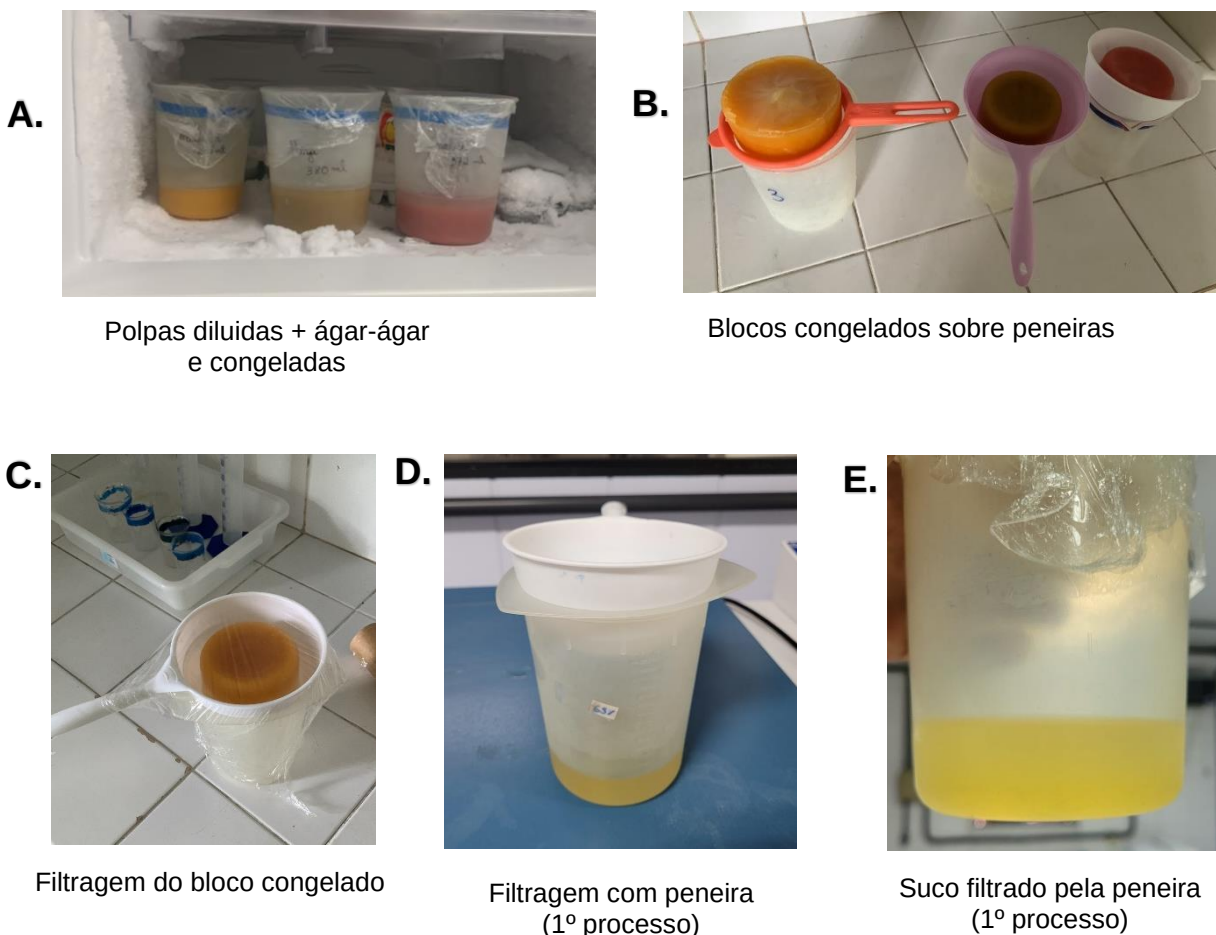
Para o processo foi utilizado 50% de polpa de fruta e 50% de água destilada. Para hidratação do ágar-ágar (1g/L), parte da água destilada (100 mL) usada na diluição da polpa (100 mL) foi previamente aquecida em forno de microondas por 45 segundos, em seguida foi transferida para ser aquecida com o bico de Bunsen até atingir ponto de fervura (95 °C). A água aquecida foi transferida para o becker contendo o ágar (0,20g). A mistura foi homogeneizada. O hidratado foi então transferido para o becker contendo a polpa e o restante da água, procedendo-se

novamente, com a homogeneização. A mistura suco com ágar-ágar hidratado (200 mL) foi então congelada a -18°C em freezer por 24 horas (Figura 1A) para garantir a total manutenção do suco.

Em seguida, o bloco congelado foi transferido para uma peneira encaixada sobre um becker de 600 mL (Figura 1B), coberto com filme plástico e deixado por 24 horas sob refrigeração à 4°C , para que ocorresse a filtração por gravidade (Figura 1C-D-E) para que o processo ocorresse de forma lenta e precisa, retendo o maior volume de fibras possível na peneira. Após esse processo o suco decantado foi filtrado a vácuo (Figura 1F-G) utilizando um filtro de café de papel de $20\text{ }\mu\text{m}$ (Mellita 100) para que as partículas restantes fossem retidas.

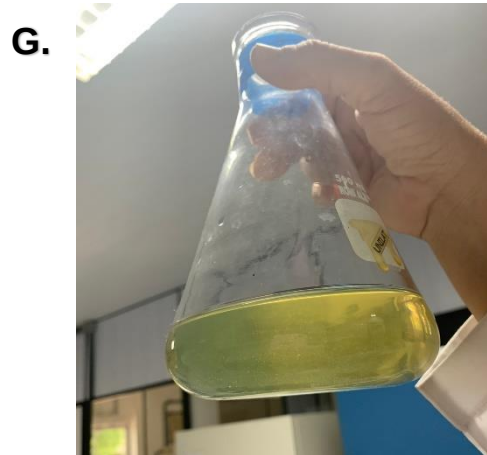
O pH do suco clarificado foi ajustado para 6 com NaOH (2 M) (Figura 1H-I-J), para que a condição se tornasse favorável para o crescimento do microrganismo, utilizando um potenciômetro (P62000, Gehaka). Em seguida, foi realizada a pasteurização em banho maria (TE-084, Pyrotec) durante 35 minutos a $67 \pm 2^{\circ}\text{C}$, com posterior resfriamento em banho com gelo (Farias *et al.*, 2016).

Figura 1. Processo de clarificação das polpas das frutas.

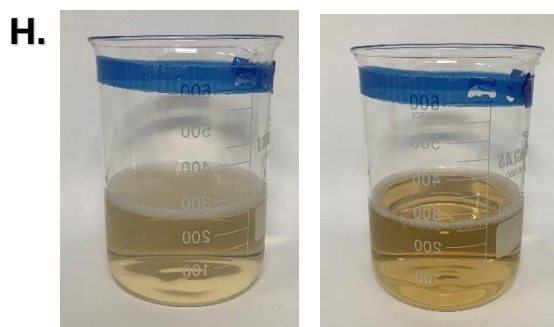




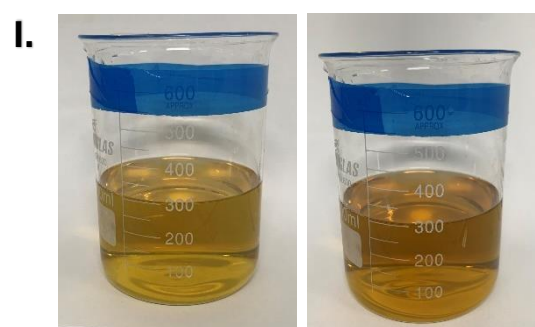
Filtração a vácuo
(2º processo)



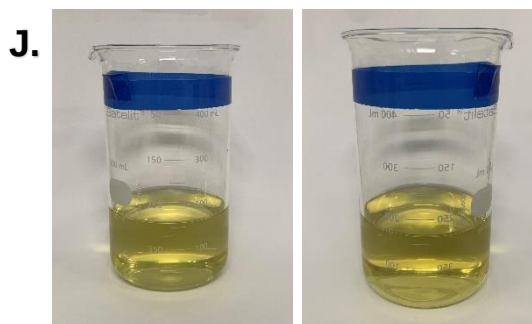
Suco filtrado a vácuo
(2º processo)



Suco de goiaba clarificado.
Antes e após correção do pH



Suco de manga clarificado.
Antes e após correção do pH



Suco de maracujá clarificado.
Antes e após correção do pH

Fonte: Autoria própria. (2024)

5.3 Fermentações dos sucos com e sem clarificação

Inicialmente, o microrganismo foi reativado como descrito no item 5.1 (Figura 2) e após 24 horas de incubação, 5%, 7,5% ou 10% v/v de inóculo foram transferidos para frascos de 125 mL de Erlenmeyer, contendo 47,5 mL, 46,25 mL e 45 mL, respectivamente, do meio de cultura (sucos clarificado e não clarificado). O volume reacional foi 50 mL. Os frascos foram novamente incubados, nas mesmas condições anteriores, mas durante 12 horas conforme dados resultantes da determinação das

curvas de crescimento obtidas, e as réplicas foram todas em duplicata para cada tipo de suco e volume de inóculo utilizados.

Foram realizados estudos cinéticos nas fermentações dos sucos clarificados, para a determinação das curvas de crescimento pela absorbância e posterior determinação das velocidades específicas máximas ($\mu_{\max}$). As determinações do pH, da viabilidade celular, da concentração de ácido lático e do consumo de glicose e frutose foram realizadas no início e com 12 horas de fermentação dos sucos com e sem clarificação.

Figura 2. Reativação do microrganismo *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 4769. Incubação em estufa à 37 °C por 24 horas.



Fonte: Autoria própria. (2024)

5.4 Métodos analíticos

5.4.1 Determinação do pH

Para a determinação do pH durante as fermentações foi utilizado um pHmetro (P62000, Gehaka).

5.4.2 Determinação da curva de crescimento

Nos sucos clarificados, o crescimento do probiótico foi determinado pela absorbância (600 nm), sendo 1 mL do suco fermentado transferido para um balão volumétrico de 10 mL, diluído em água destilada até completar o menisco e realizada a leitura da absorbância a 540 nm em espectrofotômetro (VIS-2006, Gehaka). A velocidade específica máxima de crescimento, em cada fermentação, foi determinada pelo ajuste exponencial dos valores das absorbâncias.

5.4.3 Determinação da viabilidade celular

A viabilidade celular, expressa em Unidades Formadoras de Colônia por Mililitros

(UFC/mL), foi determinada após o plaqueamento *spread plate* em meio MRS ágar (Farias et al., 2016). As amostras foram incubadas em estufa (SP-101/216, LABOR) a 37°C durante 48 horas para posterior contagem de UFC. Foi utilizado este método nas amostras retiradas nos tempos inicial e final das fermentações, dos sucos clarificados e não clarificados.

5.4.4 Determinação das concentrações de ácido láctico, glicose e frutose

A determinação de ácido láctico, glicose e frutose durante as fermentações foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência (Farias, 2016). Para a determinação de ácido láctico, um detector por arranjo de diodos (DAD) e uma coluna de troca iônica de 300x7,8 milímetros (Aminex® HPX-87H, Bio-Rad, EUA), com 9 µm de tamanho de partículas, foram utilizados. Um sistema de eluição isocrática foi aplicado para a fase móvel (H₂SO₄ 5 mM), com vazão de 0,6 mL/ min e temperatura de 30 °C. As amostras foram diluídas em fase móvel e filtradas em membrana com diâmetro de poro de 0,2 µm. As determinações de glicose e de frutose foram realizadas a 40 °C e detector por índice de refração, mesma fase móvel e vazão usadas na determinação do ácido láctico.

5.4.5 Análise de dados

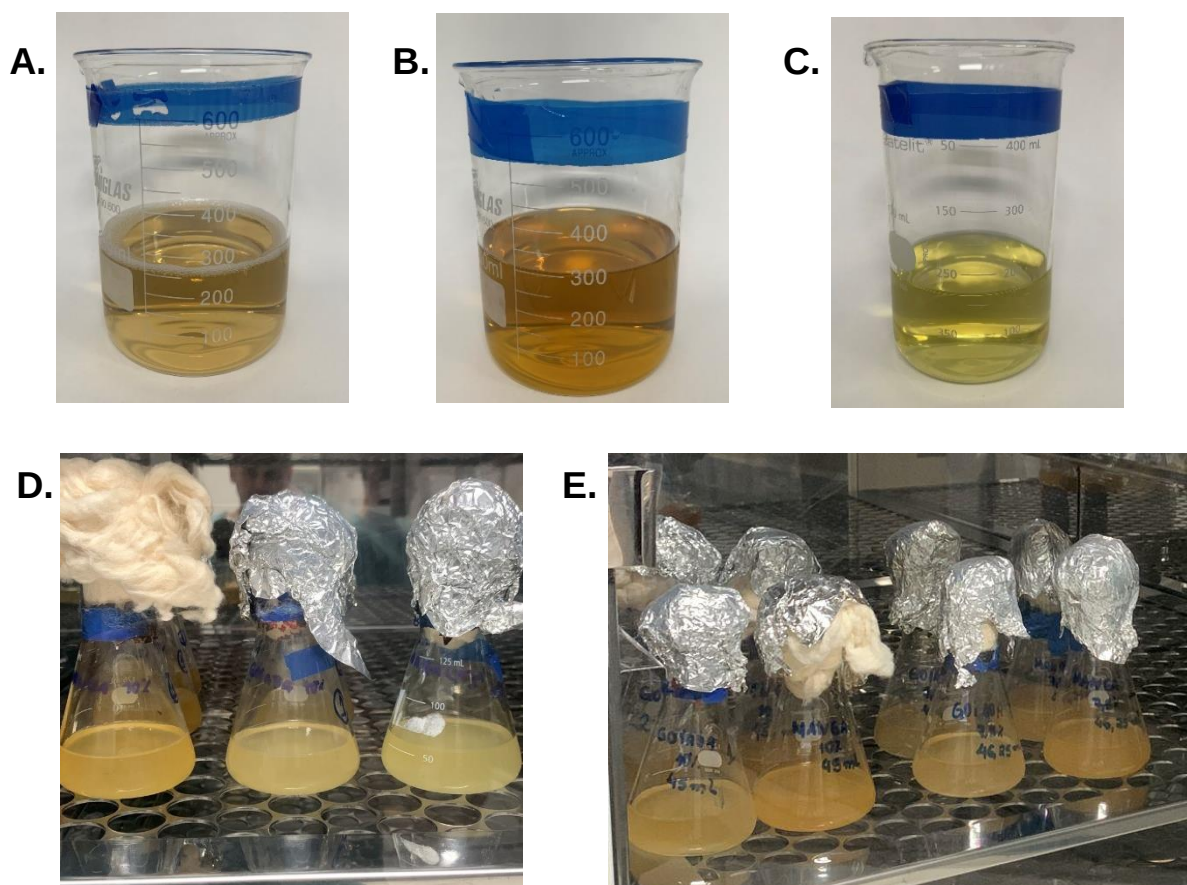
Os valores médios para viabilidade do microrganismo e as demais análises foram realizadas em duplicata, e a comparação dos dados foi realizada por meio dos resultados obtidos através das médias aritméticas e desvios padrão. Os gráficos foram construídos no Excel ®.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Influência do tamanho do inóculo no crescimento de *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 7469

As Figuras 3A, 3B E 3C apresentam os sucos de goiaba, manga e maracujá após clarificação e correção do pH e antes do processo de adição do inóculo e fermentação. As Figuras 3D e 3F apresentam os sucos clarificados com o inóculo e a fermentação após 12 horas de incubação, respectivamente.

Figura 3. Sucos clarificados de goiaba (A), manga (B) e maracujá (C) antes da fermentação. Sucos clarificados (D-E) após fermentação.



Fonte: Autoria própria. (2024)

A Figura 4A apresenta os sucos não clarificados de goiaba, manga e maracujá com correção do pH antes do processo de adição do inóculo e fermentação. A Figura 4B apresentam os sucos não clarificados com o inóculo e a fermentação após 12 horas de incubação.

Figura 4. Sucos não clarificados de maracujá, manga e goiaba (A) antes da fermentação. Sucos não clarificados de manga, maracujá e goiaba (B) após fermentação.

A.



Sucos de maracujá, manga e goiaba, respectivamente.

B.



Sucos de manga, maracujá e goiaba, respectivamente.

Fonte: Autoria própria. (2024)

A Figura 5 apresenta o estudo cinético do crescimento durante as fermentações dos sucos clarificados utilizando os três tamanhos de inóculos (5%, 7,5% e 10% v/v). De acordo com esta figura, é possível observar que o aumento da absorbância na fermentação com o inóculo de 5% v/v foi mais acentuada nas primeiras 3 horas no suco clarificado de goiaba (Figura 5A), o que foi confirmado com o valor da velocidade específica máxima de crescimento, $\mu_{\max}$, (Tabela 2). Por outro lado, as curvas de crescimento dos demais inóculos (7,5% e 10% v/v) foram similares até nove horas de fermentação, o que também refletiu nos valores de $\mu_{\max}$ encontrados (Figura 5A). Vale ressaltar que o melhor ajuste (R^2) foi obtido na fermentação com o inóculo de 5 % v/v para o suco de goiaba.

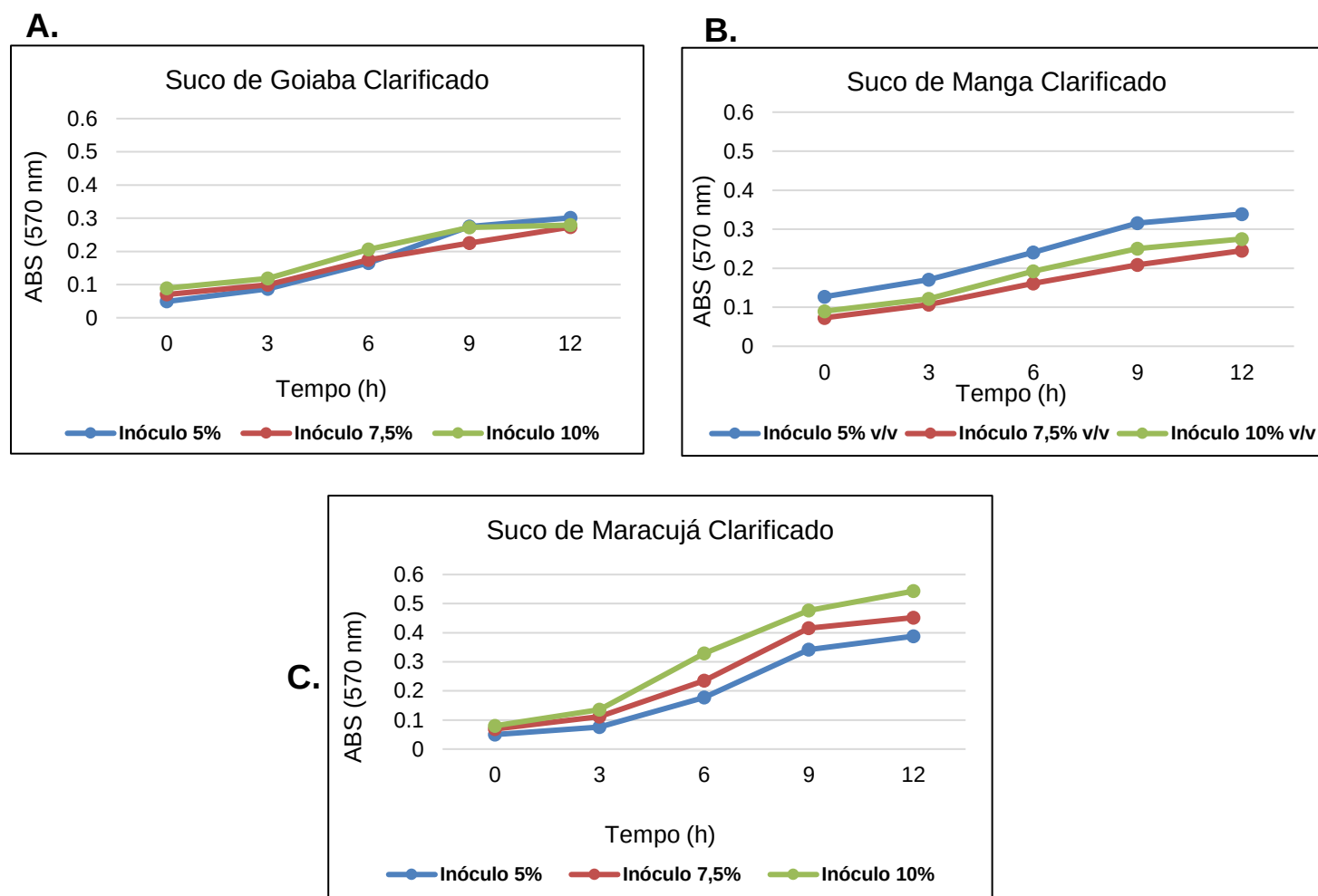
O inóculo de 5% v/v apresentou as maiores absorbâncias em todos os momentos, seguido pelo inóculo de 10% v/v e, por último, o inóculo de 7,5% v/v no suco clarificado de manga (Figura 5B). Essa informação foi confirmada através do valor da velocidade específica máxima de crescimento, $\mu_{\max}$ (Tabela 2).

Em relação ao suco de maracujá clarificado, de acordo com os resultados de absorbância, a medida que aumentou o tamanho do inóculo também houve aumento na absorbância (Figura 5C), o que está diretamente relacionado com os resultados da velocidade específica máxima de crescimento, $\mu_{\max}$ (Tabela 2).

Entretanto, apesar dos resultados serem diferentes quanto aos valores de absorbância de cada inóculo, todos apresentaram curvas de crescimento similares até nove horas de fermentação, refletindo nos valores de $\mu_{\max}$ encontrados (Tabela 2) e a

partir de doze horas de fermentação o microrganismo estava entrando em fase estacionária. Sendo assim, a faixa compreendida entre 0 e 12 horas se tornou o período de tempo necessário para realização de todas as análises deste trabalho.

Figura 5. Curva de crescimento do *Lacticaseibacillus rhamnosus* ATCC 7469 durante fermentações em meio de sucos de goiaba, manga e maracujá clarificados com diferentes porcentagens de inóculo.



Fonte: Autoria própria. (2024)

As curvas de crescimento obtidas nas fermentações dos sucos foram utilizadas para as determinações das velocidades específicas máximas de crescimento (Tabela 2). Todos os coeficientes de determinação foram maiores do que 0,96, indicando bons ajustes. O menor coeficiente de variação foi entre os valores obtidos nas fermentações do suco de maracujá (4,8 %), seguido do suco de manga (10,2 %). A maior variação foi observada no suco de goiaba, comprovada pelo valor do coeficiente de variação (20,1 %). Por outro lado, as maiores velocidades foram obtidas nas fermentações do suco de maracujá ($0,21 \text{ h}^{-1}$ em média).

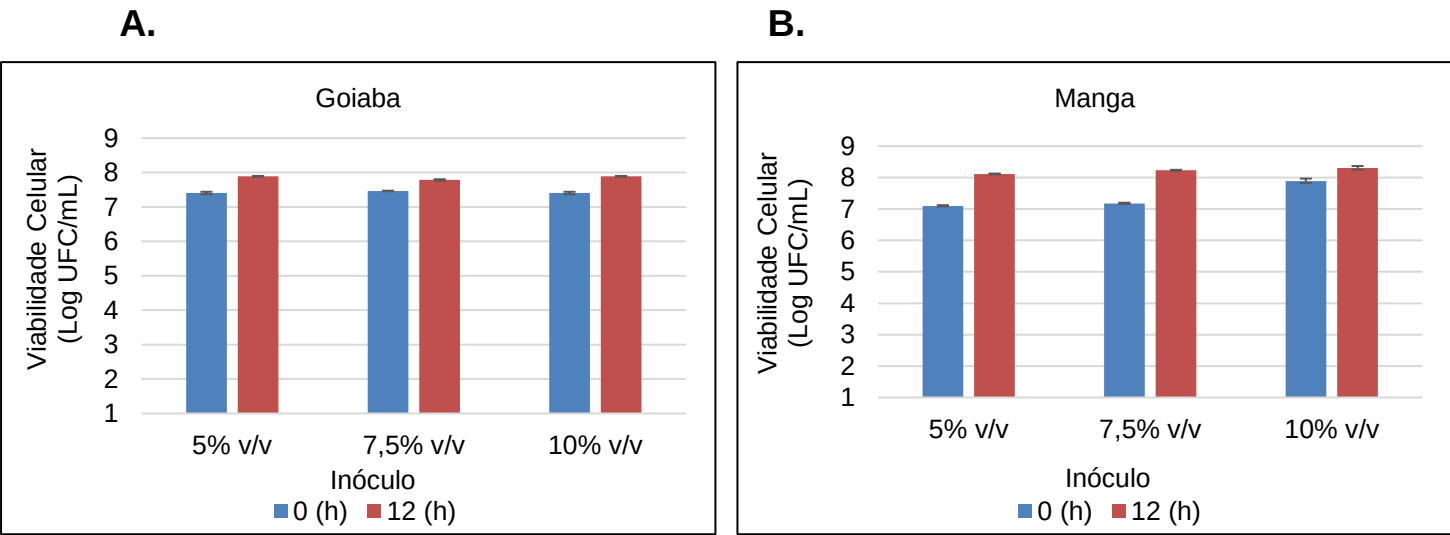
Tabela 2. Velocidades específicas máximas de crescimento obtidas nas fermentações dos sucos clarificados de goiaba, de manga e de maracujá utilizando os três tamanhos de inóculo (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).

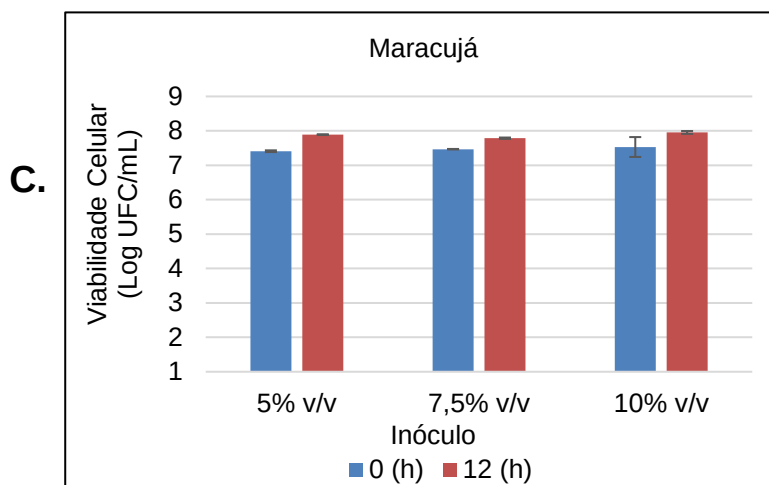
Inóculo (% v/v)	Goiaba			Manga		Maracujá	
	$\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)	R ²		$\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)	R ²	$\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)	R ²
5	0,19	0,9972		0,10	0,9975	0,22	0,9963
7,5	0,14	0,9723		0,12	0,9877	0,20	0,9973
10	0,13	0,9789		0,12	0,9873	0,21	0,9606

Fonte: Autoria própria. (2024)

Ainda sobre o crescimento microbiano, a Figura 6 apresenta os valores de viabilidade celular nas fermentações dos três sucos clarificados probióticos e fermentados, usando os três tamanhos de inóculo. Todos os sucos e seus inóculos apresentaram média de viabilidade próximas ou acima de 8 log (UFC/mL) após 12 horas de fermentação. Valores maiores ou iguais a 8 log (UFC/mL) foram obtidos apenas em todas as fermentações com os 3 tamanhos de inóculos nos sucos de manga.

Figura 6. Viabilidade celular nas fermentações dos sucos clarificados probióticos e fermentados, usando três tamanhos de inóculo (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).





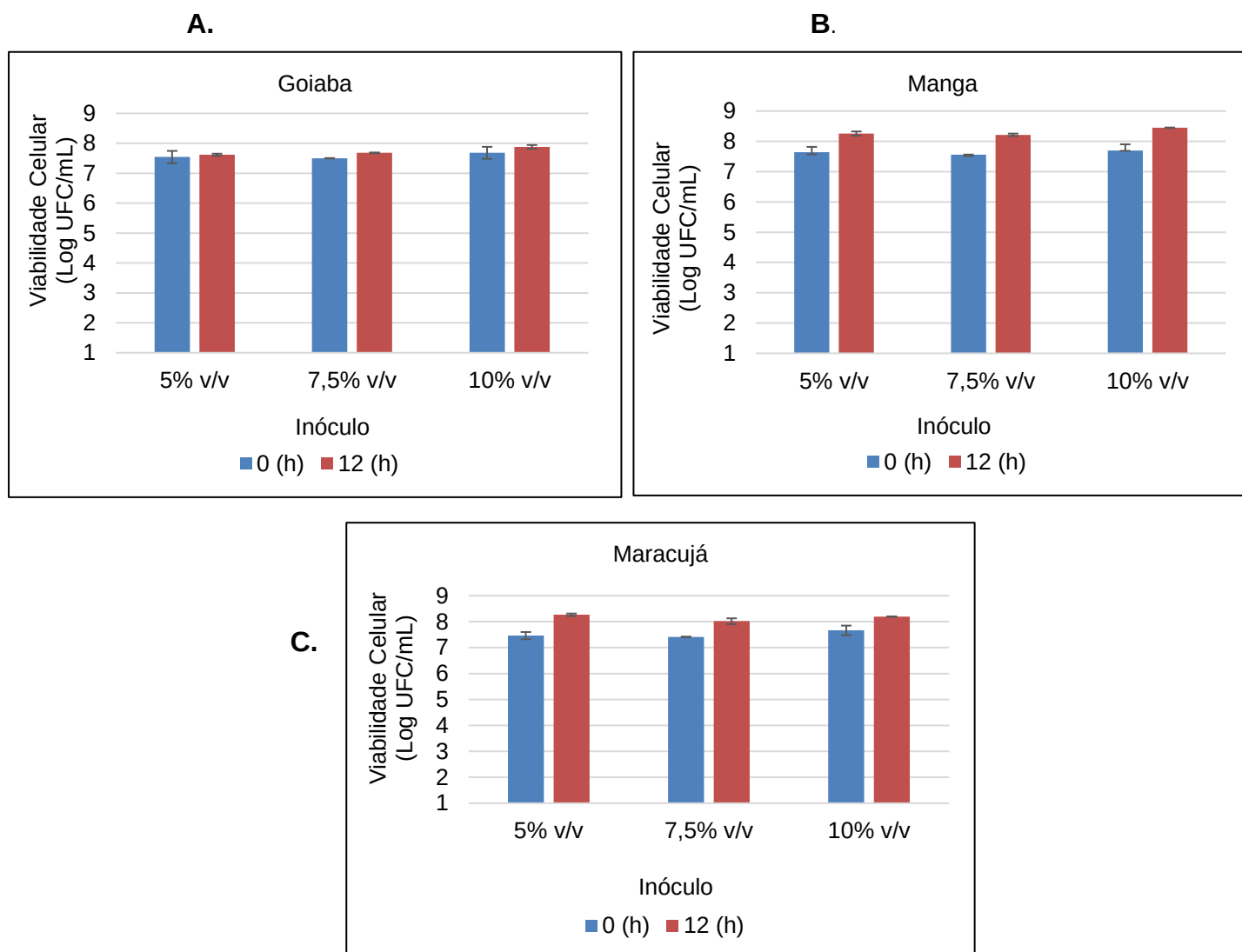
Fonte: Autoria própria. (2024)

Estudos mostraram que *L. rhamnosus* ATCC 7469 manteve a viabilidade, com dados chegando a 8 Log UFC/mL após 12 horas de fermentação. Os resultados do presente estudo sobre sucos clarificados estão de acordo com Farias *et al* (2016) e Santos *et al* (2017) com suco de maracujá da caatinga, Santos *et al.* (2019) com suco de goiaba e Santos *et al.* (2023) com suco de manga fornecendo evidências robustas comprovando a alta viabilidade de *L. rhamnosus* ATCC 7469 em sucos de frutas mesmo que os autores tenham utilizado sucos não clarificados em seus estudos com 10% v/v de inóculo.

A Figura 7 apresenta os valores de viabilidade celular nas fermentações dos três sucos não clarificados probióticos e fermentados, usando os três tamanhos de inóculo. Assim como nos resultados dos sucos clarificados, os sucos não clarificados e seus inóculos apresentaram média de viabilidade próximas ou acima de 8 log (UFC/mL) após 12 horas de fermentação. Com exceção do suco de goiaba, que apresentou a média viabilidade final próxima ao tempo inicial nos tamanhos de inóculo de 5% e 7,5% v/v.

De acordo com os dados estatísticos, nos sucos clarificados não houve aumento significativo ($p < 0,05$) quanto a viabilidade após 12 horas de fermentação e nos sucos não clarificados de goiaba houve diferença significativa entre 5% e 7,5% v/v de inóculo, entre 7,5% e 10% v/v, mas não houve diferença significativa entre 5% e 10% v/v. No suco não clarificado de manga não houve diferença significativa entre 5% e 7,5% v/v, mas houve entre 5% e 10% v/v, e entre 7,5% e 10% v/v. Já no suco não clarificado de maracujá não houve diferença significativa entre todos os tamanhos de inóculos.

Figura 7. Viabilidade celular nas fermentações dos sucos não clarificados probióticos e fermentados, usando três tamanhos de inóculo (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).



Fonte: Autoria própria. (2024)

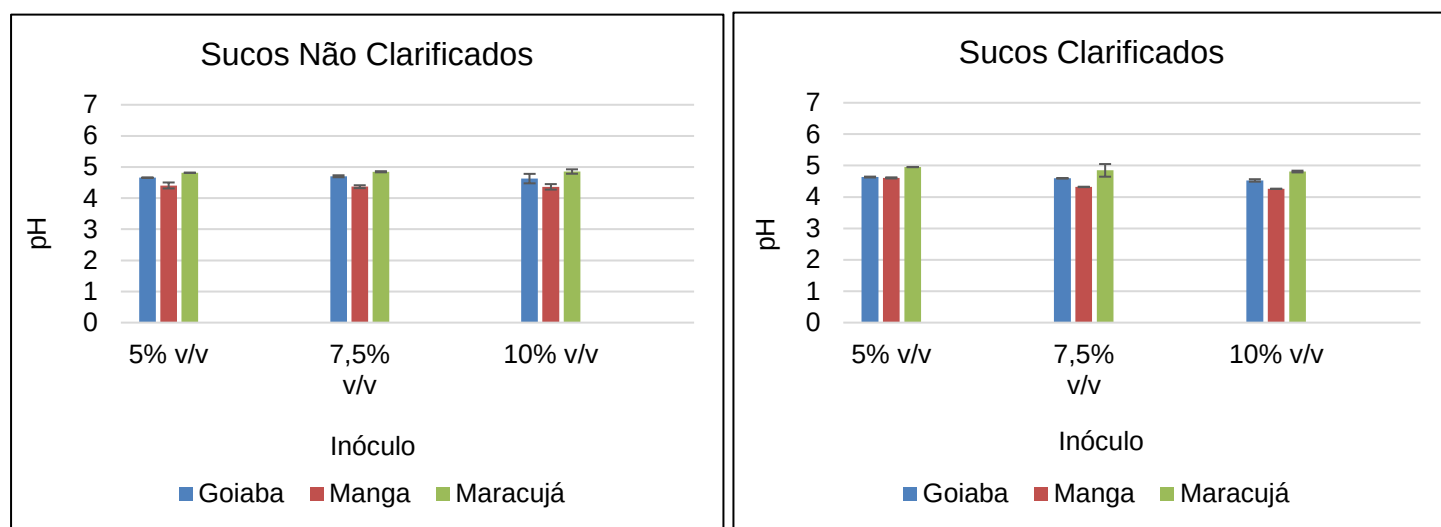
6.2 Aspectos físico-químicos dos sucos clarificados e não clarificados probióticos e fermentados

A Figura 8 apresenta os valores do pH com 12 horas de fermentação. A análise estatística revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) na redução do pH entre os diferentes tratamentos, considerando as variáveis tipo de fruta, concentração de inóculo e processo de clarificação. A adição do inóculo promoveu uma redução significativa do pH em todos os sucos clarificados e não clarificados, indicando a atividade fermentativa das bactérias lácticas. Não houve um padrão claro de aumento da redução do pH com o aumento da concentração de inóculo, sugerindo que outros fatores podem influenciar a fermentação.

O suco de maracujá apresentou, em geral, maior redução de pH em comparação

com os sucos de goiaba e manga, indicando uma maior susceptibilidade à fermentação. A composição química específica de cada fruta, como a concentração de açúcares fermentáveis e a presença de compostos inibidores, pode ser um dos fatores que causaram essas diferenças. A clarificação dos sucos não influenciou significativamente a redução do pH em todos os sucos e tamanhos de inóculos.

Figura 8. pH final nas fermentações dos sucos não clarificados e clarificados utilizando diferentes inóculos (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).

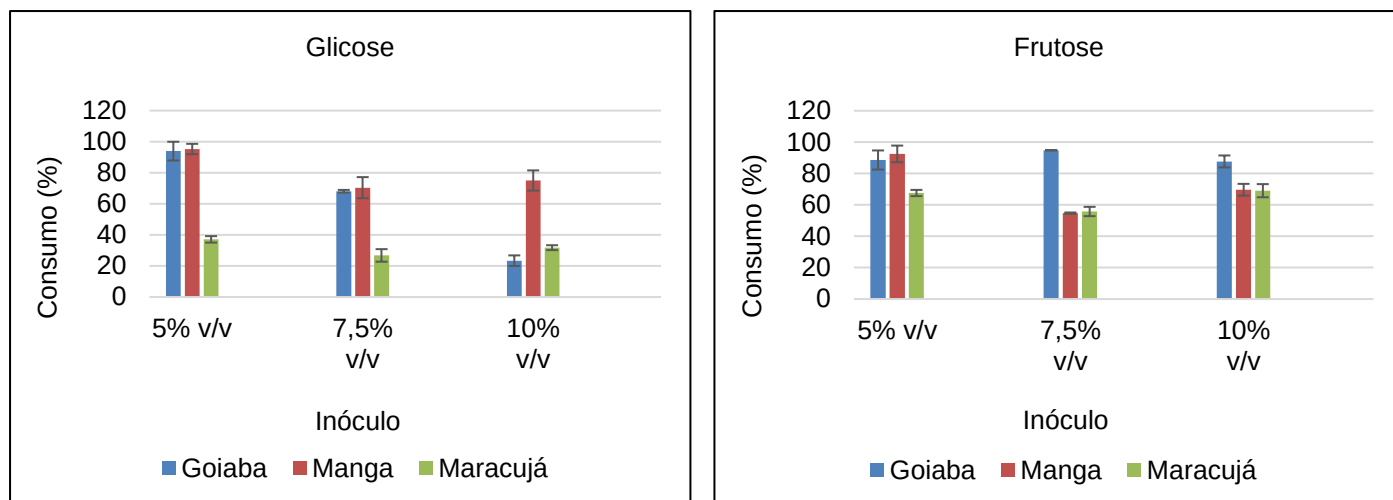


Fonte: Autoria própria. (2024)

Os resultados corroboram com os resultados das pesquisas de Santos et al. (2017), Santos et al (2019), Santos (2022) e Mendes et al. (2023) quanto à diminuição do pH em sucos de frutas não clarificados durante a fermentação com *L. rhamnosus* ATCC 7469.

O consumo de carbono é um fator importante nos estudos de fermentação. Assim, a análise dos resultados mostrou variações significativas no consumo de glicose e frutose nos sucos clarificados e não clarificados, bem como entre os diferentes tamanhos de inóculo. Para o inóculo de 5% v/v, observou-se que nos sucos sem clarificação, no suco de goiaba os resultados de porcentagem de consumo de glicose e frutose foram de 94% e 89%, respectivamente, o suco de manga apresentou um consumo elevado de glicose (95,3%) e frutose (92,5%) (Figura 9). Já o suco de maracujá apresentou percentual de consumo de glicose de 37,1% e frutose de 67,6%. Por outro lado, no suco clarificado, o maracujá apresentou resultados superiores, com 96,2% de glicose e 98,6% de consumo de frutose.

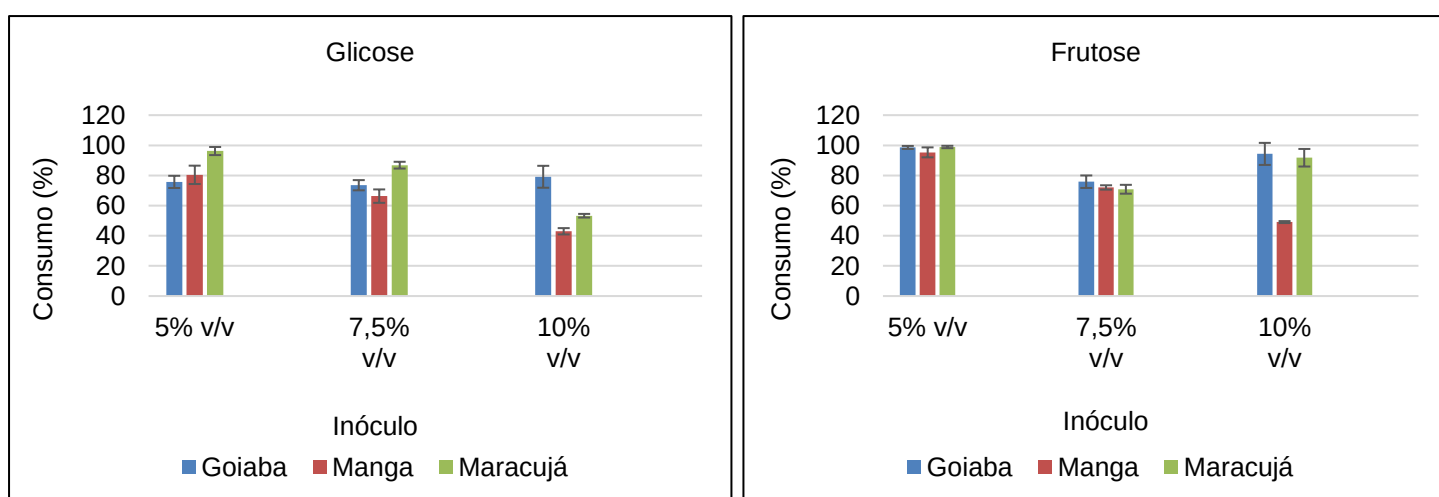
Figura 9. Consumo de glicose e frutose nos sucos não clarificados com diferentes porcentagens do inóculo (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).



Fonte: Autoria própria. (2024)

Com o inóculo de 7,5% v/v, os sucos clarificados apresentaram consumo mais equilibrado de glicose e de frutose quando comparados aos sucos sem clarificação. Notadamente, o suco clarificado de maracujá registrou elevado consumo de glicose (86,8%) e frutose (70,8%) para 5% de inóculo, enquanto o consumo de glicose e frutose manteve-se em valores superiores a 66,29% e 72,04% no suco de manga e 74% e 76% no suco de goiaba (Figura 10). Por outro lado, com o inóculo de 10%, os resultados foram diferenciados. Enquanto os consumos de glicose foi de 74% e 42,97% e frutose foi de 94% e 49,08%, respectivamente, nos sucos clarificados de goiaba e manga, no suco de maracujá o consumo de glicose foi de 53,3% e frutose foi de 91,8% para o mesmo tamanho de inóculo.

Figura 10. Consumo de glicose e frutose nos sucos clarificados com diferentes porcentagens do inóculo (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).



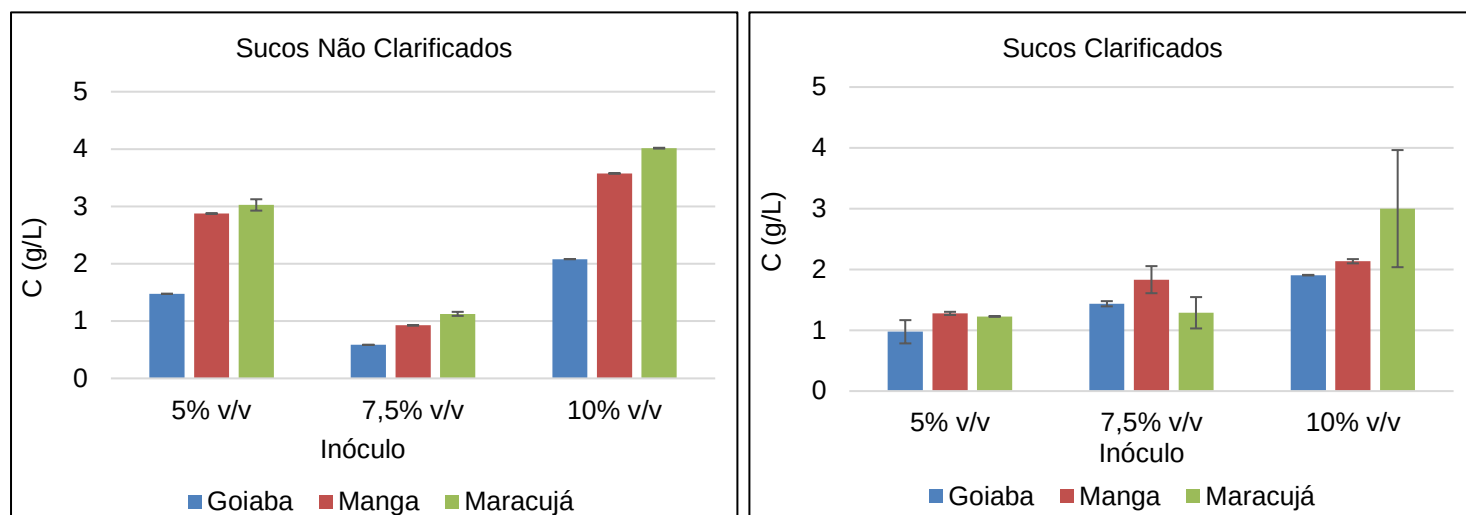
Fonte: Autoria própria. (2024)

Em relação à produção de ácido láctico, a Figura 11 apresenta os valores obtidos em cada uma das condições. Houve produção deste ácido independente da clarificação, da fruta e do inóculo utilizado.

Nos sucos não clarificados, uma elevada produção de ácido láctico foi observada nas fermentações do suco de maracujá, para os três tamanhos de inóculos. O inóculo de 5% v/v resultou em uma concentração de 3 g/L, 7,5% v/v 1,1 g/L e o inóculo de 10% v/v resultou em 4 g/L. Nos sucos de manga a produção de ácido láctico apresentou valor intermediário nas fermentações, sendo 2,8 g/L com o inóculo de 5%, 0,9 g/L com 7,5% e 3,5 g/L com 10% de inóculo, e no suco de goiaba 1,4 g/L foram obtidas com o inóculo de 5%, 0,5 g/L com 7,5% e 2 g/L com o inóculo de 10% v/v, sendo uma produção baixa quando comparado com os sucos de manga e maracujá. Estes resultados podem estar associados a concentração de polpa de goiaba utilizada para o estudo (50%), o que interfere na atuação do microrganismo e a produção de ácido láctico.

Nos sucos clarificados, a produção de ácido láctico não seguiu o mesmo padrão observado nos sucos não clarificados. A medida que o inóculo aumentou, também houve aumento na produção de ácido láctico em todos os sucos. O suco de goiaba clarificado teve como resultados 0,9 g/L com 5% de inóculo, 1,4 g/L com 7,5% e 1,9 g/L com 10% v/v. No suco de manga clarificado, o inóculo de 5% resultou em uma concentração de 1,2 g/L, com 7,5% foram 1,8 g/L e com 10% a concentração foi de 2,1 g/L, sendo os inóculos de 5% e 7,5% v/v os que apresentaram a concentração mais elevada comparada aos demais sucos utilizando os mesmos tamanhos de inóculo. Por outro lado, o suco de maracujá clarificado teve como resultados de concentração de ácido láctico, 1,2 g/L com 5% de inóculo, 1,3 g/L com 7,5% e 3 g/L com o inóculo de 10% v/v, sendo este último o que obteve a concentração acima dos demais tamanhos de inóculo quando comparado aos sucos de goiaba e manga clarificados.

Figura 11. Concentração (C) de ácido láctico em sucos não clarificados e clarificados utilizando diferentes inóculos (5% v/v, 7,5% v/v e 10% v/v).



Fonte: Autoria própria. (2024)

Levando em consideração os resultados obtidos, a concentração de ácido láctico produzido durante a fermentação dos sucos não clarificados e clarificados, o suco de goiaba não clarificado produziu 2 g/L com o inóculo de 10% v/v, resultado que se assemelha com a concentração de 2,2 g/L que foi obtida por Andrade *et al.* (2017), onde foi utilizado o mesmo tamanho de inóculo e suco em questão. No suco de manga não clarificado a produção foi de 3,5 g/L com o inóculo de 10% v/v, o que difere dos resultados de 6,2 g/L obtidos por Santos *et al.* (2022) utilizando as mesmas condições. Para o suco de maracujá não clarificado, a concentração foi de 4 g/L com o inóculo de 10% v/v, o que se aproximou dos resultados do estudo de Farias *et al.* (2016), onde a produção foi de 6g/L, mas neste caso utilizando Maracujá da Caatinga.

Quanto aos sucos clarificados quando comparados com os sucos não clarificados, apesar da redução de fibras, turbidez e compostos presentes nos sucos, a concentração de ácido láctico se manteve estável e a medida que aumentou o tamanho do inóculo houve também um aumento na produção do ácido. A produção de ácido láctico esteve presente nos sucos clarificados, principalmente com o inóculo de 10% v/v no suco de maracujá, permitindo apontar neste caso que a clarificação ainda propicia a adaptação do *L. rhamnosus* ATCC 7469 e garante a produção de metabólitos por parte do microrganismo.

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que a fermentação láctica pode ser uma ferramenta eficaz para a produção de sucos fermentados com diferentes características sensoriais e nutricionais. A escolha do tipo de fruta, da concentração de inóculo e do processo de clarificação são fatores importantes que influenciam o resultado final da fermentação.

Em alguns casos, a clarificação pode ter favorecido a fermentação, enquanto em outros casos, o efeito foi o oposto. A presença de sólidos em suspensão nos sucos não clarificados pode ter influenciado a atividade microbiana e a cinética das fermentações.

A viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 variou entre os diferentes tratamentos, com maior crescimento observado nos sucos não clarificados. A presença de sólidos em suspensão nos sucos não clarificados pode ter fornecido um ambiente mais favorável para o crescimento bacteriano. A adição do microrganismo promoveu a redução do pH em todos os sucos analisados. O tipo de fruta e o processo de clarificação influenciaram a eficiência da fermentação e a produção de metabólitos.

A produção de ácido láctico foi maior nos sucos de maracujá e nos sucos com maior concentração de inóculo, seguido dos sucos de manga e goiaba. A clarificação do suco influenciou a produção de ácido láctico, com resultados variáveis dependendo do tipo de fruta e da concentração de inóculo. O consumo de glicose e frutose variou entre os diferentes tratamentos, sendo maior nos sucos clarificados e nos sucos com maior concentração de inóculo. A presença de sólidos em suspensão nos sucos não clarificados pode ter dificultado o acesso das bactérias aos açúcares, reduzindo o consumo.

Não foi possível afirmar que uma única fruta seja o melhor veículo para a obtenção de suco probiótico fermentado. A escolha da fruta ideal dependerá dos objetivos específicos do processo de produção, como a obtenção de um produto com alta acidez, baixo pH, ou com um perfil sensorial específico.

A fermentação utilizando *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em sucos de frutas é uma tecnologia promissora para a produção de alimentos funcionais com propriedades probióticas e prebióticas. Os resultados deste estudo contribuem para o desenvolvimento de novos produtos lácteos fermentados com base em frutas tropicais.

Como recomendações futuras seria indicado realizar novos experimentos variando as condições de fermentação. Analisar a composição química detalhada dos sucos identificando compostos específicos que podem influenciar a fermentação pode auxiliar na seleção de frutas mais adequadas. Avaliar o perfil sensorial dos sucos

fermentados realizando testes sensoriais que podem auxiliar na identificação de produtos com maior aceitação pelos consumidores. Investigar a estabilidade dos sucos fermentados durante o armazenamento avaliando a viabilidade das bactérias lácticas e da estabilidade dos compostos bioativos ao longo do tempo é fundamental para garantir a qualidade do produto final. Além de caracterizar a microbiota presente nos sucos fermentados para identificar outras espécies de bactérias lácticas que podem contribuir para a formação de aroma e sabor.

REFERÊNCIAS

- Acevedo-Martínez, Elizabeth Cristina; Cortés, Carolina Gutiérrez; Mahecha, Maribel García; Moreno, Consuelo Díaz. Avaliação da viabilidade de bactérias probióticas na bebida manga (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins"). **Dyna**, [S.L.], v. 85, n. 207, p. 84-92, 1 out. 2018. Universidade Nacional da Colômbia.
<http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v85n207.70578>.
- Agricultores_Brasileiros, 2024. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de frutas.
<https://brazilianfarmers.com/news/brazil-is-the-worlds-third-largest-fruit-producer/>.
(Acesso em 17 mai 2024).
- Alkhatib, Ahmad; Ribeiro, Márcia; Ribeiro, Flávio; Bahorun, Teesã; Arefanian, Hossein; Barake, Roula; Ribeiro, Márcia; Tuomilehto, Jaakko. Alimentos Funcionais e Abordagens do Estilo de Vida para Prevenção e Manejo do Diabetes. **Nutrientes**, [S.L.], v. 9, n. 12, p. 1310, 1 dez. 2017. MDPI AG. <HTTP://DX.doi.org/10.3390/to9121310>.
- Alves, Niédila Nascimento; Messaoud, Ghazi Ben; Desobry, Stéphane; Costa, José Maria Correia; Rodrigues, Sueli. Efeito da técnica de secagem e do fluxo de alimentação sobre a sobrevivência bacteriana e propriedades físico-químicas de um suco fermentado em pó não lácteo. **Revista de Engenharia de Alimentos**, [S.L.], v. 189, p. 45-54, nov. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.023>.
- Alves, S.D.C., Ferreira, I.O., Marangon, B.B. *et al.*, 2024. Análise multicritério como ferramenta de apoio à fruticultura no semiárido brasileiro. *Environ Dev Sustain*.
<https://doi.org/10.1007/s10668-024-04521-9>.
- Andrade, R.H.C. Estabilidade e aceitabilidade de sucos probióticos de goiaba (*Psidium guajava* L.) contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. [dissertação mestrado]. Pernambuco (PE):Universidade Federal de Pernambuco; 2017.
- Asgary, Sedigheh; Rastqar, Ali; Keshvari, Mahtab. Alimentação Funcional e Prevenção e Tratamento de Doenças Cardiovasculares: uma revisão. **Journal Of The American College Of Nutrition**, [S.L.], v. 37, n. 5, p. 429-455, 12 mar. 2018. Informa UK Limited.
<http://dx.doi.org/10.1080/07315724.2017.1410867>.
- Azad, Md. Abul Kalam; Sarker, Manobendro; Ribeiro, Adriano; Yin, Jie. Espécies Probióticas na Modulação da Microbiota Intestinal: uma visão geral. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2018, p. 1-8, 2018. Hindawi Limitada.

<http://dx.doi.org/10.1155/2018/9478630>.

Barros, Z.M.P. Desenvolvimento de sucos probióticos termossonicados e pasteurizados de acerola e goiaba. *Tese*. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco. 2020.

BRASILa. Instrução Normativa - N° 60. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. 2019.

BRASILb. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC No 331. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial da União**. 2019.

Campoli, Stephanie Suárez; Rojas, Meliza Lindsay; Amaral, José Eduardo Pedroso Gomes Do; Canniatti-Brazaca, Solange Guidolin; Augusto, Pedro Esteves Duarte. Processamento ultrassonográfico de suco de goiaba: efeito na estrutura, propriedades físicas e acessibilidade in vitro do licopeno. **Química de Alimentos**, [S.L.], v. 268, p. 594-601, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.127>.

Chang, C. P., Liew, S. L. Growth medium optimization for biomass production of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469. *Journal of Food Biochemistry*, v. 37, p. 536-543, 2012.

Chen, Hongji; Chen, Yixin; Ye, Xingqian; Liu, Donghong; Chen, Jianchu. Turbidez, compostos antioxidantes, cor e dinâmica de clarificação de suco de mirtilo usando vários agentes clarificantes à base de polissacarídeo. **Revista de Processamento e Conservação de Alimentos**, [S.L.], v. 43, n. 7, p. 13980, 7 maio 2019. Hindawi Limitada. <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13980>.

Corrêa, Rúbia C.G.; Peralta, Rosane M.; Ribeiro, Edson W.I.; Maciel, Giselle Maria; Bracht, Adelar; Ferreira, Isabel C.F.R.; Os achados da última década relacionaram-se com a composição nutricional, moléculas bioativas e aplicações biotecnológicas de *Passiflora* spp. **Tendências em Ciência de Alimentos e Tecnologia**, [S.L.], v. 58, p. 79-95, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.006>.

Costa, M. M. Sucos funcionais: percepções, compreensão e comportamento do consumidor. 2019. 319f. Dissertação (Mestrado Profissional em Comportamento do Consumidor) – Escola Superior de Propaganda e Marketing, ESPM, São Paulo, 2019.

Darbandi, Atieh; Asadi, Arezoo; Gana, Roya; Afifirad, Roghayeh; Emamie, Amir Darb; Kakanj, Márcia; Talebi, Malihe. O efeito dos probióticos na infecção do trato respiratório

com ênfase especial em COVID-19: revisão sistêmica 2010-20. **Revista Internacional de Doenças Infecciosas**, [S.L.], v. 105, p. 91-104, abr. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.011>.

Doron, Adriana; Snyderman, David R.; Risco e Segurança de Probióticos. **Doenças Infecciosas Clínicas**, [S.L.], v. 60, n. 2, p. 129-134, 28 abr. 2015. Imprensa da Universidade de Oxford (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/cid/civ085>.

FAO/OMS. Relatório do Grupo de Trabalho sobre a Elaboração de Diretrizes para a Avaliação de Probióticos em Alimentos. Londres, Ontario, Canadá. 30 Abril e 1 Maio, 2002. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/probiotics2/en/.

Farias, Natália; Soares, Mariana; Gouveia, Ester. Aumento da viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em suco de maracujá: aplicação de um delineamento central composto rotativo. **Lwt - Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [S.L.], v. 71, p. 149-154, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.014>.

Ho, Ming; Pereira, Yin-Yi; Oliveira, Adriano; Lin, Hung-Chih; Oliveira, Fábio; Ribeiro, Fernandes; Chiu, Tsan-Hung. *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 oral e *Lactobacillus reuteri* RC-14 para reduzir a colonização por *Streptococcus* do grupo B em gestantes: ensaio clínico randomizado. **Taiwanese Journal Of Obstetrics And Gynecology**, [S.L.], v. 55, n. 4, p. 515-518, atrás. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tjog.2016.06.003>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Produção Agropecuária 2022. Rio de Janeiro: IBGE. 2023.

Jang, Seong-Ok; Kim, Ha-Jung; Kim, Young-Joon; Ribeiro, Márcia; Kwon, Ji-Won; Seo, Ju-Hee; Kim, Hyung Young; Kim, Byoung-Ju; Ribeiro, Jinho; Hong, Soo-Jong. Prevenção da asma por *Lactobacillus Rhamnosus* em um modelo de camundongo está associado com células T CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺. **Alergia, Asma e Pesquisa em Imunologia**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 150, 2012. A Academia Coreana de Asma, Alergia e Imunologia Clínica e a Academia Coreana de Pediatria Al. <http://dx.doi.org/10.4168/aair.2012.4.3.150>.

König, H., & Fröhlich, J. Bactérias lácticas. **Biologia de microrganismos em uvas, mostos e vinhos**. Springer-Verlag Berlim Heidelberg. 2009.

Lachowicz, Sabina; Oszmiański, Jan; Kalisz, Stanisław. Efeitos de vários agentes de clarificação de polissacarídeos e tempo de reação sobre o teor de composto

polifenólico, atividade antioxidante, turbidez e cor do suco de chokeberry. **Lwt**, [S.L.], v. 92, p. 347-360, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.054>.

MAPA, 2003. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E DO ABASTECIMENTO. Instrução Normativa Nº 12, de 4 de setembro de 2003.

Marsella, Rosana; Santoro, Domênico; Ahrens, Kim. A exposição precoce a probióticos em um modelo canino de dermatite atópica tem efeitos clínicos e imunológicos a longo prazo. **Imunologia Veterinária E Imunopatologia**, [S.L.], v. 146, n. 2, p. 185-189, abr. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.02.013>.

Meletti, L.M.M.; Brückner, C.H. Melhoramento Genético. In: Brückner, C.H.; Picanço, M.C. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado. **Porto Alegre: Cinco Continentes**. 2001.

Mendes, Roberta Maria Lins; Santos, Maryana Rogéria Dos; Andrade, Ester Ribeiro De. Influência das concentrações de pectina e sacarose na sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em bebidas simbióticas de maracujá da Caatinga durante o armazenamento refrigerado. **Observatório de La Economía Latinoamericana**, [S.L.], v. 21, n. 9, p. 13624-13646, 28 set. 2023. South Florida Publishing LLC. <http://dx.doi.org/10.55905/oelv21n9-169>.

Mín, Mín; Ribeiro, Adriana R.; Pedreiro, Susan L.; Hussain, Malik A.; Produtos alimentares probióticos não lácteos: um grupo emergente de alimentos funcionais. **Revisões críticas em ciência de alimentos e nutrição**, [S.L.], v. 59, n. 16, p. 2626-2641, 3 maio 2018. Informa Reino Unido Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2018.1462760>.

Mishra, Birendra Kumar; Hati, Subrota; Das, Sujit; Prajapati, Jashbhai B.; Atributos Biofuncionais e Estudo do Armazenamento do Leite de Soja Fermentado por *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus helveticus*. **Tecnologia de Alimentos e Biotecnologia**, [S.L.], v. 57, n. 3, p. 399-407, 2019. Faculdade de Tecnologia de Alimentos e Biotecnologia - Universidade de Zagreb. <http://dx.doi.org/10.17113/ftb.57.03.19.6103>.

Montanari, Shimeny Ramos; Leite Júnior, Bruno Ricardo De Castro; Martins, Maurílio Lopes; Ramos, Afonso Mota; Binoti, Mirella Lima; Campos, Renata Cristina De Almeida Bianchini; Campos, André Narvaes Da Rocha; Martins, Eliane Maurício Furtado. Digestão gastrointestinal in vitro de uma bebida de amendoim, soja, goiaba e beterraba

suplementada com *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Biociência de Alimentos**, [S.L.], v. 36, p. 100623, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100623>.

Nematollahi, Amene; Sohrabvandi, Sara; Mortazaviano, Amir Mohammad; Jazaeri, Sahar. Viabilidade de bactérias probióticas e algumas características químicas e sensoriais em suco de cornelina durante armazenamento refrigerado. **Revista Eletrônica de Biotecnologia**, [S.L.], v. 21, p. 49-53, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.03.001>.

Nowak, Bernadeta; Ciszek-Lenda, Marta; Śróttek, Małgorzata; Gamian, Andrzej; Ribeiro, Ewa; Górska-Frączek, Sabina; Marcinkiewicz, Janusz. Exopolissacarídeo de *Lactobacillus rhamnosus* melhora a artrite induzida pela injeção sistêmica de colágeno e lipopolissacarídeo em camundongos DBA/1. **Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis**, [S.L.], v. 60, n. 3, p. 211-220, 8 abr. 2012. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1007/s00005-012-0170-5>.

Oszmiański, Jan; Lachowicz, Sabina. Efeito da Produção de Frutas Secas e Suco de Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) sobre o Teor e Atividade Antioxidante de Compostos Bioativos. **Moléculas**, [S.L.], v. 21, n. 8, p. 1098, 22 ago. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21081098>.

Pereira, Adriana; Santos, Eloyza; Azoubel, Patrícia; Ribeiro, Ester. Aumento da sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em sucos de goiaba com condições gastrointestinais simuladas durante armazenamento refrigerado. **Biociência de Alimentos**, [S.L.], v. 32, p. 100470, dez. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100470>.

Pereira, Ana Lúcia Fernandes; Rodrigues, Sueli. Transformando suco de frutas em bebidas probióticas. **Sucos de Frutas**, [S.L.], p. 279-287, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-802230-6.00015-1>.

Pimentel, Tatiana Colombo; Costa, Whyara Karoline Almeida Da; Barão, Carlos Eduardo; Rosset, Michele; Magnani, Marciane. Produtos probióticos veganos: uma tendência moderna ou o mais novo desafio em alimentos funcionais. **Food Research International**, [S.L.], v. 140, p. 110033, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110033>.

Pimentel, Tatiana Colombo; Klososki, Suellen Jensen; Rosset, Michele; Barão, Carlos Eduardo; Marcolino, Vanessa Aparecida. Sucos de frutas como alimentos

probióticos. **Esportes e bebidas energéticas**, [S.L.], p. 483-513, 2019. Elsevier.
<http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-815851-7.00014-0>.

Putnik P, Pavlić B, Šojić B, Zavadlav S, Žuntar I, Kao L, Kitonić D, Kovačević Db.
 Innovative Hurdle Technologies for the Preservation of Functional Fruit Juices.
 Alimentos. 1º de junho de 2020; 9(6):699. DOI: 10.3390/foods9060699. PMID:
 32492780; PMCID: PMC7353510.

Ramezani, Márcia; Ferrentino, Giovanna; Morozova, Ksenia; Oliveira, S. M. Hasan;
 Scampicchio, Matteo. Clarificação de sucos de maçã com proteínas vegetais
 monitorada por espalhamento múltiplo de luz. **Revista de Ciência dos Alimentos**,
 [S.L.], v. 85, n. 2, p. 316-323, 22 jan. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.14984>.

Rivera-Espinoza, Yadira; Gallardo-Navarro, Yoja. Produtos probióticos não
 lácteos. **Microbiologia de Alimentos**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 1-11, fev. 2010. Elsevier
 BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>.

Rodríguez, Luciana Gabriela Ruiz; Gasga, Víctor Manuel Zamora; Pereira, Márcia; Van
 Nieuwenhove, Carina; Mozzi, Fernanda; Burgos, Jorge Alberto Sánchez. Frutas e
 subprodutos de frutas como fontes de compostos bioativos. Benefícios e tendências da
 fermentação de ácido láctico no desenvolvimento de novas bebidas funcionais à base
 de frutas. **Food Research International**, [S.L.], v. 140, p. 109854, fev. 2021. Elsevier
 BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109854>.

Roobá, Ume; Ribeiro, Márcia; Manzoor, Muhammad Faisal; Shabbir, Muhammad Asim;
 Khan, Moazzam Rafiq; Aadil, Rana Muhammad. Fontes, formulações, entrega
 avançada e benefícios de saúde de probióticos. **Opinião Atual em Ciência de
 Alimentos**, [S.L.], v. 32, p. 17-28, abr. 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2020.01.003>.

Rosa, L. d. S., Cruz, A. G. d., & Teodoro, A. J. Probiotics dairy products and cancer- a
 narrative review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 5, p.
 e30211528221, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i5.28221.

Rosas, A. ; Carvalho, A. P. M. G. ; Barros, D. R. ; Correia Junior, D. S. ; Medeiros, A. J.
 S. ; Leite, Y. G. S. ; Laranjeira, R. K. S. ; Santos, A. L. ; Silva, L. V. ; Campelo, P. H. .
 Estudo da Adsorção das Antocianinas do Açaí (Euterpe Precatoria Mart.) Em Bentonita
 Por Drx. Estudo da Adsorção das Antocianinas do Açaí (Euterpe Precatoria Mart.) em

Bentonita Por Drx. 1ed.Guarujá - Sp978: **Editora Científica Digital**, 2021, V. 3, P. 191-203.

Rossi, Franca; Amadoro, Adriana; Colavita, Giampaolo. Membros do Complexo do Gênero *Lactobacillus* (LGC) como Patógenos Oportunistas: uma revisão. **Microorganismos**, [S.L.], v. 7, n. 5, p. 126, 10 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms7050126>.

Santos Filho, Antônio Luiz Dos; Freitas, Hildeane Veloso; Rodrigues, Sueli; Abreu, Virgínia Kelly Gonçalves; Lemos, Tatiana De Oliveira; Gomes, Wesley Faria; Narain, Narendra; Pereira, Ana Lúcia Fernandes. Produção e estabilidade de suco de cacau probiótico com sucralose como substituto do açúcar durante o armazenamento refrigerado. **Lwt**, [S.L.], v. 99, p. 371-378, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.007>.

Santos, Eloyza Karoline Rozendo dos. Efeito do estresse ácido sobre *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 na produção de sucos simbióticos contendo inulina e xilitol. Campo Grande: Editora Inovar, 2022. 119p.

Santos, Eloyza; Oliveira, Raissa; Gouveia, Ester. Utilização da pectina e polpa do maracujazeiro da Caatinga como carreadores de alimentos probióticos. **Biociência de Alimentos**, [S.L.], v. 20, p. 56-61, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2017.08.005>.

Santos, M.R.; Mendes, R.M.L.; Ribeiro, E. Effects of pulp and pectin concentrations of passion fruit from Caatinga (*Passiflora cincinnata* Mast.) on the production of symbiotic beverages. **Food Chemistry Advances**, v. 3, p. 100450, 2023.

Shori, Amal Bakr. Influência da matriz alimentar na viabilidade de bactérias probióticas: uma revisão baseada em bebidas lácteas e não lácteas. **Biociência de Alimentos**, [S.L.], v. 13, p. 1-8, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.001>.

Silva, Ana Carolina Couto; Silva, Nayara Aparecida; Pereira, Mônica Cecília Santana; Vassimon, Helena Siqueira. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Conexão Ciência (Online)**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 133-144, 7 dez. 2016. Fundacao Educacional de Formiga - FUOM. <http://dx.doi.org/10.24862/cco.v11i2.429>.

Spence, C. International Journal of Gastronomy and Food Science On the changing

colour of food & drink. v. 17, n. March, 2019.

Suez, Jotão; Oliveira, Niv; Ribeiro, Eran; Elinav, Eran. Os prós, contras, e muitas incógnitas de probióticos. **Nature Medicine**, [S.L.], v. 25, n. 5, p. 716-729, maio 2019. Springer Ciência e Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-019-0439-x>.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. [Acesso em: 14 de Junho de 2023]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

Tanwar, Beenu., Andallu, B., & Chandel, Sanjeev. Influência do processamento na composição físico-química e nutricional de produtos de *Psidium guajava* L. (goiaba). **Revista Internacional de Tecnologia Agrária e de Ciência de Alimentos**, v. 5, n. 2, p. 47-54, 2014. Research India Publicações.

Teshome E, Teka Ta, Nandasiri R, Rout JR, Harouna DV, Astatkie T, Urugo MM. Subprodutos de frutas e suas aplicações industriais para benefícios nutricionais e promoção da saúde: uma revisão abrangente. *Sustentabilidade*. 2023; 15(10):7840. <https://doi.org/10.3390/su15107840>

Trindade, Lucas Vinícius; Desagiacomo, Carla; Polizeli, Maria De Lourdes Teixeira De Moraes; Damásio, André Ricardo de Lima; Lima, Aline Margarete Furuyama; Gomes, Eleni; Bonilla-Rodriguez, Gustavo Orlando. Caracterização Bioquímica, Estabilidade Térmica e Sequência Parcial de uma Nova Exo-Poligalacturonase do Fungo Termofílico *Rhizomucor pusillus* A13.36 Obtida por Cultivo Submerso. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2016, p. 1-10, 2016. Hindawi Limitada. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8653583>.

Vieira, Karolinny Cristiny de Oliveira; Ferreira, Camila Da Silva; Bueno, Emili Bruna Toso; Moraes, Yuri Allisson De; Toledo, Ana Clara Campagnolo Gonçalves; Nakagaki, Wilson Romero; Pereira, Valéria Cataneli; Winkelstroter, Lizziane Kretli. Desenvolvimento e viabilidade de suco de laranja probiótico suplementado com *Pediococcus acidilactici* CE51. **Lwt**, [S.L.], v. 130, p. 109637, ago. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109637>.

Vivarelli, Sílvia; Salemi, Adriana; Cândido, Saverio; Falzone, Luca; Santagati, Maria; Stefani, Stefania; Torino, Fábio; Banna, Giuseppe Luigi; Tonini, Giuseppe; Libra, Massimo. Microbiota Intestinal e Câncer: da patogênese à terapia. **Cânceres**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 38, 3 jan. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers11010038>.

Yazdankhah, Siamak; Grahek-Ogden, Danica; Oliveira, Carlos; Kapperud, Georg; Lassen, Jørgen; Narvhus, Judite; Nesbakken, Truls; Robertson, Lúcia; Rosnes, Jan Thomas; Skjerdal, Olaug Taran. Avaliação de risco de cepas específicas de *Lactobacillus rhamnosus* usado como. **European Journal Of Nutrition & Food Safety**, [S.L.], p. 315-316, 12 jul. 2019. Sciencedomain Internacional.
<http://dx.doi.org/10.9734/ejnfs/2019/v9i430076>.