



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

GABRIEL BARBOZA DA SILVA

EFEITO DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL DURANTE ESTOQUE
REFRIGERADO DO SUCO PROBIÓTICO E FERMENTADO DE MANGA
(*Mangifera indica* L.)

RECIFE

2022

GABRIEL BARBOZA DA SILVA

**EFEITO DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL DURANTE ESTOQUE
REFRIGERADO DO SUCO PROBIÓTICO E FERMENTADO DE MANGA
(*Mangifera indica* L.)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do título
em Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof. Dra. Ester Ribeiro de Andrade

Coorientador (a): Prof. Dra. Eloyza Karoline Rozendo dos Santos

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Gabriel Barboza da.

Efeito da adição de inulina e xilitol durante estoque refrigerado do suco probiótico e fermentado de manga (*Mangifera indica* L.) / Gabriel Barboza da Silva. - Recife, 2022.

53 : il., tab.

Orientador(a): Ester Ribeiro de Andrade

Cooorientador(a): Eloyza Karoline Rozendo dos Santos

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2022.

1. alimento funcional. 2. prebiótico. 3. edulcorante. 4. sucos de frutas. 5. probióticos. I. Andrade, Ester Ribeiro de. (Orientação). II. Santos, Eloyza Karoline Rozendo dos. (Coorientação). III. Título.

500 CDD (22.ed.)

Gabriel Barboza da Silva

**EFEITO DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL DURANTE ESTOQUE REFRIGERADO
DO SUCO PROBIÓTICO E FERMENTADO DE MANGA (*Mangifera indica* L.)**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Bacharelado em Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito parcial à obtenção do título
em Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 30 / 09 / 2022

COMISSÃO EXAMINADORA

Dr^a Ester Ribeiro de Andrade/UFPE

Me. Roberta Maria Lins Mendes/UFPE

Me. Maryana Rogéria dos Santos/UFPE

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre estar comigo, me auxiliando e dando força nos momentos mais difíceis da minha vida. Por me dar todo apoio quando mais eu precisei e por me proteger.

Aos meus pais, Sandra e Humberto que sempre apoiaram minhas decisões e me incentivaram a nunca desistir dos meus sonhos. Por terem me dado amor, carinho e todo suporte financeiro, emocional e psicológico para que essa conquista fosse concretizada. E aos meus irmãos, Gabriela, Rafael e Rafaela. Amo-os mais que tudo.

À minha orientadora Dr^a Ester Ribeiro, por todo apoio, paciência e dedicação durante os três anos que estive comigo, me auxiliando, incentivando, aconselhando e cobrando sempre o melhor de mim. Tenho a eterna admiração pela profissional e pessoa que você é.

À minha coorientadora Dr^a Eloyza Karoline, por compartilhar sua sabedoria, me ensinar todos os procedimentos, pela companhia, apoio e amizade. O período que passamos juntos foi, para mim, de grande importância para meu desempenho acadêmico e científico.

Ao Laboratório de Bioprocessos e Bioprodutos (LABBIO) e todos meus amigos que fizeram ou fazem parte do laboratório, Zilmar, Roberta, Maryana, Eliana, Eduarda, Arthur e Thaysa. Obrigado por todas as conversas, brincadeiras e colaboração durante as análises e experimentos. Muito Obrigado pelo apoio!

Aos meus colegas de turma, em especial, Tainá, Ewellyn, Saulo, Pedro, Ailton, Marjori, Laís, Júlia e Amaury que, por quase 4 anos, estiveram comigo compartilhando todos os momentos vividos na faculdade.

À banca examinadora, pelo compartilhamento de conhecimento e sugestões sobre o trabalho. Muito Obrigado!

À professora Norma Gusmão pelo acolhimento, apoio, conversas e ensinamentos. Muito Obrigado!

Ao programa de Bolsas de Iniciação Científica da Propesqi e à UFPE pelo apoio financeiro, que tornou essa pesquisa possível.

E a todos os profissionais da pesquisa que dedicam suas vidas à produção e compartilhamento de ideias e conhecimentos, colaborando com o desenvolvimento intelectual e crítico de muitas pessoas.

Meus mais sinceros agradecimentos a todos por sempre acreditarem em mim.

A única maneira de não cometer erros é fazendo nada.

*Este, no entanto, é certamente um dos maiores erros
que se poderia cometer em toda uma existência.*

Confúcio

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito das concentrações de inulina e xilitol na sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, em suco probiótico e fermentado de manga. Inicialmente, o suco foi fermentado (55 % de polpa de manga) e após esta etapa quatro bebidas foram elaboradas: sem adição de inulina ou xilitol (SC), com adição de inulina (SI) ou de xilitol (SC) e com adição de ambos (SIX). As concentrações de inulina e xilitol foram, 5 g/L e 10 g/L, respectivamente. Os sucos fermentados e acrescidos ou não dos aditivos foram mantidos sob refrigeração (4 °C) durante 60 dias. Na segunda etapa do estudo foi aplicado um planejamento fatorial 2^2 com duplicata no ponto central, variando a concentração de inulina (2, 3,5 e 5 g/L) e xilitol (5, 7,5 e 10 g/L) no suco SIX (SIX2). Esses sucos foram armazenados como na etapa anterior, mas por 28 dias. Em ambas as etapas, foram determinados viabilidade celular e pH. A partir da viabilidade foi calculada a sobrevivência do probiótico durante o estoque. Apesar de não ser esperado ocorrer crescimento celular durante o estoque refrigerado, foi observado que a sobrevivência aumentou nas quatro bebidas e a adição de inulina e/ou xilitol prolongou esse crescimento por um tempo maior do que 15 dias, como observado no suco SIX. Na avaliação do suco probiótico e fermentado de manga, após a adição das diferentes concentrações de inulina e xilitol (SIX2), a sobrevivência diminuiu durante o estoque, apenas quando a concentração de xilitol estava no nível mais baixo (5 g/L), independente da concentração de inulina. As concentrações dos aditivos no ponto central, 3,5 e 7,5 g/L de inulina e xilitol, respectivamente, foram os valores mais adequados para a obtenção de um suco simbiótico de manga menos calórico, uma vez que não seriam necessários utilizar maiores concentrações para obter sobrevivência maior do que 100% (9,2 Log UFC/mL), durante o estoque refrigerado. As produtividades das viabilidades obtidas na fermentação e durante o estoque alcançaram valores, em média de 0,38 Log UFC/mL.h e 0,001 Log UFC/mL.h, respectivamente. Logo, o aumento da sobrevivência celular não caracterizou uma mudança brusca no alimento, o que também foi observado pela diminuição do pH, que foi de 3,6 para 3,2, em média.

Palavras-chave: alimento funcional, edulcorante, fermentação, prebiótico, sucos de frutas

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the effect of inulin and xylitol concentrations on the survival of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469, in probiotic and fermented mango juice. Initially, the juice was fermented (55% mango pulp) and after this step four drinks were prepared: without addition of inulin or xylitol (SC), with addition of inulin (SI) or xylitol (SC) and with addition of both (SIX). Inulin and xylitol concentrations were 5 g/L and 10 g/L, respectively. The fermented juices with or without additives were kept under refrigeration (4 °C) for 60 days. Factorial design was applied² with a duplicate at the central point, varying the concentration of inulin (2, 3.5 and 5 g/L) and xylitol (5, 7.5 and 10 g/L) in the SIX juices (SIX2). These juices were stored as in the previous step, but for 28 days. In both steps, cell viability and pH were determined. Based on viability, the survival of the probiotic during storage was calculated. Although cell growth was not expected to occur during the refrigerated storage, it was observed that survival increased in the four drinks and the addition of inulin and/or xylitol prolonged this growth for a time longer than 15 days, as observed in the SIX juices. In the evaluation of probiotic and fermented mango juice, after the addition of different concentrations of inulin and xylitol (SIX2), survival decreased during storage, only when the xylitol concentration was at the lowest level (5 g/L), regardless of juices inulin concentration. The concentrations of the additives at the central point, 3.5 and 7.5 g/L of inulin and xylitol, respectively, were the most adequate values to obtain a less caloric symbiotic mango juice, since it would not be necessary to use larger amounts. concentrations to obtain survival greater than 100% (9.2 Log CFU/mL) during refrigerated storage. The productivity of viability obtained in fermentation and during storage reached values, on average, of 0.38 Log CFU/mL.h and 0.001 Log CFU/mL.h, respectively. Therefore, the increase in cell survival did not characterize a sudden change in food, which was also observed by the decrease in pH, which went from 3.6 to 3.2, on average.

Key Words: Fermentation, fruits juices, functional food, prebiotic, sweetener

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma de elaboração das bebidas probióticas fermentadas de manga	33
Figura 2	Viabilidade de <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 nos sucos fermentados de manga durante estoque refrigerado	37
Figura 3	Sobrevivência de <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 durante estoque refrigerado das quatro formulações	38
Figura 4	Perfil de pH para os sucos probióticos fermentados de manga estoque refrigerado	38
Figura 5	Viabilidade de <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 nos sucos simbióticos fermentados de manga, com 28 dias de estoque refrigerado	39
Figura 6	Sobrevivência de <i>L. rhamnosus</i> ATCC 7469 nos sucos simbióticos fermentados, com 28 dias de estoque refrigerado	40
Figura 7	Valores de pH dos sucos simbióticos fermentados de manga adoçados com xilitol no início e final do estoque refrigerado.	40

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1	Nomenclatura antiga e atual de algumas espécies do gênero <i>Lactobacillus</i> sp.	22
Tabela 1	Concentrações de inulina e xilitol adicionadas aos sucos probióticos fermentados.	34
Tabela 2	Concentrações de inulina e xilitol utilizadas na elaboração dos sucos simbióticos fermentados	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATCC – American Type Culture Collection

BALs – Bactérias Ácido-Láticas

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta eficiência

DAD – Detector de Arranjo de Diodo

FAO – Food and Agriculture Organization

MRS – de Man, Rogosa e Sharpe

S (%) – Sobrevivência em porcentagem

SC – Suco Controle

SI – Suco Inulina

SIX – Suco Inulina e Xilitol

SX – Suco Xilitol

UFC – Unidade Formadora de Colônia

V_f – Viabilidade Final

V_i – Viabilidade Inicial

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 PROBIÓTICOS	18
3.1.1 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 7469	20
3.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS	23
3.2.1 Manga (<i>Mangifera indica</i> L.)	24
3.2.3 Xilitol	28
3.2.4 Inulina	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1 MICRORGANISMO	32
4.2 POLPA DE MANGA	32
4.3 PRODUÇÃO DO SUCO PROBIÓTICO FERMENTADO DE MANGA	32
4.4 CONDIÇÕES DE ESTOQUE REFRIGERADO	33
4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS	35
4.5.1 Análise da Viabilidade Celular	35
4.5.2 Determinação do pH	35
4.5.3 Determinação da Sobrevivência	35
4.5.4 Tratamentos dos dados	36
5 RESULTADOS	37

5.1 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL NO SUCO PROBIÓTICO FERMENTADO DE MANGA	37
5.2 APLICAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA AVALIAR OS EFEITOS DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL	39
6 DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÃO	46
8 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	47

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos que possuem uma riqueza nutricional maior e são mais saudáveis, como por exemplo, as bebidas probióticas fermentadas, vem chamando atenção mundialmente. Esses alimentos são conhecidos como alimentos funcionais, isto é, além de suas funções básicas nutricionais, podem exercer funções metabólicas e/ou fisiológicas no organismo humano, favorecendo a saúde dos consumidores (SILVA *et al.*, 2016; JARDIM e MENDES, 2022).

Os probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde dos hospedeiros (FAO/WHO, 2001). No entanto, grande parte dos alimentos probióticos encontrados no mercado atual são produtos lácteos. É possível observar, em todo o mundo, um aumento no número de pessoas que não consomem produtos lácteos, em decorrência de intolerância à lactose, alergia à proteína do leite e dietas restritivas para alimentos de origem animal (RIBEIRO *et al.*, 2019), ou ainda, diabéticos e obesos. Dessa maneira, a utilização de sucos de frutas é uma alternativa para que essas pessoas possam obter os benefícios dos alimentos funcionais e de seus constituintes.

A manga é uma fruta rica em açúcares (REDDY *et al.*, 2015), minerais, ácidos, fibras dietéticas e insolúveis (ACEVEDO-MARTINEZ *et al.*, 2018), carotenóides, ácido ascórbico e compostos fenólicos (HU *et al.*, 2018; ALIZADEH *et al.*, 2020), além de possuir características sensoriais marcantes, o que a caracteriza como meio promissor para a incorporação de probióticos.

Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469 é considerado um dos microrganismos probióticos mais utilizados em iogurtes, bebidas de frutas e bebidas de soja (CHANG e LIEW, 2012). Esta espécie é conhecida por apresentar tolerância aos ácidos e à bile, além de ser capaz de sobreviver no trato gastrointestinal, favorecendo sua aplicação em alimentos (MATHIPA-MDAKANE e THANTSHA, 2022).

Sucos de frutas, como a manga e maracujá amarelo (SANTOS *et al.*, 2022), maracujá da Caatinga (FARIAS *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017), goiaba (ANDRADE *et al.*, 2019) e acerola (BARROS *et al.*, 2021), foram utilizados como veículos carreadores

de *L. rhamnosus* ATCC 7469 e resultados promissores quanto à sobrevivência do microrganismo durante estoque refrigerado foram obtidos.

Em alimentos funcionais, além do emprego de probióticos, pode-se notar a presença de outros compostos que podem agregar maior valor nutricional e funcionalidades aos alimentos, como os prebióticos e adoçantes. Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis pelo trato gastrointestinal humano, entretanto, fermentáveis pela microbiota intestinal (DUNCAN e FLINT, 2013), o que salienta sua aplicação em alimentos probióticos. Um grande exemplo de prebiótico aplicado em alimentos é a inulina, um dos mais conhecidos e utilizados na produção de alimentos.

Além da inulina, outro ingrediente funcional que pode ser empregado em produtos alimentícios funcionais, é o xilitol. O xilitol, um edulcorante, confere sabor doce aos alimentos e vem sendo amplamente usado na produção de alimentos (SATO *et al.*, 2016), pois é nutritivo e apresenta baixo valor calórico, sendo ótimo substituto do açúcar convencional (sacarose). Seu emprego na produção de alimentos é baseado em propriedades tecnológicas, como por exemplo, maior estabilidade química, resistência à cristalização e afinidade por água (MAIA *et al.*, 2008).

Perante o exposto, o objetivo deste presente trabalho foi desenvolver sucos probióticos e fermentados de manga, avaliando os efeitos da adição inulina e xilitol na sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 durante estoque refrigerado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da adição de inulina e xilitol durante estoque refrigerado do suco probiótico e fermentado de manga (*Mangifera indica* L.).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir suco probiótico de manga, fermentado por *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469;
- Elaborar sucos simbióticos, pela adição de inulina após a fermentação;
- Adicionar xilitol aos sucos e armazenar sob refrigeração;
- Determinar a viabilidade celular, bem como o pH dos sucos probióticos e fermentados, durante o estoque refrigerado;
- Determinar a sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 7469 nos sucos com e sem adição de inulina e/ou xilitol;
- Avaliar os efeitos das variações das concentrações de inulina e xilitol sobre a sobrevivência de *L. rhamnosus*, a partir da aplicação de um planejamento fatorial.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PROBIÓTICOS

O termo probiótico é derivado de uma palavra grega que significa “para vida”, usado para definir organismos não patogênicos e seus efeitos benéficos no hospedeiro (PANDEY *et al.*, 2015). Elie Metchnikoff caracterizou os probióticos por volta do ano de 1900, quando percebeu que a vida longa e saudável dos camponeses búlgaros era o resultado do consumo de produtos lácteos fermentados (TRIPATHI e GIRI, 2014).

Ao longo dos anos, diversos conceitos probióticos foram desenvolvidos. No entanto, atualmente há uma definição aceita internacionalmente, que classifica os probióticos como microrganismos não-patogênicos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; HILL *et al.*, 2014).

Os microrganismos probióticos pertencem a diversos gêneros, tanto de bactérias quanto de leveduras, sendo as bactérias ácido lácticas, as mais utilizadas e conhecidas, por afetar benéficamente a saúde dos hospedeiros. Como muitas bactérias podem ter um impacto no equilíbrio microbiano do intestino, apenas as espécies e cepas de bactérias com efeitos positivos confirmados no hospedeiro podem ser selecionadas como probióticos, sendo as espécies mais encontradas nos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* e *Enterococcus* (ZUNTAR *et al.*, 2020).

As bactérias ácido-láticas (BALs) são um grupo de microrganismos Gram-positivo, catalase negativa, produtores de ácido láctico como produto da fermentação primária, com morfologia de cocos ou bastões, não formadores de esporos, sem motilidade, anaeróbios facultativos ou microaerófilos e tolerantes a ácidos (HUANG *et al.*, 2018; PEREIRA, SANTANA e SANTOS, 2020).

As BALs estão entre os microrganismos probióticos mais importantes na produção de alimentos fermentados e, geralmente, estão associadas ao trato gastrointestinal humano (BURULEANU *et al.*, 2013), onde podem desempenhar diversos efeitos benéficos. Os benefícios dos probióticos à saúde humana têm sido investigados e incluem: aumento das funções da barreira intestinal, produção de substâncias antimicrobianas, competição por nutrientes, aumento da resistência à patógenos e da

imunidade, inibição da adesão de patógenos na mucosa intestinal, modulação da flora intestinal e efeito anticarcinogênico (BAJAJ *et al.*, 2015; SALAS-JARA *et al.*, 2016). Outras funções metabólicas e fisiológicas estão associadas ao consumo regular de probióticos, como por exemplo: aumento da digestão da lactose e regulação da função intestinal (COSTA *et al.*, 2013).

Dentre as bactérias ácido-láticas, o gênero *Lactobacillus* se destaca como o grupo de bactérias probióticas mais usado na produção de alimentos funcionais (BUJNA *et al.*, 2017), visto que, é o maior gênero dentro do grupo de bactérias ácido láticas com mais de 220 espécies validadas (SEDDIK *et al.*, 2017), e em termos de robustez, são geralmente mais fortes que outras bactérias (TRIPATHI e GIRI, 2014).

No mundo todo a venda de produtos contendo probióticos cresceu amplamente e deve aumentar mais ainda, rendendo quase 20 bilhões de dólares para este setor alimentício até 2023 (TRUSH *et al.*, 2020). No Brasil, o consumo de probióticos representa 52% de todo o consumo no mercado latino-americano (GRUPO KERRY, 2018). Os probióticos são empregados principalmente para fermentar alimentos que são consumidos em uma dieta usual, como sucos de frutas, iogurtes, queijos, sorvetes, leites e carnes. Além disso, podem aumentar o valor nutricional dos alimentos (ZUNTAR *et al.*, 2020).

Para a incorporação dos probióticos aos alimentos é necessário que a cepa probiótica possua propriedades tecnológicas adequada para resistir e sobreviver às condições durante a elaboração, processamento, armazenamento e transporte dos produtos alimentícios, além de ter um nível de viabilidade no momento do consumo (BAJAJ *et al.*, 2015).

Alguns critérios foram estabelecidos como sendo “critérios desejáveis para a seleção de probióticos em aplicações comerciais”, são eles: 1 – Critérios de Segurança (patogenicidade, infectividade, virulência e origem); 2 – Critérios Tecnológicos (geneticamente estáveis, viabilidade desejada durante processamento e armazenamento, e boas propriedades sensoriais); 3 – Critérios Funcionais (tolerância ao ácido gástrico, tolerância à bile e adesão à superfície da mucosa); 4 – Critérios Fisiológicos (Imunomodulação, atividade antagonista, antimutagenicidade, propriedades

anticarcinogênicas e atuação no metabolismo do colesterol e lactose) (TRIPATHI e GIRI, 2014).

Alguns estudos nos últimos anos vêm estabelecendo diversos outros critérios, exigências e definições para assegurar o uso, certificação e aplicação de probióticos, mas, é importante ressaltar que a devida comprovação e investigação dos efeitos positivos e negativos dos probióticos, devem ser feitas a partir de estudos e evidências científicas. No Brasil, a ANVISA aprovou o regulamento técnico de alimentos funcionais pela Resolução RDC nº 2, 07 de janeiro de 2002, que aprova o uso de probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde (ANVISA, 2002a).

Para exercer efeitos benéficos à saúde do hospedeiro, os microrganismos probióticos devem manter um nível terapêutico mínimo de viabilidade, cerca de 6 a 7 Log UFC/mL por grama de alimento carreador, no momento do consumo, além de possuir a capacidade de tolerar as condições gastrointestinais (TRIPATHI e GIRI, 2014; RANADHEERA *et al.*, 2017). De maneira diferente, outros autores afirmam que a quantidade de probióticos necessária para exercer efeitos benéficos ao hospedeiro deve ser de 8 a 9 Log UFC/mL (RAMOS *et al.*, 2017). No entanto, essa quantidade de probióticos requerida, pode variar de espécie para espécie, e até mesmo, de linhagem para linhagem de uma mesma espécie (BARBOSA e GALLINA, 2017).

Na RDC nº 241, de 26 de julho de 2018, a ANVISA dispõe sobre os requisitos para a comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos, na qual se enquadra alguns microrganismos aprovados no âmbito do registro de produtos ou como ingredientes, dentre os quais está a espécie *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 (ANVISA, 2018).

3.1.1 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469

Encontrados naturalmente em alimentos fermentados tradicionais, os lactobacilos são mais resistentes ao baixo pH e apresentam adaptação ao leite e outros substratos alimentares (TRIPATHI e GIRI, 2014). A alta demanda dos consumidores por produtos probióticos tem aumentado, e numerosas espécies de bactérias ácido lácticas têm sido usadas em polpas de frutas para produzir bebidas probióticas (KIM *et al.*, 2012; FARIAS

et al., 2016, SANTOS *et al.*, 2017; ANDRADE *et al.*, 2019, BARROS *et al.*, 2021, MENDES *et al.*, 2021).

Proposto em 1901, o gênero *Lactobacillus* tem se expandido até abranger 261 espécies, na qual resultou no aumento da heterogeneidade entre as espécies pertencentes ao gênero, tanto em aspectos genotípicos, fenotípicos e ecológicos (ZHENG *et al.*, 2020). De acordo com Buriti e Saad, (2007), a divisão clássica dos lactobacilos é baseada em suas características fermentativas, podendo ser: 1 – obrigatoriamente homofermentativos; 2 – obrigatoriamente heterofermentativos; e 3 – facultativamente heterofermentativos. *Lacticaseibacillus rhamnosus*, é um microrganismo facultativamente heterofermentativo, sendo usado pela primeira vez nos estudos em 1990, no qual foi considerado benéfico à saúde das crianças (NASEF *et al.*, 2020).

No entanto, recentemente, a partir da aplicação de diversas técnicas, a fim de se manter agrupados os organismos com maior afinidade, ficou comprovada a necessidade de realizar uma nova organização taxonômica, a qual reclassificou alguns microrganismos, dentre eles o *Lactobacillus rhamnosus*, que na nomenclatura atual foi renomeado para *Lacticaseibacillus rhamnosus* (ZHENG *et al.*, 2020).

Lactobacillus é um gênero composto de microrganismos nutricionalmente fastidiosos, com sua viabilidade e crescimento influenciado por fatores como formulação do meio, pH, temperatura e concentração de inóculo (CHANG e LIEW, 2012; FARIAS *et al.*, 2016). A maioria das espécies do gênero *Lactobacillus* não fermentam pentoses e nenhum dos organismos codifica genes para a via pentose-fosfato ou a enzima PFL – piruvato formato-liase (ZHENG *et al.*, 2020).

No quadro 1 estão apresentados os microrganismos aprovados no âmbito do registro de produtos ou como ingredientes funcionais, após a publicação da Resolução RDC nº 241, de 2018, com as respectivas nomenclaturas atuais (ANVISA, 2021).

Quadro 1. Nomenclatura antiga e atual de algumas espécies do gênero *Lactobacillus* sp.

NOMECLATURA ANTIGA	NOMECLATURA ATUAL
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus corynniformis</i>	<i>Loigolactobacillus coryniformis</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus gassevi</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Sem alteração
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Limosilactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>

Fonte: Adaptado de (https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e-respostas-arquivos/Alteracao-taxonomica-de-linhagens-lactobacillus_1a-versao.pdf)

A espécie *L. rhamnosus* possui um estilo de vida nômade e foi isolada de uma ampla gama de habitats, incluindo produtos lácteos, carnes fermentadas, peixes, vegetais e cereais, esgoto, humanos (oral, vaginal e intestinal), hospedeiros invertebrados e fontes clínicas (ZHENG *et al.*, 2020). Esta espécie cresce em uma temperatura que varia de 15 a 45 °C, produz o isômero do ácido L-lático e fermenta carboidratos como arabinose, celobiose, esculina, ribose, sorbitol e sacarose (IBRAHIM, 2016). Além dessas características, *L. rhamnosus* pode tolerar alta acidez e sais biliares, altas concentrações de sacarose, suportar temperaturas tão altas quanto 55 °C (MATHIPA-MDAKANE e THANTSHA, 2022) e melhora a resposta imune e o catabolismo do triptofano (MINDUS *et al.*, 2021).

Alguns lactobacilos são conhecidos como microrganismos probióticos que exercem diversos efeitos benéficos, promovendo à saúde do hospedeiro, como resultado de um efeito combinado de acidificação do ambiente local e exclusão competitiva

(POLAK-BERECKA *et al.*, 2014). *L. rhamnosus* por exemplo, apresenta eficácia em aderir-se à camada epitelial intestinal, inibindo o crescimento e aderência de patógenos (MATHIPA-MDAKANE e THANTSHA, 2022) e formação de biofilmes (SALAS-JARA *et al.*, 2016).

O maior desafio para as indústrias de alimentos probióticos é manter a viabilidade dos microrganismos durante as etapas de produção e estoque dos alimentos suplementados com a cultura probiótica. Para que *L. rhamnosus* cresça em um meio, é necessário cumprir alguns requisitos, como por exemplo: a presença de vitaminas, incluindo ácido fólico, niacina, ácido pantotênico e minerais, além da temperatura e pH ideal (VALIK *et al.*, 2008). *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 7469 é considerado um dos microrganismos probióticos mais utilizados em iogurtes, bebidas de frutas e bebida de soja, entre outros (CHANG e LIEW, 2012).

3.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Algumas doenças como diabetes, câncer, hipertensão e obesidade vêm aumentando nas últimas décadas, como consequência de uma má alimentação e modo de vida sedentário. A dieta, a partir de uma alimentação saudável, é o principal fator para a prevenção e promoção da saúde humana, evitando e controlando essas doenças (RAIZEL *et al.*, 2011).

O consumo de alimentos funcionais pode se tornar uma tendência mundial, devido aos benefícios que esses alimentos podem trazer aos consumidores. O desenvolvimento de alimentos funcionais iniciou-se a partir de um programa do governo japonês, na década de 1980, que visou gerar alimentos saudáveis e com propriedades medicinais, visando aumentar a expectativa de vida de uma população que envelhecia mais rápido (ANJO, 2004).

Hoje em dia, os alimentos funcionais possuem diversos objetivos, que além de satisfazer a fome e fornecer os nutrientes necessários para o ser humano, promovem um estado de bem-estar físico e mental, melhorando a saúde, prevenindo e reduzindo doenças relacionadas à nutrição (PERRICONE *et al.*, 2015). Os exemplos mais bem conhecidos de alimentos funcionais são aqueles que contêm ou são preparados com

diferentes compostos bioativos e/ou ingredientes funcionais (PERRICONE *et al.*, 2015), em especial fibras alimentares e probióticos (MORAES e COLLA, 2006).

Os alimentos funcionais, segundo Roberfroid (2002), devem se enquadrar em uma das seguintes condições: alimento natural; que um componente tenha sido adicionado; que um componente tenha sido removido; onde a natureza de um ou mais componentes tenha sido modificada, ou ainda; formado pela combinação de quaisquer alternativas anteriormente citadas. Hoje em dia, esses produtos estão presentes em vários países, adequados em suas legislações específicas.

No Brasil, as regras foram instituídas a partir de 1999. A legislação brasileira, sob a responsabilidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), define a alegação de propriedade funcional ou de saúde, como sendo:

O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais ou de saúde pode, além de funções nutricionais básicas, quando se tratar de nutriente, produzir efeitos metabólicos e ou fisiológicos e ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica (ANVISA, 1999).

Entretanto, vale salientar, que os alimentos funcionais não podem ser descritos ou mencionados como alimentos que curam ou como drogas. De acordo com a ANVISA, está proibida qualquer alegação que indique que o produto possui propriedades medicinais ou terapêuticas, como também, está proibido o aconselhamento do seu consumo como estimulante, para melhorar a saúde, prevenir doenças ou ação curativa (ANVISA, 2002b).

Com base no exposto acima, alinhados em uma só vertente, a maior perspectiva de vida, maior conscientização da população sobre o consumo de alimentos funcionais, em especial os alimentos probióticos, maior aceitação dos novos produtos e maior poder aquisitivo, são fatores que têm contribuído muito para o desenvolvimento de novos insumos.

3.2.1 Manga (*Mangifera indica* L.)

O consumo de frutas tem aumentado nos últimos anos, em decorrência da maior consciência dos consumidores sobre a importância da escolha de alternativas saudáveis para redução de doenças e melhoramento da qualidade de vida (FARAONI *et al.*, 2012). As frutas são alimentos saudáveis e os seus efeitos benéficos estão relacionados ao seu

alto conteúdo de nutrientes, podendo ser consumidas por pessoas de todas as idades e classes.

Além de contribuir na promoção e manutenção da saúde humana, as frutas podem aumentar a perspectiva de vida, pois são fontes importantes de vitaminas e minerais que ajudam no controle metabólico e na redução de radicais livres que aceleram o envelhecimento e prejudicam a longevidade (SOARES e JOSÉ, 2013).

A manga (*Mangifera indica* L.) pertencente à família *Anacardiaceae*, é considerada a rainha das frutas e uma das mais populares frutas das regiões tropicais (ABBASI *et al.*, 2015; MEGHA *et al.*, 2022). A mangueira é uma árvore que possui alta capacidade adaptativa em regiões tropicais e subtropicais, facilitando assim a sua dispersão e consumo (NETO e CUNHA, 2000; GUPTA *et al.*, 2022). Esta fruta é uma das mais procuradas no mundo, podendo ser consumida *in natura* ou como polpas simples, sucos, sorvetes, geleias e compotas (FONSECA *et al.*, 2006), a partir de métodos de conservação que foram desenvolvidos para aumentar a oferta das frutas.

O Brasil é um dos dez maiores produtores de manga do mundo, possuindo uma produção maior que 1 milhão de toneladas por ano, sendo a maior parte desta produção concentrada na região nordeste. No Brasil, o estado da Bahia e Pernambuco são os maiores produtores de manga no país. De acordo com o censo realizado pelo IBGE em 2020, a manga foi a espécie de maior valor econômico da família *Anacardiaceae*, ultrapassando uma produção de 1,5 milhão de toneladas e rendendo mais de 1,7 milhão de reais para o país (IBGE, 2020).

Dentre os subprodutos elaborados a partir da manga, a polpa é um dos mais procurados, pois é uma excelente fonte para a produção de bebidas funcionais, contendo vitamina C, carotenóides (SOARES e JOSÉ, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2020), vitaminas do complexo B, como B1, B3, B5, B6 (BRAGA *et al.*, 2019), além de atuarem como ótimo meio carreador de probióticos (ACEVEDO-MARTINEZ *et al.*, 2018). Além disso, não possuem proteínas alérgicas e são uma escolha saudável em relação aos produtos lácteos para adição de probióticos (ADEBAYO-TAYO *et al.*, 2021).

A manga apresenta diversos compostos bioativos como ácidos fenólicos, galotaninos, flavonoides, catequinas, benzofenonas, carotenóides, tocoferóis e xantonoides, que podem atuar com efeitos fitoterápicos (GUPTA *et al.*, 2022). Segundo

Abbasi *et al.*, (2015), os compostos polifenólicos são importantes agentes antirradicais, antimutagênicos e anticarcinogênicos, capazes de atuar na redução de doenças crônicas. A atuação desses compostos na redução do risco de doenças crônicas está relacionada à sua efetividade, segurança e presença de grupos hidroxila.

A composição química de *Mangifera indica* pode variar de acordo com a cultivar, aplicação de agrotóxicos, estágio de maturação (ALAHON *et al.*, 2019), local de produção, condições climáticas e estágio de maturação (GUPTA *et al.*, 2022). Em seu estudo, Gupta *et al.* (2022), reuniu dados de diversos artigos sobre a composição química da manga e, segundo os autores, a polpa de manga pode conter cerca de 0,36-0,40 g de proteínas, 0,30-0,53 g de lipídeos, 16-18 g de carboidratos, 0,8-1,0 g de fibras dietéticas e 13-92 mg de Vitamina C.

Deste modo, devido à versatilidade e potencial desta fruta para a produção de alimentos, a manga se mostra uma excelente opção para a produção de bebidas probióticas fermentadas, pois, como mencionado anteriormente, possui composição nutricional e química adequadas para a adequação de probióticos.

3.2.2 Bebidas probióticas fermentadas à base de frutas

O processo de fermentação de alimentos vem sendo utilizado desde os tempos antigos com objetivo principal a preservação dos alimentos, além de oferecer diferenciais no sabor, aroma, textura e reduzir o pH, impedindo a contaminação por patógenos (SWAIN *et al.*, 2014). A fermentação é uma etapa essencial para a adequação do probiótico ao meio e melhorar o seu crescimento nas bebidas à base de frutas (SILVA e ANDRADE, 2021), além disso, pode simplificar a tecnologia de produção e reduzir custos em comparação com os alimentos não fermentados (DIMITROVSKI *et al.*, 2015).

Segundo Worku *et al.* (2019), alimentos probióticos representam cerca de 60-70% dos alimentos funcionais, ou seja, este alto índice de consumo e procura por alimentos contendo bactérias benéficas, fortalece o mercado e a indústria alimentícia, ampliando a acessibilidade a esses alimentos. Ainda mais, as bebidas que contêm probióticos fazem parte da categoria mais ativa de alimentos probióticos, devido ao aumento da demanda dos consumidores (BARBOSA e GALLINA, 2017). No entanto, geralmente na produção

de alimentos probióticos fermentados, os microrganismos são incorporados em compostos lácteos, como leites, queijos, iogurtes, entre outros.

Para tal, a utilização de meios não-lácteos, como os sucos de frutas, é uma alternativa para que as pessoas com intolerâncias e/ou restrições possam obter os benefícios desses alimentos e de seus constituintes, sem apresentar reações alérgicas aos alimentos. O desenvolvimento de bebidas fermentadas à base de frutas pode ser a próxima categoria de alimentos em que as bactérias probióticas deixarão sua marca, visto que muitos países têm conduzido pesquisas e desenvolvendo bebidas probióticas fermentadas com diversas linhagens probióticas e de diversas origens, especialmente frutas e vegetais (CHEN *et al.*, 2018).

As frutas são tão essenciais para a dieta humana quanto para os probióticos, pois elas apresentam altas concentrações de açúcares, no qual são requeridas para o crescimento dos microrganismos (COSTA *et al.*, 2013; WORKU *et al.*, 2019). De acordo com Bernal-Castro *et al.* (2019), as bebidas à base de frutas são excelentes meios para suplementação com uma grande diversidade de ingredientes funcionais, tais como probióticos e prebióticos.

Os sucos de frutas são frequentemente complementados com ingredientes eliminadores de oxigênio, como o ácido ascórbico, promovendo assim condições anaeróbicas que facilitam a adição dos probióticos nos sucos (KUMAR *et al.*, 2015). Entretanto, vale salientar, que no suco de manga não se faz necessária a adição de compostos antioxidantes, devido à sua alta concentração de carotenóides, compostos fenólicos, vitaminas A e C, que possuem propriedades antioxidantes (REDDY *et al.*, 2015; ACEVEDO-MARTÍNEZ *et al.*, 2018).

Contudo, o desenvolvimento de bebidas probióticas fermentadas à base de frutas pode ser um pouco desafiador, mesmo que essas possuam excelentes propriedades nutricionais e químicas. Segundo Perricone *et al.* (2015), diversos parâmetros, como: pH, alta concentração de ácidos e oxigênio dissolvido, temperatura de incubação e de armazenamento, materiais das embalagens, cepa microbiana utilizada e proporção de inóculo, podem influenciar na estabilidade e qualidade dos alimentos, tão quanto na sobrevivência dos microrganismos.

Diante do exposto, metodologias e estratégias podem ser utilizadas, a fim de melhorar a estabilidade dos microrganismos e a qualidade das bebidas probióticas fermentadas desde a produção e armazenamento até o consumo. Alguns estudos publicados nos últimos anos buscaram desenvolver sucos de frutas probióticos que contivessem boas atribuições nutricionais e sensoriais, obtendo bons resultados (FARIAS *et al.*, 2016; ACEVEDO-MARTINEZ *et al.*, 2018; KHEZRI *et al.*, 2018; ANDRADE *et al.*, 2019; BARROS *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2022).

3.2.3 Xilitol

Cada vez mais tem sido impulsionada a produção de alimentos que não contenham ingredientes prejudiciais à saúde humana, devido às mudanças no estilo de vida e maior conscientização dos consumidores. No entanto, o consumo de alimentos ricos em açúcares é um dos principais fatores para o aumento de obesidade e diabetes mellitus (BORDIER, *et al.*, 2022).

Nesse sentido, o uso de adoçantes de baixo valor calórico, baixo índice glicêmico e alto nível de doçura, pode ser uma alternativa promissora na formulação de novos alimentos de caráter funcional que visam melhorar a saúde dos consumidores. Para tanto, o xilitol se torna uma excelente opção, pois é um edulcorante que pode facilmente substituir a sacarose por apresentar sabor doce.

O xilitol é um poliol (açúcar-álcool) de cinco carbonos ($C_5H_{12}O_5$) com massa molar de 152,15 g/mol (BORDIER *et al.*, 2022), que pode ser encontrado naturalmente em frutas e vegetais (SANTOS *et al.*, 2022). O xilitol vem sendo amplamente usado nas indústrias de alimentos, pois apresenta 2,4 kcal/g (MOHAMAD *et al.*, 2015), enquanto que a sacarose apresenta 4,0 kcal/g, isto significa que a utilização do xilitol pode resultar numa diminuição de 40% do valor calórico do alimento ao qual é adicionado (DOSSIÊ EDULCORANTES, 2013). No entanto, o xilitol não é absorvido completamente, mas quando ingerido além de gerar uma sensação de saciedade, pode ser fermentado por bactérias presentes no cólon (MEYER-GERSPACH *et al.*, 2021).

No Brasil, o uso do xilitol foi regulamentado pela Resolução RDC nº 18, de 24 de março de 2008, regulamento esse que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em

alimentos. Este aditivo edulcorante é capaz de adoçar o alimento, uma vez que este não afeta a identidade e a genuinidade dos alimentos. Ainda mais, o xilitol pode ser usado em alimentos e bebidas para controle do peso corporal, controle da ingestão de açúcares, restrição do consumo de açúcares ou complementação nutricional, devendo ser usado na quantidade necessária para se obter o efeito desejado “*quantum satis*” (ANVISA, 2008).

Entretanto, vale salientar, que quando ingerido em quantidades elevadas, o xilitol pode ocasionar em problemas intestinais, produzindo efeito laxativo (MUSSATO e ROBERTO, 2002). No organismo humano, cerca de 5 a 15 gramas de xilitol são formadas, porém, doses superiores a 30 g/dia podem causar diarreia em adultos que o utilizam pela primeira vez, apesar do aparelho digestivo tolerar até 200 g a 300 g por dia, quando já é acostumado.

Além de ser utilizado como ingrediente alimentar, o xilitol possui várias aplicações clínicas, sendo indicado para tratar diabetes devido ao seu metabolismo independente da insulina, desordem no metabolismo de lipídeos, lesões renais e parenterais (MUSSATTO e ROBERTO, 2002), além de estar presente em alimentos direcionados para obesos e pessoas preocupadas em manter uma boa saúde. Segundo Mohamad *et al.* (2015), o benefício mais importante do xilitol é suas propriedades anticariogênicas, ajudando na redução de cáries e formação de placas dentárias.

Em seu estudo, Grembecka (2015), destacou o xilitol como um composto que aumenta a produção de saliva, melhora o odor do hálito, reduz infecções na boca, possui baixas calorias e índice glicêmico, diminui a concentração de ácidos graxos livres e ajuda a manter a função intestinal saudável através da inibição do crescimento de leveduras.

Portanto, observa-se que a utilização do xilitol na produção de alimentos e bebidas, é uma alternativa bastante promissora, mas pouco explorada, sendo necessários mais estudos voltados para a utilização de xilitol em alimentos, em especial, os que contêm probióticos.

3.2.4 Inulina

Os prebióticos são compostos que agregam valor nutricional ao alimento e funções fisiológicas para o hospedeiro. Estes compostos são ingredientes alimentares dietéticos não digeríveis que ao passarem pelo cólon, beneficiam o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e atividade das bactérias benéficas *in situ* (NAZZARO *et al.*, 2008).

A inulina, um dos prebióticos mais conhecidos, é um polissacarídeo solúvel da família dos frutanos, do tipo I Glicose α 1–2 [β Frutose 1–9], podendo ser encontrada em diversas espécies de plantas, na qual se destaca, a raiz da chicória (*Cichorium intybus*), a maior fonte vegetal deste prebiótico (ADITIVOS e INGREDIENTES, 2018; RUBEL *et al.*, 2021). Além da raiz da chicória, a inulina está presente no alho, tomate, cebola, banana, alcachofra, centeio, cevada, trigo, mel e na cerveja (ANJO, 2004).

Os frutanos do tipo inulina são os únicos prebióticos que possui comprovação científica quanto à resistência à acidez gástrica, à hidrólise pelas enzimas gastrointestinais e à absorção gastrointestinal (CAPRILES e ARÊAS, 2012), podendo exercer efeitos fisiológicos benéficos (RUBEL *et al.*, 2021). Além dessas propriedades, a inulina pode ser fermentada pelas bactérias benéficas do intestino, estimulando seletivamente o crescimento e atividade desses microrganismos.

Com grau de polimerização de 2 até 60 unidade de monômeros, a inulina é formada por várias unidades de frutose ligadas por ligações β -(2–1) frutossil-frutose (DRABIŃSKA *et al.*, 2018). A configuração β é responsável pela resistência do prebiótico à atividade hidrolítica das enzimas no trato digestivo superior humano (MORREALE *et al.*, 2019), ficando disponíveis para fermentação da microflora, e assim, aumentam o poder de ação desses microrganismos (NAZZARO *et al.*, 2012; ALIZADEH *et al.*, 2020).

A ação dos prebióticos se dá por meio da estimulação do crescimento ou atividade das bactérias benéficas intestinais (SOUZA *et al.*, 2010), em especial, os lactobacilos e as bifidobactérias (GUIMARÃES *et al.*, 2020). Nos alimentos, a presença das fibras alimentares como a inulina é crucial para empregar maior funcionalidade aos produtos que chegam nas mesas dos consumidores.

Os prebióticos, como a inulina, são compostos fundamentais para a indústria alimentícia, pois, apresentam características emulsificantes, estabilizantes, gelificantes e edulcorantes, favorecendo a sua utilização como substituto de gorduras e açúcares (FIGUEROA, 2017). Na literatura, há diversos trabalhos que ao utilizar a inulina como aditivo em sucos probióticos fermentados de frutas, mencionam o seu potencial prebiótico sobre as bactérias probióticas e melhoria nas características sensoriais dos alimentos (AMANDA e CHOO, 2018; ANDRADE *et al.*, 2019).

Segundo a ANVISA (2016), a inulina pode ser utilizada na produção de alimentos, desde que, o produto forneça no mínimo 5 g de inulina. Contudo, o consumo de inulina não pode exceder o valor de 30 g, uma vez que, o consumo deste produto em concentrações elevadas, pode trazer risco à saúde e ao bem estar dos consumidores. Altas doses de fibras dietéticas podem causar desconforto ou flatulência devido à formação de gases como resultado da fermentação microbiana no intestino (RUBEL *et al.*, 2021).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MICRORGANISMO

A cultura comercial de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 foi adquirida da Plast Labor (Rio de Janeiro, Brasil) e foi preservada em glicerol a 10 % (v/v) (CHANG e LIEW, 2012) no Laboratório de Bioprocessos e Bioprodutos da Universidade Federal de Pernambuco (LABBIO – UFPE). A reativação do microrganismo ocorreu pela adição de 2 mL da suspensão de *L. rhamnosus* ATCC 7469 em 50 mL de meio seletivo para *Lactobacillus* (MRS – MAN, ROGOSA e SHARPE) durante 24 horas a 37 °C em estufa para cultura bacteriológica (LABOR).

4.2 POLPA DE MANGA

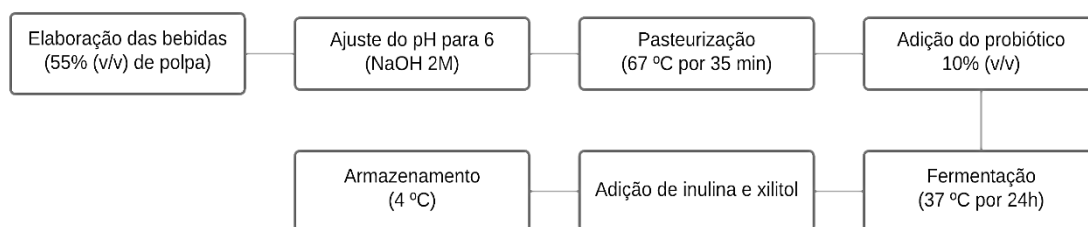
A polpa de Manga (*Mangifera indica* L.) da marca Santa Amélia foi adquirida em comércio local e foi armazenada à - 20 °C em freezer (Electrolux, FE 22) até posterior uso. Ao longo do processo de produção das bebidas, observou-se o prazo de validade para o uso correto do produto.

4.3 PRODUÇÃO DO SUCO PROBIÓTICO FERMENTADO DE MANGA

Para a elaboração do suco probiótico de manga, foram utilizados 55 % V/V de polpa de manga. Após a diluição em água destilada, o pH da bebida (3,4 – 3,7) foi ajustado para 6,0 com NaOH 2M, seguindo para o processo de pasteurização lenta a 67 °C $\pm$ 2 °C por 35 minutos, com subsequente choque térmico em banho com gelo por 5 minutos (FELLOWS, 2009; FARIAS *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017).

A fermentação de todos os sucos foi conduzida em Erlenmeyer de 125 mL, com cada frasco contendo 45 mL de suco de manga pasteurizado. Todos sucos foram inoculados com 10% (V/V) de suspensão bacteriana de *L. rhamnosus* ATCC 7469 e posteriormente tamponados com algodão e incubados em estufa bacteriológica (LABOR) a 37°C por 24 horas (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma de elaboração das bebidas probióticas fermentadas de manga.



Fonte: Autor (2022).

4.4 CONDIÇÕES DE ESTOQUE REFRIGERADO

Após o período de fermentação, os sucos foram prontamente adicionados de inulina e xilitol para avaliar a influência desses aditivos durante o estudo de vida de prateleira. A concentração de inulina foi selecionada a partir do trabalho realizado por Andrade *et al.* (2019). A concentração de xilitol foi selecionada com base no estudo realizado por Santos *et al.*, (2017). A inulina e o xilitol foram adquiridos da empresa ROVAL na cidade do Recife – PE.

O estudo da influência da inulina e xilitol na sobrevivência da linhagem probiótica foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa, foram realizados quatro ensaios (Tabela 1): suco controle sem adição de inulina ou xilitol (SC); suco com adição apenas de inulina (SI) ou de xilitol (SX); suco com adição de ambos (SIX). Após a adição dos ingredientes funcionais, as bebidas probióticas fermentadas de manga foram armazenadas em frascos de vidro tamponados e mantidos sob refrigeração à 4°C por até 60 dias. Durante o período de armazenamento, os sucos foram analisados quanto à viabilidade celular e pH. A partir da análise da viabilidade foi calculada a sobrevivência do probiótico ao estoque refrigerado.

Tabela 1. Concentrações de inulina e xilitol adicionadas aos sucos probióticos fermentados.

Ensaio	Inulina (g/L)	Xilitol (g/L)
SC	0	0
SI	5	0
SX	0	10
SIX	5	10

Fonte: O Autor (2022).

Na segunda etapa do estudo foi aplicado um planejamento fatorial 2² com duas replicatas no ponto central para avaliar a variação das concentrações de inulina e xilitol (Tabela 2). Como na primeira etapa, após a fermentação, foram adicionados inulina e xilitol (SIX2). Os sucos probióticos e fermentados, acrescidos dos aditivos foram armazenados por 28 dias sob refrigeração (4 °C). Nesta etapa, também foram analisados a viabilidade celular e o pH. A sobrevivência do microrganismo durante o estoque também foi calculada.

Tabela 2. Concentrações de inulina e xilitol utilizadas na elaboração dos sucos simbióticos fermentados (SIX2).

Ensaio	Inulina (g/L)	Xilitol (g/L)
E1	2	5
E2	5	5
E3	2	10
E4	5	10
E5	3,5	7,5

E6

3,5

7,5

Fonte: O Autor (2022).

4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

4.5.1 Análise da Viabilidade Celular

A determinação da viabilidade celular para os sucos elaborados na primeira etapa foi realizada nos intervalos de 0, 15, 30, 45 e 60 dias de estoque. Na segunda etapa do estudo, a viabilidade celular de *L. rhamnosus* foi determinada com 0 e 28 dias de estoque refrigerado.

A viabilidade celular foi expressa em Log UFC/mL (Unidade Formadora de Colônia por mililitro), e foi determinada em triplicata através de diluições seriadas e técnica de espalhamento de 0,1 mL de cada amostra diluída em placas de Petri contendo MRS Ágar. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica (Labor) a 37°C por 48 horas. Após o período de incubação foi contado o número de colônias viáveis em contador de colônias manual (PHOENIX CP 602).

4.5.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada utilizando-se potenciômetro digital (JENWAY 3510, Meter). Antes de realizar qualquer análise, o potenciômetro foi calibrado com soluções tampão (Buffer) de pH 7,0 ± 0,02 e solução tampão (Buffer) de pH 4 ± 0,02.

4.5.3 Determinação da Sobrevivência

A determinação da sobrevivência bacteriana foi realizada utilizando-se as viabilidades iniciais (V_i) e finais (V_f) do microrganismo nos sucos probióticos e fermentados de manga sob refrigeração (Eq. 1).

$$S = \frac{V_f}{V_i} * 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

S = Sobrevivência (%);

V_f = Viabilidade Final (Log UFC/mL);

V_i = Viabilidade inicial (Log UFC/mL)

4.5.4 Tratamentos dos dados

Todas as análises foram realizadas em triplicata, com exceção dos ensaios do ponto central da segunda etapa do estudo, que foram em duplicata. As médias, desvios padrão e coeficientes de variação foram determinados no Excel, como também, foi utilizado para a construção dos gráficos e tabelas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software Statistica 7.0.

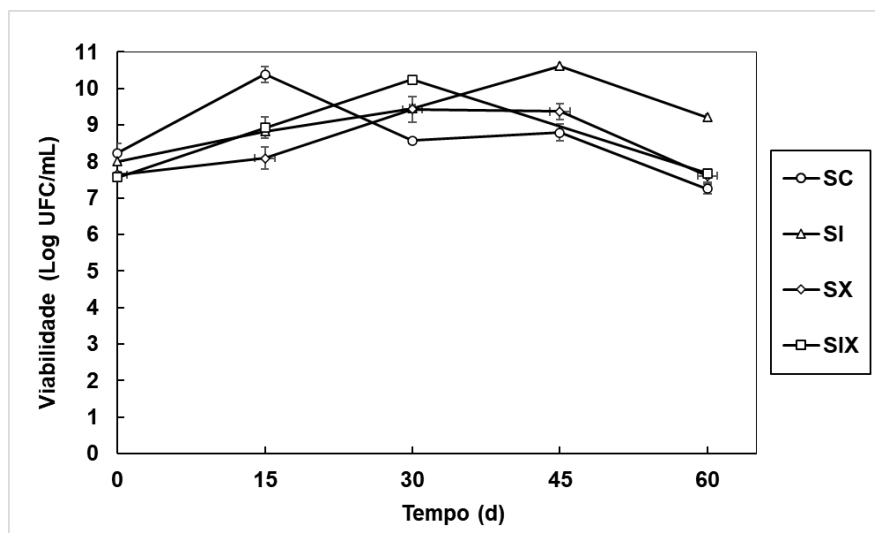
5 RESULTADOS

5.1 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL NO SUCO PROBIÓTICO FERMENTADO DE MANGA

A viabilidade de *L. rhamnosus* em suco fermentado de manga sem nenhum aditivo foi cerca de 8,2 Log UFC/mL, com uma produtividade celular média de 0,10 Log UFC/mL.h, com 24 horas de fermentação.

A Figura 2 apresenta o estudo cinético da viabilidade, das quatro formulações, obtidas pela adição de inulina (SI), xilitol (SX), ambos (SIX) ou ainda sem aditivos (SC).

Figura 2. Viabilidade de *L. rhamnosus* ATCC 7469 nos sucos fermentados de manga durante estoque refrigerado.

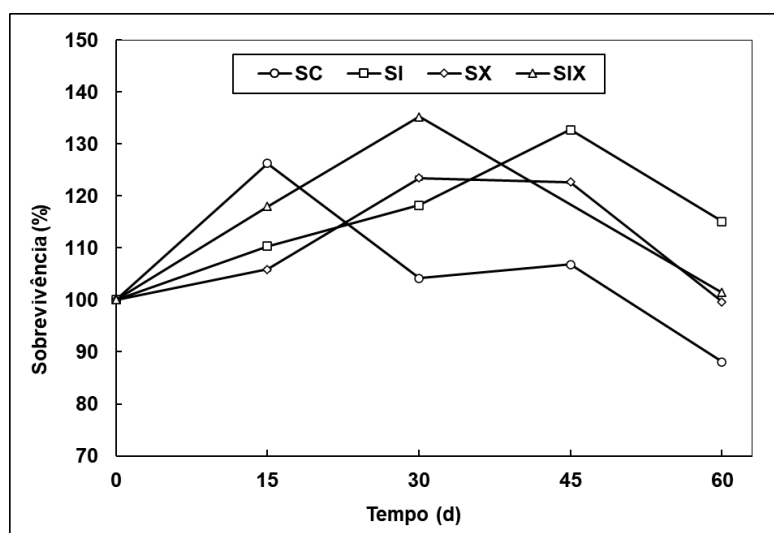


Fonte: O Autor (2022).

Com base na Figura 2, após 60 dias, a viabilidade final foi maior do que 7 Log UFC/mL para as condições SC, SX e SIX, e de 9 Log UFC/mL para a condição SI.

A Figura 3 apresenta os valores da sobrevivência de *L. rhamnosus* nas quatro formulações de suco probiótico fermentado de manga durante 60 dias de estoque refrigerado.

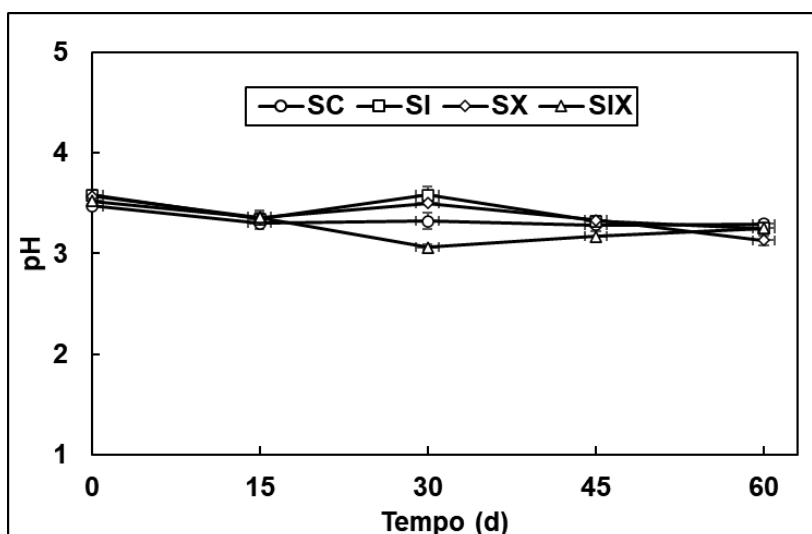
Figura 3. Sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 7469 durante estoque refrigerado das quatro formulações.



Fonte: O Autor (2022).

Todas as condições apresentaram sobrevivências acima de 80%, após o período de estoque refrigerado. Os valores de pH das quatro formulações (SC, SI, SX e SIX) durante 60 dias de armazenamento estão apresentados na Figura 4.

Figura 4. Perfil de pH para os sucos probióticos fermentados de manga estoque refrigerado.



Fonte: O Autor (2022).

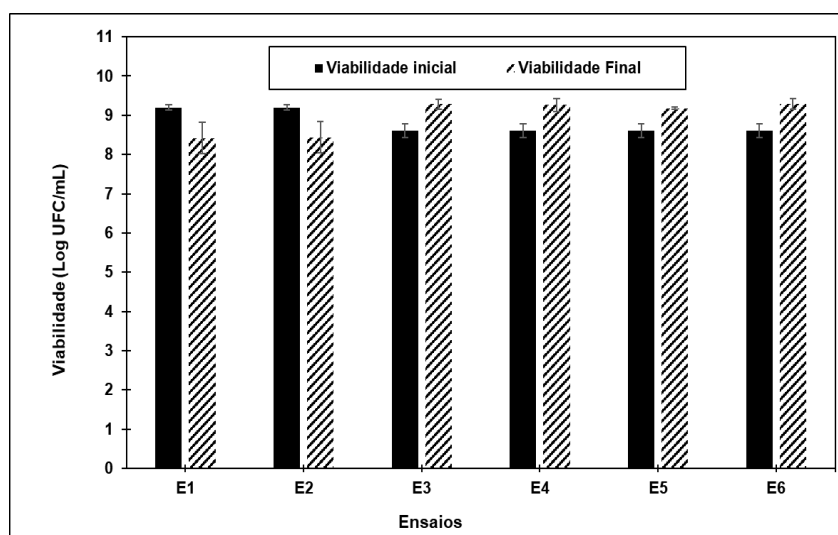
O pH variou entre aproximadamente 3,2 e 3,6, isto é, praticamente este parâmetro manteve-se constante durante o tempo de estoque. Após 30 dias de estoque, foi possível

observar uma maior variação nos valores de pH para as formulações, exceto para a condição SC, que se manteve constante.

5.2 APLICAÇÃO DO PLANEJAMENTO FATORIAL PARA AVALIAR OS EFEITOS DA ADIÇÃO DE INULINA E XILITOL

Os valores da viabilidade celular nos ensaios do planejamento fatorial, dos sucos simbióticos fermentados (SIX2), no início e com 28 dias de estoque refrigerado, são apresentados na Figura 5.

Figura 5. Viabilidade de *L. rhamnosus* ATCC 7469 nos sucos simbióticos fermentados de manga, com 28 dias de estoque refrigerado.

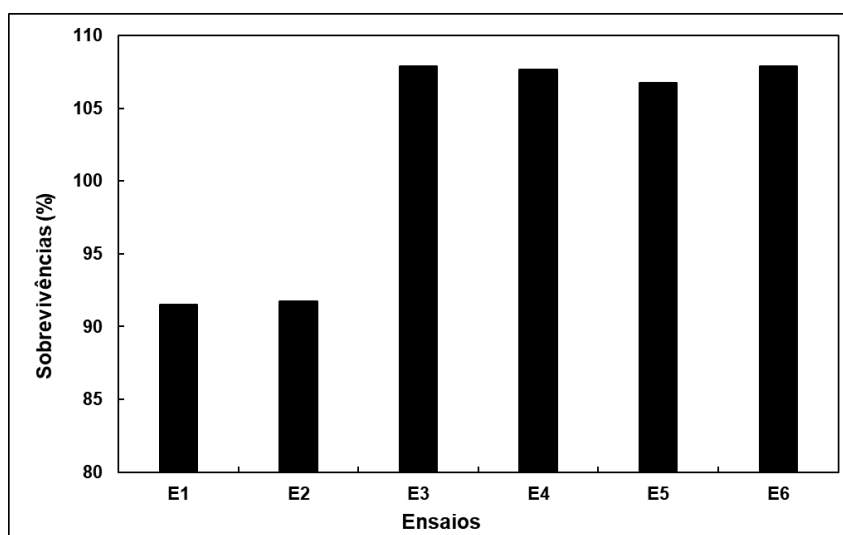


Fonte: O Autor (2022).

A viabilidade celular final de *L. rhamnosus* nos sucos probióticos de manga, variou de 8 Log UFC/mL a 9 Log UFC/mL, após 28 dias de estoque.

A partir da Figura 6 é possível observar que as sobrevivências de *L. rhamnosus* ATCC 7469, assim como as viabilidades, foram dependentes da concentração dos aditivos empregados na formulação dos sucos probióticos de manga (SIX2).

Figura 6. Sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 7469 nos sucos simbióticos fermentados, com 28 dias de estoque refrigerado.

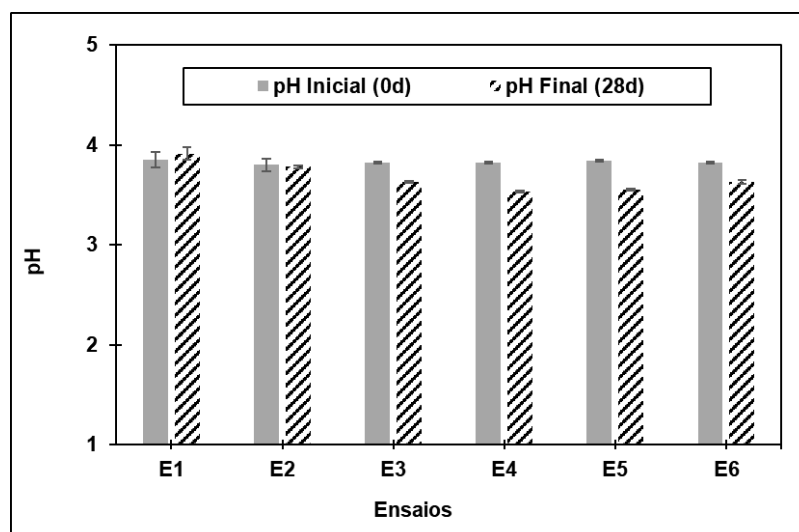


Fonte: O Autor (2022).

Todos os valores de sobrevivência após 28 dias de estoque, foram maiores do que 90%, independente da concentração dos aditivos. Os ensaios E1 e E2, apresentaram sobrevivência de 91,5% e 91,7%, respectivamente. Enquanto que nos demais ensaios, as sobrevivências foram de, aproximadamente, 107%.

A Figura 7 apresenta os valores de pH dos sucos simbióticos fermentados (SIX2), com 28 dias de estoque refrigerado.

Figura 7. Valores de pH dos sucos simbióticos fermentados de manga adoçados com xilitol no início e final do estoque refrigerado.



Fonte: O Autor (2022).

Apesar das variáveis não apresentarem estatisticamente efeitos significativos, após aplicação do planejamento fatorial, observou-se uma tendência de manutenção da sobrevivência microbiana na presença de concentrações de xilitol acima de 7,5 g/L. Em contrapartida, foi observado um comportamento diferente no que diz respeito à inulina, não demonstrando efeitos na sobrevivência.

6 DISCUSSÃO

Todas as viabilidades foram maiores do que o recomendado para alimentos probióticos fermentados (7 Log UFC/mL), durante 60 dias de estoque, independente da adição de inulina e/ou xilitol (Figura 2). Os maiores valores de viabilidade (~10 Log UFC/mL) foram encontrados para os sucos SC (15 dias), SIX (30 dias) e SI (45 dias), mas em diferentes tempos de estoque. O suco apenas com adição de xilitol (SX) foi o que apresentou, de uma forma geral, resultados menos favoráveis.

Como pode ser observado na Figura 3, houve crescimento do probiótico nas quatro bebidas, durante algum período do estoque, dependendo da formulação. Nos sucos SX e SIX o crescimento ocorreu em 30 dias. Enquanto que no suco controle (SC) e no suco com adição apenas de inulina (SI), houve crescimento até 15 e 45 dias de estoque, respectivamente. Apesar dos valores de viabilidade (Figura 2) terem sido os menores no suco SX, a Figura 3 mostra que houve crescimento nos 30 primeiros dias do estoque.

Durante o estoque refrigerado dos sucos probióticos fermentados, não é esperado que o microrganismo probiótico apresente crescimento celular, pois, não é uma condição adequada para esse fim, uma vez que são utilizadas baixas temperaturas. Apesar de não ser a condição ideal, alguns microrganismos apresentam a capacidade de crescer e sobreviver em temperaturas mais baixas.

Em seu trabalho, Valik *et al.* (2008), observaram que *L. rhamnosus* GG apresentou um aumento na viabilidade de 4,93 Log UFC/mL, com uma produtividade celular de 0,5 Log UFC/d, após 10 dias sob uma temperatura de 8°C. O mesmo pode ser observado no trabalho de Matejčková *et al.* (2016), no qual a linhagem probiótica utilizada apresentou crescimento após um período de 23 dias a 8°C. Neste caso, a viabilidade variou de 2,97 para 3,14 Log UFC/mL, com produtividade celular de 0,007 Log UFC/d.

A partir dos dados apresentados nesses dois estudos, nota-se que é possível haver crescimento microbiano durante o estoque, porém de maneira lenta. Isto pode ser explicado observando os valores de produtividade celular dos microrganismos apresentados acima, no qual, foram maiores do que os encontrados neste presente

trabalho. Isto indica que, provavelmente, os valores encontrados no presente trabalho foram menores, porque a temperatura também foi menor do que 8 °C.

O estoque do SC foi o que apresentou menor intervalo de tempo de crescimento, isto é, a adição tanto de inulina, quanto de xilitol proporcionaram valores de sobrevivências maiores do que 100% (Figura 3), indicando que estes aditivos prolongaram o tempo de crescimento no estoque. Entretanto, os valores de produtividade celular são, em média, bem menores do que na fermentação. Isso ocorre devido à temperatura do estoque (4 °C) ser bem abaixo da temperatura ótima de crescimento (37 °C).

A maior variação de pH (Figura 4) foi observada entre 15 e 30 dias, com exceção do suco controle (SC), que apresentou maior variação nos primeiros 15 dias. Isso concorda com o comportamento da viabilidade neste meio (Figura 3), isto é, houve crescimento no mesmo período. Os valores encontrados neste presente estudo, estão de acordo com aqueles encontrados para o suco de manga fermentado por *L. casei* (ACEVEDO-MARTÍNEZ *et al.*, 2018).

Diferente da etapa anterior, na segunda etapa do estudo da influência dos aditivos na sobrevivência de *L. rhamnosus* ATCC 7469, os sucos permaneceram por apenas 28 dias em estoque refrigerado, pois a partir dos resultados da primeira etapa do estudo, foi visto que a viabilidade e sobrevivência dos microrganismos no suco SIX ficaram constantes até os primeiros 30 dias de estoque, e que após esse período, elas diminuíram, considerando esse tempo como o ideal para as análises.

Quando foi aplicado o planejamento fatorial (SIX2), a viabilidade de *L. rhamnosus* foi, em média, de $8,9 \pm 0,34$ Log UFC/mL (Figura 5). Quando a concentração de xilitol estava em sua menor concentração (5 g/L), independente da concentração de inulina (2 g/L ou 5 g/L), nos ensaios 1 e 2, houve diminuição na viabilidade. Entretanto, ocorreu aumento da viabilidade, quando foi utilizada a maior concentração de xilitol (10 g/L), e a concentração de inulina aumentou de 2 para 5 g/L (ensaios 3 e 4). Nos ensaios do ponto central (5 e 6), isto é, para concentrações intermediárias de inulina e xilitol, 3,5 e 7,5 g/L, respectivamente, também ocorreu aumento da viabilidade, com 28 dias de estoque. No geral, o microrganismo apresentou uma produtividade celular média de 0,001 Log UFC/mL.h.

Os resultados apresentados acima só foram possíveis, em razão do aumento na concentração de xilitol nos ensaios 3 e 4, em comparação aos ensaios 1 e 2. Isto é, o aumento da concentração de xilitol, para ambas as concentrações de inulina, favoreceu aumento e estabilidade da viabilidade microbiana durante o estoque. O mesmo foi observado para os ensaios do ponto central.

De acordo com Kojima *et al.* (2015), o xilitol possui potencial para funcionar como prebiótico, apoiando o crescimento e manutenção das culturas de lactobacilos, sem incentivar o crescimento dos microrganismos patogênicos. Schmitt *et al.* (2021) mencionam em seu trabalho que, assim como a inulina, o xilitol é um prebiótico que estimula o crescimento e metabolismo de probióticos, especialmente os lactobacilos. No entanto, o uso de xilitol em sucos de frutas probióticos ainda é pouco explorado, sendo necessário mais estudos que avaliem a sua influência em preparações alimentícias.

Todos os valores de sobrevivência foram maiores do que 90%, independente da concentração de inulina e xilitol (Figura 6). Nos ensaios E1 e E2 foram observadas menores sobrevivências em relação aos demais ensaios, cerca de 91%. Enquanto que nos ensaios E3 e E4, assim como no ponto central (E5 e E6) as sobrevivências foram de aproximadamente, 107%. Diante disso, foi observado para a sobrevivência, o mesmo perfil de comportamento da viabilidade.

Como o aumento da concentração de inulina ou de xilitol não exerceu efeito significativo sobre a sobrevivência, é possível utilizar concentrações de 2 a 5 g/L e de 5 a 10 g/L, de inulina e xilitol, respectivamente. No entanto, altas concentrações de ambos os aditivos podem ser tóxicos e/ou prejudiciais aos microrganismos probióticos e consumidores. Segundo Parkar *et al.* (2010), a adesão de *L. rhamnosus* às células epiteliais do intestino foi reduzida quando doses de inulina acima de 5 g/L foram utilizadas. Quanto ao xilitol, altas concentrações de xilitol (> 12%) exerceram efeito inibitório sobre a viabilidade de *L. acidophilus* (SCHMITT *et al.*, 2021).

Para humanos, não se recomenda consumir uma quantidade acima de 30 g/dia de inulina ou xilitol, pois o consumo exagerado de ambos os aditivos pode trazer risco à saúde dos consumidores (ADITIVOS e INGREDIENTES, 2016; ANVISA, 2016).

Os ensaios 1 e 2 foram os que apresentaram as menores variações no pH (Figura 7). Nos demais ensaios, a maior variação de pH parece estar relacionada com o aumento

da viabilidade (Figura 5). Em média, o pH dos sucos simbióticos fermentados variou de 3,6 a 3,9, com uma variação média de 0,6%, após 28 dias de estoque refrigerado. Mesmo com variações, todos os valores de pH ao final do estoque não foram menores do que 3, nem superiores a 4, estando de acordo com o observado em sucos probióticos fermentados de frutas (PANDA *et al.*, 2016; ANDRADE *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2022).

O baixo pH tem sido citado como um dos principais fatores associados à baixa sobrevivência dos probióticos nos sucos de frutas (GARCIA *et al.*, 2018). Neste presente trabalho, mesmo com as oscilações no pH, *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 7469 foi capaz de sobreviver em todos os sucos, com ou sem aplicação de um planejamento fatorial, durante o estoque refrigerado.

Os resultados de viabilidade celular, sobrevivência e pH da primeira etapa para SIX, foram similares aos resultados do ensaio 4 da segunda etapa. A viabilidade celular e sobrevivência para os dois sucos em questão, estiveram acima de 9 Log UFC/mL e 100%, respectivamente, após cerca de 30 dias em estoque refrigerado. O aumento da viabilidade no SIX e no ensaio 4 foi acompanhado pelo declínio do pH dos sucos, ambos apresentando a mesma faixa de variação. Diante do exposto, é possível observar que uma maior concentração de xilitol pareceu favorecer o crescimento de *L. rhamnosus* no suco SIX e ensaio 4 produzido na segunda etapa do estudo.

Além do ensaio 4, outros três ensaios (E3, E5 e E6) apresentaram resultados semelhantes entre si. Ou seja, independente da concentração de inulina e xilitol usada, os quatros ensaios se comportaram da mesma maneira, e isso levou a valores próximos entre eles. Esses resultados são de extrema importância quando nos referimos à produção em larga escala de sucos probióticos fermentados, uma vez que foi comprovado que uma concentração intermediária de xilitol (7,5 g/L), exerceu os mesmos efeitos positivos sobre a viabilidade e sobrevivência de *L. rhamnosus*, que a concentração máxima (10 g/L).

7 CONCLUSÃO

- O suco de manga foi um adequado substrato para o desenvolvimento de bebidas probióticas e/ou simbióticas fermentadas, sendo uma opção de alimento para pessoas veganas ou com intolerância à lactose;
- Todos os sucos podem ser considerados probióticos, devido à concentração de células viáveis no final do período de armazenamento, ter sido superior ao recomendado para produtos probióticos ($> 7 \text{ Log UFC/mL}$);
- A formulação de suco simbiótico foi possível com a adição de inulina;
- Ao aplicar o planejamento fatorial, o aumento na concentração de xilitol exerceu efeito positivo sobre a sobrevivência de *L. rhamnosus* durante 28 dias de estoque;
- Mesmo com variação, todos os valores de pH estiveram entre 3 e 4, isto é, dentro do recomendado para alimentos probióticos fermentados;
- A mudança no pH dos sucos, foi acompanhada pelo aumento da viabilidade celular e atividade metabólica de *L. rhamnosus* ATCC 7469;
- As concentrações intermediárias de inulina e xilitol do ponto central (E5 e E6) são os valores mais adequados para a produção de sucos simbióticos fermentados de manga, visto que, não seriam necessários adicionar maiores concentrações dos aditivos para obter sobrevivência maior do que 100%, durante estoque refrigerado;
- Os sucos probióticos e/ou simbióticos fermentados adoçados ou não com xilitol, podem ser considerados potenciais meios carreadores de *L. rhamnosus* ATCC 7469.

8 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABBASI, A. M. *et al.* Comparative assessment of phenolic content and in vitro antioxidant capacity in the pulp and peel of mango cultivars. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 13507-13527, 2015.

ACEVEDO-MARTÍNEZ, E. *et al.* Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango (*Mangifera indica* L. Cv. “Tommy Atkins”) beverage. **Revista Dyna**, v. 85, n. 207, p. 84-92, 2018.

ADEBAYO-TAYO, B. C. *et al.* Production and evaluation of probioticated mango juice using *Pediococcus pentosaceus* and *Pediococcus acidilactici* during storage at different temperature. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 6, 100202, 2021.

ADITIVOS e INGREDIENTES. Adoçantes - principais tipos e ação nos alimentos. 2018. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com/artigos/artigos-editoriais-geral/adocantes-principais-tipos-e-acao-nos-alimentos>. Acesso em: 03/08/2022.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 1999. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Regulamento de procedimentos para registro de alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 2002a. Resolução nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 2002b. Resolução nº 259, de 20 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento técnico sobre a rotulagem de alimentos embalados. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 2008. Resolução nº 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 2016. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA). 2018. Dispõe sobre os requisitos para comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos para uso em alimentos. Brasília: Diário Oficial da União.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2021. Alteração taxonômica de espécies do gênero *Lactobacillus*. Brasília: Diário Oficial da União. Disponível em: [https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e-](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e)

respostas-arquivos/Alteracao-taxonmica-de-linhagens-lactobacillus_1a-versao.pdf.
Acesso em: 03 de julho de 2022.

ALAÑÓN, M. E. *et al.* Evolution of bioactive compounds of three mango cultivars (*Mangifera indica* L.) at different maturation stages analyzed by HPLC-DAD-q-TOF-MS. **Food Research International**, v. 125, 108526, 2019.

ALIZADEH, A., OSKUYI, A. S., AMJADI, S. The effect of stevia and inulin on physicochemical and rheological properties. **Food Science and Technology International**, v. 25, n. 3, p. 243-251, 2018.

AMANDA, E., CHOO, W. S. Effect of refrigerated storage on the physicochemical characteristics and viability of *Lactobacillus plantarum* in fermented watermelon juice with or without supplementation with inulin or fructooligosaccharide. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 42, n. 12, e13831, 2018.

ANDRADE, R. *et al.* Increased survival of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in guava juices with simulated gastrointestinal conditions during refrigerated storage. **Food Bioscience**, v. 32, 2019.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-154, 2004.

BAJAJ, B. K. *et al.* Functional mechanisms of probiotics. **Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences**, v. 4, n. 4, p. 321-327, 2015.

BARBOSA, P. P. M., GALLINA, D. A. Viabilidade de bactérias (Starter e Probióticas) em bebidas elaboradas com iogurte e polpa de manga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 85-95, 2017.

BARROS, Z. M. P. Effect of thermosonication on quality parameters and production of probiotic juices. **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 4, p. 293-316, 2021.

BERNAL-CASTRO, C. A., DÍAZ-MORENO, C., GUTIÉRREZ-COSTÉS, C. Inclusion of prebiotics on the viability of a commercial *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* culture in a tropical fruit beverage. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, p. 987–994, 2019.

BORDIER, V. *et al.* Absorption and Metabolism of the Natural Sweeteners Erythritol and Xylitol in Humans: A Dose-Ranging Study. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 17, 2022.

BRAGA, T. R. *et al.* Drying of Mangoes (*Mangifera indica* L.) applying Pulsed UV Light as Pretreatment. **Food and Bioproducts**, v. 114, p. 95-102, 2019.

BUJNA, E. *et al.* Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, p. 547–554, 2018.

BURITI, F. C. A., SAAD, S. M. I. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 57, n. 4, 2007.

BURULEANU, L. C. *et al.* Fermentation of Vegetable Juices by *Lactobacillus acidophilus* LA-5, **IntechOpen**, 2013.

CAPRILES, V. D., ARÊAS, J. A. G. Frutanos do tipo inulina e aumento da absorção de cálcio: uma revisão sistemática. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 1, p. 147-159, 2012.

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, R. *et al.* Comparative evaluation of the antioxidant capacities, organic acids, and volatiles of papaya juices fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

COSTA, M. G. M. *et al.* Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimization and product stability. **Food Chemistry**, v. 139, p. 261-266, 2013.

DIMITROVSKI, D. *et al.* Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. **Annals of Microbiology**, v. 65, p. 2161-2170, 2015.

DOSSIÊ EDULCORANTES. **Foods Ingredients Brasil**, v. 24, p. 28-52, 2013.

DRABIŃSKA, N. *et al.* Inulin-Type Fructans Application in Gluten Free Products: Functionality and Health Benefits. **Bioactive Molecules in Food**, p. 1-40, 2018.

DUNCAN, S. H., FLINT, H. J. Probiotics and prebiotics and health in ageing population. **Maturitas**, v. 75, p. 44-50, 2013.

FAO/WHO. 2001. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, p. 34.

FARAONI, A. S. *et al.* Desenvolvimento de um suco misto de manga, goiaba e acerola utilizando o delineamento de misturas. **Ciência Rural**, v. 42, n. 5, p. 911-917, 2012.

FARIAS, N., SOARES, M., GOUVEIA, E. Enhancement of the viability of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in passion fruit juice: Application of a central composite rotatable design. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 149-154, 2016.

FELLOWS, P. J. Food processing technology: principles and practice. **Boca Raton: CRC Press**, v. 3, p. 895, 2009.

FIGUEROA, I. C. A. Obtención de un producto de panificación enriquecido con fructanos de *Agave angustifolia* Haw y su evaluación en ratones en crecimiento. 2017. Dissertação de Mestrado. **Instituto Politécnico Nacional**, Morelos. 2017.

FONSECA, N. *et al.* A cultura da manga. – Ed. 2. Revisada e ampliada – Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, p. 63, 2006.

GARCIA, E. F. *et al.* The performance of five fruit-derived and freeze-dried potentially probiotic *Lactobacillus* strains in apple, orange, and grape juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 5000-5010, 2018.

GREMBECKA, M. Sugar alcohols—their role in the modern world of sweeteners: a review. **European Food Research and Technology**, v. 241, p. 1-14, 2015.

GRUPO KERRY. 2018. A global look at the digestive health and probiotic market. United States America, 2018.

GUIMARÃES, J. T. *et al.* Impact of probiotics and prebiotics on food texture. **Food Science**, v. 33, p. 38-44, 2020.

GUPTA, A. K. *et al.* A review on valorization of different byproducts of mango (*Mangifera indica* L.) for functional food and human health. **Food Bioscience**, v. 48, 101783, 2022.

HILL, C. *et al.* The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology e Hepatology**, v. 11, p. 506-514, 2014.

HU, K. *et al.* Phytochemical profiling of the ripening of Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. **Food Chemistry**, v. 256, p. 171-180, 2018.

HUANG, C. H. *et al.* Identification and Classification for the *Lactobacillus casei* Group. **Hypothesis and Theory**, v. 9, 1974, 2018.

IBGE. 2020. Produção Agrícola Nacional 2020. Rio de Janeiro, Brasil: IBGE.

IBRAHIM, S. A. *et al.* Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: Other Species. **Reference Module in Food Science**, 2016.

JARDIM, L. A. S., MENDES, M. L. M. Caracterização físico-química de farinha de algaroba e sua utilização na panificação. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, 2022.

- KHEZRI, S., MAHMOUDI, R., DEHGHAN, P. Fig juice fortified with inulin and *Lactobacillus delbrueckii*: A promising functional food. **Applied Food Biotechnology**, v. 5, n. 2, 2018.
- KIM, N. J. *et al.* Potato Juice Fermented with *Lactobacillus casei* as a Probiotic Functional Beverage. **Food Science and Biotechnology**, v. 21, p. 1301-1307, 2012.
- KOJIMA, Y. *et al.* Combining prebiotics and probiotics to develop novel symbiotics that suppress oral pathogens. **Journal of Oral Biosciences**, v. 58, 2015.
- KUMAR, B. V. *et al.* Probiotication of mango and sapota juices using *Lactobacillus plantarum* NCDC LP20. **Nutrafoods**, v. 14, p. 97-106, 2015.
- MAIA, M. C. A. *et al.* Avaliação sensorial de sorvetes à base de xilitol. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 146-151, 2008.
- MATEJČEKOVÁ, Z. *et al.* Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. **Acta Chimica Slovaca**, v. 9, n. 2, p. 104-104, 2016.
- MATHIPA-MDAKANE, M. G., THANTSHA, M. S. *Lacticaseibacillus rhamnosus*: A Suitable Candidate for the Construction of Novel Bioengineered Probiotic Strains for Targeted Pathogen Control. **Foods**, v. 11, n. 6, p. 785-808, 2022.
- MEGHA, R. *et al.* Physico-chemical characterization and biochemical profiling of mango genotypes during different fruit development stages. **South African Journal of Botany**, v. 149, p. 476-486, 2022.
- MENDES, R. M. L. *et al.* Potential use of the passion fruit from caatinga in kefir. **Food Bioscience**, v. 39, 100809, 2021.
- MEYER-GERSPACH, A. C. *et al.* Effect of the Natural Sweetener Xylitol on Gut Hormone Secretion and Gastric Emptying in Humans: A Pilot Dose-Ranging Study. **Nutrients**, v. 13, n. 1, 2021.
- MINDUS, C. *et al.* *L. rhamnosus* improves the immune response and tryptophan catabolism in laying hen pullets. **Scientific Reports**, v. 11, 19538, 2021.
- MOHAMAD, N. L., KAMAL, S. M. M., MOKHTAR, M. N. Xylitol Biological Production: A Review of Recent Studies. **Food Reviews International**, v. 31, 74-89, 2015.
- MORAES, F. P., COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.
- MORREALE, F. *et al.* Inulin enrichment of gluten free breads: Interaction between inulin and yeast. **Food Chemistry**, v. 278, p. 545–551, 2019.

MUSSATTO, S. I., ROBERTO, I. C. Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, 2002.

NASEF, H. Y. *et al.* Evaluation Quality of Guava Juice Fortified with Probiotic. **Middle East Journal of Applied Sciences**, v. 10, n. 3, p. 442-460, 2020.

NAZZARO, F. *et al.* Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 13, p. 2271-2276, 2008.

NAZZARO, F. *et al.* The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulated gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **Anaerobe**, v. 18, p. 280-285, 2012.

NETO, M. T. C., CUNHA, G. A. P. Manga - Produção: aspectos técnicos. Embrapa Mandioca e Fruticultura. Brasília – DF, p. 63, 2000.

OLIVEIRA, P. M. *et al.* Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli. **Journal Food Science Technology**, v. 58, p. 98-109, 2021.

O USO DA INULINA NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS. 2018. Aditivos e Ingredientes. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com.br/artigos/ingredientes-funcionais/o-uso-da-inulina-na-industria-de-alimentos> . Acesso em: 12 de abril de 2022.

PANDA, S. K. *et al.* Quality enhancement of prickly pears (*Opuntia* sp.) juice through probiotic fermentation using *Lactobacillus fermentum* - ATCC 9338. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 453-459, 2017.

PANDEY, K. R., NAIK, S. R., VAKIL, B. V. Probiotics, prebiotics and synbiotics – a review. **Journal Food Science Technology**, v. 52, n. 12, p. 7577-7587, 2015.

PARKAR, S. G. *et al.* Gut health benefits of kiwifruit pectins: Comparison with commercial functional polysaccharides. **Journal of Functional Foods**, v. 2. P. 210-2018, 2010.

PEREIRA, M. T., SANTANA, E, H, W., SANTOS, J. S. Importância das bactérias Ácido Lácticas e não Starter (NSLAB) na Tecnologia de Produção dos Derivados Lácteos. **Ensaio**, v. 24, n. 4, p. 348-352, 2020.

PERRICONE, M. *et al.* Challenges for the Production of Probiotic Fruit Juices. **Beverages**, v. 1, p. 95-103, 2015.

POLAK-BERECKA, M. *et al.* The effect of cell surface components on adhesion ability of *Lactobacillus rhamnosus*. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 106, p. 751-762, 2014.

RAIZEL, R. *et al.* Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. **Revista Ciência e Saúde**, v. 2, p. 9, 2011.

RAMOS, P. E. *et al.* Physiological Protection of Probiotic Microcapsules by Coatings. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 11, p. 1864-1877, 2018.

RANADHEERA, C. S. *et al.* Probiotic Delivery through Fermentation: Dairy vs. Non-Dairy Beverages. **Fermentation**, v. 3, n. 4, p. 67, 2017.

REDDY, L. V., MIN, J. H., WEE, Y. J. Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. **Microbiology and Biotechnology Letters**, v. 43, n. 2, p. 120-125, 2015.

RIBEIRO, A. *et al.* Development of a probiotic non-fermented blend beverage with juçara fruit: Effect of the matrix on probiotic viability and survival to the gastrointestinal tract. **LWT - Food Science and Technology**, v. 118, 2019.

ROBERFROID, M. B. Global view on functional foods: European perspectives. **British Journal of Nutrition**, v. 2, n. 88, p. 133–138, 2002.

RUBEL, I. A. *et al.* Inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): From its biosynthesis to its application as bioactive ingredient. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fiber**, v. 26, 100281, 2021.

SALAS-JARA, M. J. *et al.* Biofilm Forming *Lactobacillus*: New Challenges for the Development of Probiotics. **Microorganisms**, v. 4, n. 35, 2016.

SANTOS, E. K. R. *et al.* 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, E. K. R. *et al.* Utilization of the pectin and pulp of the passion fruit from caatinga as probiotic food carriers. **Food Bioscience**, v. 20, p. 56-61, 2017.

SATO, T. *et al.* Prebiotic potential of L-sorbose and xylitol in promoting the growth and metabolic activity 112 of specific butyrate-producing bacteria in human fecal culture. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 1, 1 – 20, 2016.

SCHMITT, J. A. D. *et al.* Effect of xylitol on the growth of *Lactobacillus acidophilus* for food and pharmaceutical applications. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 9, p. 87395-87411, 2021.

SEDDIK, H. A. *et al.* *Lactobacillus plantarum* and Its Probiotic and Food Potentialities. **Probiotics & Antimicrob Proteins**, v. 9, n. 2, p. 111-122, 2017.

SILVA, A. C. C. *et al.* Alimentos Contendo Ingredientes Funcionais em sua Formulação: Revisão de Artigos Publicados em Revistas Brasileiras. **Revista Conexão Ciência**, v. 11, n. 2, p. 133-144, 2016.

SILVA, G. B; ANDRADE, E. R. Produção de bebidas probióticas fermentadas de frutas e seus principais desafios. In: Anais do Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e

Tecnologia. Anais. Diamantina (MG) UFVJM, 2021. Disponível em: <https://www.even3.com.br/anais/cobicet/375967-PRODUCAO-DE-BEBIDAS-PROBIOTI-CAS-FERMENTADAS-DE-FRUTAS-E-SEUS-PRINCIPAIS-DESAFIOS>. Acesso em: 22/06/2022.

SOARES, L. P., JOSÉ, A. R. S. Compostos bioativos em polpas de mangas 'Rosa' e 'Espada' submetidas ao branqueamento e congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 579-586, 2013.

SOUZA, F. S. *et al.* Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 28, n. 1, p. 86-97, 2010.

SWAIN, M. R. *et al.* Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics. **Biotechnology Research International**, v. 2014, n. 19, 2014.

TRIPATHI, M. K., GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, p. 225-241, 2014.

TRUSH, E. A. *et al.* The Evolution of Human Probiotics: Challenges and Prospects. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, p. 1291–1299, 2020.

VALIK, L., MEDVEĐOVÁ, A., LIPTÁKOVÁ, D. Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 47, n. 2, p. 60-67, 2008.

WORKU, K. F., KURABACHEW, H., HASSEN, Y. Probiotication of Fruit Juices by supplemented Culture of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Science and Nutrition Engineering**, v. 9, n. 2, p. 45-48, 2019.

ZHENG, J. *et al.* 2020. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. **Revista Internacional De Microbiologia Sistemática e Evolucionária**, v. 70, n. 4, p. 2782-2858, 2020.

ZUNTAR, I., PETRIC, Z., KOVACEVIC, D. B., PUTNIK, P. Safety of Probiotics: Functional Fruit Beverages and Nutraceuticals. **Foods**, v. 9, n. 7, p. 947-966, 2020.