



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia de Alimentos

JULIANA SILVA DA GRAÇA

PROBIOMICS - IMPACTOS TECNOLÓGICOS E À SAÚDE DA ALTERAÇÃO DO
METABOLOMA DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS SUBMETIDOS A
CONDIÇÕES DE ESTRESSE

PROBIOMICS - HEALTH AND TECHNOLOGICAL IMPACTS CAUSED IN THE
METABOLOME OF PROBIOTIC MICROORGANISMS SUBMITTED TO STRESS
CONDITIONS

CAMPINAS

2021

JULIANA SILVA DA GRAÇA

PROBIOMICS - IMPACTOS TECNOLÓGICOS E À SAÚDE DA ALTERAÇÃO DO
METABOLOMA DE MICRO-ORGANISMOS PROBIÓTICOS SUBMETIDOS A
CONDIÇÕES DE ESTRESSE

PROBIOMICS - HEALTH AND TECHNOLOGICAL IMPACTS CAUSED IN THE
METABOLOME OF PROBIOTIC MICROORGANISMS SUBMITTED TO STRESS
CONDITIONS

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutora em Ciência de Alimentos.

Thesis presented to the Faculty of Food Engineering of the University of Campinas in a partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor in Food Science.

Orientador: Prof. Dr. Anderson de Souza Sant'ana

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
JULIANA SILVA DA GRAÇA, E ORIENTADA PELO
PROF. DR. ANDERSON DE SOUZA SANT'ANA.

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

G753p Graça, Juliana Silva da, 1992-
ProbiOmics - impactos tecnológicos e à saúde da alteração do metaboloma de micro-organismos probióticos submetidos a condições de estresse / Juliana Silva da Graça. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Anderson de Souza Sant'Ana.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Probióticos. 2. *Lactobacillus acidophilus*. 3. Produtos lácteos fermentados. 4. Metabolômica. 5. Bioacessibilidade. I. Sant'Ana, Anderson de Souza. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: ProbiOmics - health and technological impacts caused in the metabolome of probiotic microorganisms submitted to stress conditions

Palavras-chave em inglês:

Probiotics

Lactobacillus acidophilus

Fermented dairy products

Metabolomics

Bioaccessibility

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Títuloção: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Anderson de Souza Sant'Ana [Orientador]

Adriane Elisabete Antunes de Moraes

Edenir Rodrigues Pereira Filho

Severino Matias de Alencar

Patrícia Blumer Zacarchenco Rodrigues de Sá

Data de defesa: 06-05-2021

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0001-6492-0082>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/7231721551097246>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Anderson de Souza Sant'Ana
Orientador
FEA/UNICAMP

Profa. Dra. Adriane Elisabete Antunes de Moraes
Membro
FCA/UNICAMP

Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho
Membro
DQ/UFSCar

Prof. Dr. Severino Matias de Alencar
Membro
ESALQ/USP

Dra. Patrícia Blumer Zacarchenco Rodrigues de Sá
Membro
Tecnolat/ITAL

A ATA de defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade

Dedicado a todos aqueles que de forma tão amorosa
me auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho, ao
meu noivo, à minha família, aos meus amigos e aos
animais de laboratório.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, ao meu mentor espiritual e a toda a espiritualidade amiga que me intuiu durante este período, me fazendo crescer, vivenciar momentos únicos, e, por colocar anjos em forma de pessoas no meu caminho; os quais guiaram meus passos e ampararam meu coração nos momentos de dificuldade.

Agradeço imensamente ao meu noivo Leandro por toda a compreensão, auxílio e companheirismo durante essa longa caminhada, boa parte deste trabalho não teria sido realizada sem o seu incentivo.

À minha família que me apoiou nessa jornada compreendendo o meu distanciamento e me dando forças para continuar seguindo o meu caminho, acreditando em mim e me acolhendo sempre que necessário, por todo o amor e incentivo.

Aos meus sogros Célia e Eduardo por sempre me acolherem com muito amor e carinho, por me incentivarem e mimarem durante todo esse período. E ao Rogério e Raquel por todo carinho, pelos momentos, caronas e conversas.

Aos meus anjinhos que estiveram comigo durante toda essa jornada, que me guiaram, que me estenderam a mão, que genuinamente me presentearam com seu carinho e amizade durante todo este período e a quem serei eternamente grata: Marianna, Larissa, Luísa, Beatriz, Caio e Rámon.

À todos que fazem parte do Grupo Espírita Aprendizes do Evangelho (GEAE), ao dirigente, secretárias e colegas da 13ª turma de Aprendizes do Evangelho que me ampararam e orientaram nos momentos de dificuldade, de medo e de incerteza e pelos quais também me senti acolhida, amparada e amada.

Ao meu orientador Anderson por todas as oportunidades de aprendizado que me foram disponibilizadas, por todo o auxílio e por toda a crença que foi depositada em mim para a realização deste trabalho.

À todos os meus amigos e colegas do LMQA que estiveram compartilhando esta jornada comigo e aos quais tenho grande carinho e admiração. Em especial à Yanet, Antônio, Héctor, Mayara, Leonardo, Dara, Syllas, Grazielle, Alexandra, Rafaela, Monyca, Rafael, Bruna e Arthur.

À todos que colaboraram ativamente com este trabalho e a todos os laboratórios e professores que me abriram as portas. Em especial à Joyce, Ana Augusta, Rafael, Patrícia, Bruna, Caroline, Maria Paula, Mayra, Elenilson, Jaqueline e Vitória.

À bioterista Suzana que com muito carinho me amparou e auxiliou durante a experimentação animal presente neste trabalho.

Aos técnicos Rosemar e José Ricardo que sempre me atenderam muito bem e também me auxiliaram durante a execução deste trabalho.

À minha IC Carolina que me auxiliou muito durante um dos períodos mais carregados de trabalho, por toda a sua dedicação e esforço.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

E à todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desta etapa da minha vida, dedico os meus sinceros agradecimentos!

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da(o): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) processo nº 2016/12001-0; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq) (#134499/2015-8) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Produtos lácteos fermentados são alimentos mundialmente consumidos e caracterizam-se como um dos principais veículos para a adição de probióticos. Nos últimos anos, a pré-submissão ou pré-cultivo de probióticos às condições de estresse têm-se apresentado como uma prática eficaz no aumento da viabilidade destes micro-organismos durante processos fermentativos e de secagem. Apesar da aplicação de probióticos pré-submetidos às condições de estresse em iogurtes naturais ter sido relacionada com a alteração do metaboloma destes micro-organismos, ainda inexistem trabalhos que demonstrem o impacto de culturas probióticas “estressadas” ou “adaptadas” em aspectos nutricionais (como na bioacessibilidade de vitaminas e minerais) de leites fermentados e iogurtes naturais ou fortificados. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da pré-submissão de *Lactobacillus acidophilus* às condições de estresse na cinética de crescimento, viabilidade e metaboloma gerado durante a produção de leites fermentados naturais e fortificados com bagaço de laranja (fonte de minerais) ou polpa de buriti (fonte de carotenoides). E, posteriormente, avaliar o impacto desta adição em efeitos relacionados à saúde e na bioacessibilidade de carotenoides provitamina A e cálcio. A cepa probiótica de *L. acidophilus* DSM 13241 foi separadamente pré-submetida às condições de estresse ácido, oxidativo e osmótico, sendo posteriormente inoculada ao leite, em mono ou co-cultura com *Streptococcus thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, para a fabricação dos leites fermentados e iogurtes naturais ou fortificados. A cinética de crescimento e viabilidade das culturas utilizadas foram avaliadas durante o processamento e vida de prateleira dos produtos fabricados. A composição de metabólitos voláteis foi avaliada por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS). A composição de metabólitos não voláteis foi avaliada por Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A bioacessibilidade de cálcio e carotenoides foi inicialmente avaliada por ensaios *in vitro* simulando respectivamente a diálise e micelização destes compostos. E, a bioacessibilidade de carotenoides provitamina A e cálcio e o impacto dos produtos fermentados fortificados na atividade do sistema antioxidante endógeno, expressão de proteínas endógenas de resposta ao estresse (HSPs), composição da microbiota fecal e saúde óssea foram avaliadas através de um ensaio *in vivo* utilizando ratos machos saudáveis da linhagem Wistar (n=6) por um período de 60 dias. Os resultados demonstraram que a pré-submissão de *L.*

acidophilus à condições de estresse ácido, oxidativo e osmótico foi responsável por alterar a taxa de multiplicação, o tempo de fase lag e em alguns casos a viabilidade das culturas probiótica e *starter*. A utilização da cultura “estressada” impactou na produção de compostos voláteis e na bioacessibilidade de cálcio e carotenoides dos produtos avaliados. Além disso, o ensaio *in vivo* demonstrou que o consumo de produtos fermentados fortificados aumentou a absorção de vitamina A, expressão de HSPs e atividade do sistema antioxidante endógeno; além de em alguns casos modificar a abundância relativa de determinados gêneros presentes na microbiota fecal, aumentar a produção de ácidos graxos de cadeia curta e reduzir a concentração de lipopolissacarídeo no sangue. Desta maneira, os resultados do presente estudo demonstram novos achados com relação à aplicação de micro-organismos probióticos submetidos à condições de estresse em produtos fermentados naturais e fortificados aumentando a compreensão dos impactos decorrentes de sua utilização tanto nas características relacionadas ao processo e produto como no que diz respeito ao seu valor nutricional e terapêutico.

Palavras-chave: Probióticos, *Lactobacillus acidophilus*, Produtos lácteos fermentados, Metabolômica, Bioacessibilidade.

ABSTRACT

Fermented dairy products are widely consumed foods and are characterized as one of the main vehicles for the addition of probiotics. In recent years, a pre-submission or pre-cultivation of probiotics to stress conditions has been shown to be an effective practice in increasing the viability of these microorganisms during fermentation and drying processes. Although the application of pre-cultured probiotics to stress conditions in natural yogurts has been related to a change in the metabolome of these microorganisms, there are still no studies that demonstrate the impact of “stressed” or “adapted” probiotic cultures in nutritional aspects (such as in the bioaccessibility of vitamins and minerals) of natural or fortified fermented milk and yogurts. Given the above, the objective of this work was to study the effect of pre-submission of *Lactobacillus acidophilus* to stress conditions on growth kinetics, viability and metabolome generated during the production of natural fermented milks and fortified with orange by-product (source of minerals) or buriti pulp (source of carotenoids). And, later, to evaluate the impact of this addition on health-related effects and on the bioaccessibility of carotenoids provitamin A and calcium. The probiotic strain of *L. acidophilus* DSM 13241 was pre-submitted to oxidative, acid, and osmotic stress conditions, being subsequently inoculated into milk, in mono or co-culture with *Streptococcus thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, for the manufacture of natural or fortified fermented milk and yogurts. The growth kinetics and viability of the cultures used were evaluated during the processing and shelf life of the manufactured products. The composition of volatile metabolites was evaluated by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (GC-MS). The composition of non-volatile metabolites was evaluated by Nuclear Magnetic Resonance (NMR). The bioaccessibility of calcium and carotenoids was assessed by *in vitro* tests simulating, respectively, the dialysis and micellization of these compounds. And the bioaccessibility of carotenoids provitamin A and calcium and the impact of fortified fermented products on the activity of the endogenous antioxidant system, expression of endogenous stress response proteins (HSPs), composition of the fecal microbiota, and bone health were performed through an *in vivo* assay using healthy male Wistar rats (n = 6) for 60 days. The results demonstrated that the pre-submission of *L. acidophilus* to acid, oxidative, and osmotic stress conditions was responsible for altering the multiplication rate, the lag phase time, and in some cases the viability of

the probiotic and starter cultures. The use of the "stressed" culture had an impact on the production of volatile compounds and on the bioaccessibility of calcium and carotenoids in the evaluated products. Furthermore, the *in vivo* test demonstrated that the consumption of fortified fermented products increased the absorption of vitamin A, expression of HSPs, and activity of the endogenous antioxidant system; besides, in some cases, modifying the relative abundance of certain genera present in the fecal microbiota, increasing the production of short-chain fatty acids and reducing the lipopolysaccharide blood content. In this way, the results of the present study demonstrate new findings regarding the application of probiotic microorganisms subjected to stress conditions in natural and fortified fermented products, increasing the understanding of the impacts resulting from their use, both in the characteristics related to the process and product and in the regards its nutritional and therapeutic value.

Keywords: Probiotics, *Lactobacillus acidophilus*, Fermented dairy products, Metabolomics, Bioaccessibility.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	19
REVISÃO DA LITERATURA	23
1 PROBIÓTICOS.....	23
1.1 Benefícios à saúde associados ao consumo de probióticos	24
2 DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS: UM ENFOQUE ESPECIAL ÀS DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS DE MAIOR RELEVÂNCIA NO BRASIL.....	25
3 ALIMENTOS PROBIÓTICOS, PRODUÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E AUMENTO DA BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES.....	28
4 ESTRESSE MICROBIANO E SEU POTENCIAL PARA AUMENTAR A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E BIODISPONIBILIDADE DE VITAMINAS E MINERAIS.....	29
5 FRUTAS E SEUS RESÍDUOS COMO POTENCIAIS FONTES DE VITAMINAS E MINERAIS PARA MELHORIA DA SAÚDE HUMANA.....	30
6 METABOLÔMICA	32
7 REFERÊNCIAS.....	33
CAPÍTULO 1: Impact of stress pre-exposure on growth and viability of <i>Lactobacillus acidophilus</i> in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products ...	44
1 INTRODUCTION	47
2 MATERIAL AND METHODS	49
2.1 Pre-processing of raw material.....	49
2.2 Microbial cultures	50
2.3 Determination of sublethal stress conditions	51
2.4 Production of yoghurts and fermented milks using <i>L. acidophilus</i> , orange by-product or buriti pulp.....	52
2.4.1 Set up of starter and probiotic cultures	52
2.4.2 Production of yoghurts and fermented milks.....	53
2.5 Titratable acidity, pH and bacterial counts.....	54
2.6 Determination of kinetic parameters of growth of starter and probiotic cultures.....	54
2.7 Shelf-life	55
2.8 Statistical analyses.....	55
3 RESULTS.....	56

3.1	Acidification profile, lactic acid production and bacterial growth parameters during the fermentation process	56
3.2	Post acidification profile, lactic acid production and viability throughout storage	62
4	DISCUSSION	63
5	CONCLUSION.....	70
6	ACKNOWLEDGMENT	70
7	REFERENCES	71
8	FIGURES.....	79
9	TABLES	83
10	SUPPLEMENTARY DATA	91
CAPÍTULO 2: <i>Lactobacillus acidophilus</i> submetido à diferentes condições de estresse impacta na produção de metabólitos voláteis e bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em lácteos fermentados.....		
1	INTRODUÇÃO	96
2	MATERIAL E MÉTODOS	100
2.1	Produção de iogurtes e leites fermentados	100
2.1.1	Escolha das condições subletais de estresse.....	100
2.1.2	Preparo das culturas probiótica e starter	100
2.1.3	Fermentação	100
2.2	Produção de compostos voláteis.....	101
2.2.1	Avaliação dos perfis de compostos voláteis	103
2.3	Produção de compostos não voláteis.....	103
2.3.1	Análise multivariada do conjunto de dados de RMN 1H	105
2.4	Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de cálcio	106
2.5	Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de carotenoides.....	108
2.6	Análises Estatísticas	111
3	RESULTADOS	111
3.1	Produção de compostos voláteis.....	111
3.1.1	Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes naturais.....	113
3.1.2	Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes contendo polpa de buriti.....	115
3.1.3	Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes contendo bagaço de laranja.....	117

3.2	Produção de compostos não voláteis.....	119
3.2.1	<i>Composição Orgânica dos iogurtes por RMN.....</i>	119
3.2.2	<i>Perfilamento não direcionado</i>	120
3.2.3	<i>Avaliação geral.....</i>	121
3.2.4	<i>Avaliação da PCA dos produtos classificados como naturais</i>	121
3.2.5	<i>Avaliação da PCA dos produtos acrescidos de bagaço de laranja</i>	122
3.2.6	<i>Avaliação da PCA dos produtos acrescidos de polpa de buriti</i>	122
3.3	Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de cálcio	123
3.4	Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de carotenoides.....	124
4	DISCUSSÃO	126
5	CONCLUSÃO.....	145
6	AGRADECIMENTOS	146
7	REFERÊNCIAS	147
8	FIGURAS.....	167
9	TABELAS.....	179
10	MATERIAL SUPLEMENTAR	184
CAPÍTULO 3: O consumo de iogurtes contendo polpa de buriti e leites fermentados contendo bagaço de laranja aumenta a resposta do sistema endógeno antioxidante e a expressão de proteínas de choque térmico de ratos saudáveis.....		
1	INTRODUÇÃO	197
2	MATERIAL E MÉTODOS	200
2.1	Animais e dieta.....	200
2.2	Produção de iogurtes e leites fermentados	201
2.3	Amostras biológicas	202
2.4	Análise das defesas antioxidantes dos tecidos	202
2.4.1	<i>Sistemas antioxidantes endógenos enzimático e não enzimático (marcadores antioxidantes).....</i>	202
2.5	Western blot	205
2.6	Retinol e β -caroteno.....	207
2.7	Análises estatísticas.....	207
3	RESULTADOS	207
3.1	Peso corporal e ingestão de alimentos	207
3.2	Status antioxidante do plasma e fígado	208
3.3	Proteínas de choque térmico (HSPs)	210

3.4	Retinol e β -caroteno	212
4	DISCUSSÃO	212
5	CONCLUSÃO.....	224
6	AGRADECIMENTOS	224
7	REFERÊNCIAS	224
8	FIGURAS.....	240
9	TABELAS.....	250
10	DADOS SUPLEMENTARES	252
CAPÍTULO 4: Impacto do consumo de polpa de buriti, bagaço de laranja e produtos lácteos fermentados derivados na composição da comunidade bacteriana fecal e saúde óssea de ratos Wistar saudáveis.....		
1	INTRODUÇÃO	257
2	MATERIAL E MÉTODOS	260
2.1	Animais e dieta.....	260
2.2	Iogurtes e leites fermentados	261
2.3	Amostras biológicas	261
2.4	Minerais.....	262
2.5	Densitometria óssea.....	263
2.6	Propriedades biomecânicas	264
2.7	Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	265
2.8	LPS	267
2.9	Composição da comunidade bacteriana fecal.....	267
2.9.1	<i>Análise de dados de bioinformática.....</i>	<i>268</i>
2.10	Análises estatísticas.....	269
3	RESULTADOS	270
3.1	Consumo da dieta e ganho de peso.....	270
3.2	Minerais.....	270
3.3	Densitometria óssea.....	272
3.4	Propriedades biomecânicas	272
3.5	Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).....	273
3.6	LPS	274
3.7	Comunidade bacteriana fecal utilizando 16s RNA metabarcoding.....	275
4	DISCUSSÃO	278
5	CONCLUSÃO.....	288

6	AGRADECIMENTOS	289
7	REFERÊNCIAS	289
8	FIGURAS.....	306
9	TABELAS.....	318
10	DADOS SUPLEMENTARES	322
	DISCUSSÃO GERAL	325
	CONCLUSÕES GERAIS	331
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	333
	ANEXO 1.....	396
	ANEXO 2.....	397

INTRODUÇÃO GERAL

Probióticos são comumente classificados pela literatura como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (HILL *et al.*, 2014). Desta maneira, compreende-se que a viabilidade e a quantidade destes micro-organismos são fatores determinantes para a sua funcionalidade, devendo assim ser preservados durante todo o processamento e armazenamento dos produtos a que forem veiculados (LAHTINEN, 2012; TERPOU *et al.*, 2019). Vários alimentos podem ser utilizados para veicular culturas probióticas, porém preza-se a importância de veiculá-las através de alimentos conhecidos e difundidos pela população. Leites fermentados e iogurtes são considerados boas matrizes para veicular probióticos devido a sua associação a uma escolha saudável pelos consumidores e ao sucesso comercial atribuído a estes alimentos, os quais têm sido há muito tempo associados à promoção de boa saúde (AWAISHEH, 2012; GRANATO *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2014; STANTON *et al.*, 2005). Apesar disso, sabe-se também que alguns vieses como a alta concentração de ácidos orgânicos (lático), a presença de oxigênio, o baixo pH e, a presença de compostos inibitórios como peróxido de hidrogênio produzidos por culturas adjuntas ou *starters* podem impactar na viabilidade destes micro-organismos em produtos lácteos fermentados (ELIZABETH; YEUNG; TONG, 2011; MANI-LÓPEZ; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2014; MEYBODI *et al.*, 2020; SENDRA *et al.*, 2016).

A utilização da pré-exposição ou pré-cultivo de micro-organismos probióticos às condições de estresse como prática para o aumento da viabilidade destas culturas em produtos fermentados é uma técnica já conhecida e aplicada em diversas pesquisas (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016; SHAH, 2000; TERPOU *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019). No entanto, sabe-se que a exposição ou adaptação a determinadas condições de estresse têm a capacidade de impactar no metabolismo dos micro-organismos utilizados, influenciando na produção de metabólitos não voláteis e voláteis, podendo desta maneira, alterar as características organolépticas e bioquímicas destes produtos (SERRAZANETTI *et al.*, 2009; SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016).

Na atualidade, existe uma grande preocupação com a questão ambiental e de sustentabilidade no uso de recursos da biodiversidade. Esta preocupação se estende não somente ao consumo, mas também à produção de alimentos (ACCORSI,

2018; GARNETT, 2013; NIESENBAUM, 2019). A geração de altas quantidades de resíduos advindos do processamento de alimentos é uma grande preocupação da indústria de alimentos e da sociedade (HELKAR; SAHOO; PATIL, 2016; KROYER, 1995; TORRES-LEÓN *et al.*, 2018). Por este motivo, existe um intenso interesse no reaproveitamento dos resíduos agroindustriais e do seu uso na geração de ingredientes e matérias-primas de valor agregado (COUTO, 2008; HELKAR; SAHOO; PATIL, 2016; IRIONDO-DEHOND; MIGUEL; DEL CASTILLO, 2018). Neste contexto, o Brasil e particularmente o estado de São Paulo tem grande relevância no que concerne à geração de resíduos oriundos da indústria de processamento de frutos cítricos (BARBOSA; RUVIARO; MACEDO, 2018; BARROS; BARROS; CYPRIANO, 2016). Estes resíduos são ricos em compostos bioativos e também em minerais com elevada bioacessibilidade como o cálcio, tornando evidente o seu potencial de reaproveitamento para o enriquecimento e uso na formulação de alimentos (BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012; PACHECO; MORENO; VILLAMIEL, 2019; SILVA *et al.*, 2017a). Além destes resíduos, o estudo das propriedades e potencial de utilização de frutas oriundas de ecossistemas brasileiros, como buriti, rico em carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008), constitui-se em outra estratégia extremamente relevante para contribuir na valorização de um produto nacional, para o desenvolvimento regional e uso consciente da biodiversidade do nosso país.

A fortificação de nutrientes em produtos alimentícios pelo acréscimo de alimentos naturais como frutas e derivados é uma prática bem-vista, eficaz e interessante no sentido de reduzir possíveis efeitos colaterais derivados do consumo de nutrientes ou suplementos nutricionais sintéticos ou naturais (GAHRUIE *et al.*, 2015; HAMISHEHKAR *et al.*, 2016; KIOUKIA-FOUGIA *et al.*, 2016; NESTLE, 2013). Além disso, sabe-se que o consumo de alimentos fortificados é reconhecido pelo seu potencial na redução de deficiências nutricionais em países subdesenvolvidos e desenvolvidos (GAHRUIE *et al.*, 2015; TULCHINSKY, 2010; WHO/FAO, 2006b). As deficiências em micronutrientes, por exemplo, chegam a afetar 2 bilhões de pessoas no mundo (BAILEY; WEST; BLACK, 2015; DARNTON-HILL, 2018; WHO/FAO, 2006b). E, dentre uma de suas formas mais comuns pode-se mencionar a deficiência em vitamina A que chega a afetar 19,1 milhões de grávidas e 190 milhões de crianças (DARNTON-HILL, 2018; ROSS; HARRISON, 2007; WHO, 2009). Da mesma maneira, outros tipos de deficiências nutricionais como as decorrentes do processo de

envelhecimento, como a osteoporose (decorrente da deficiência em cálcio), também atingem grande parte da população, chegando a afetar mundialmente 200 milhões de pessoas (BRONDANI *et al.*, 2019; KANIS *et al.*, 2013; RACHNER; KHOSLA; HOFBAUER, 2011; RIZZOLI, 2018). Nesse sentido, a fortificação de produtos lácteos fermentados vêm sendo uma estratégia interessante principalmente por serem alimentos nutricionalmente importantes e mundialmente conhecidos (GAHRUIE *et al.*, 2015; GAHRUIE; ESKANDARI; MESBAHI, 2019; LI; DING; ZHAO, 2019).

A fermentação é um processo reconhecido por impactar positivamente na qualidade nutricional de algumas matrizes, podendo reduzir fatores antinutricionais, aumentando a bioacessibilidade de nutrientes; e, impactar na geração de compostos bioativos pela transformação de componentes presentes nos alimentos (AHMED *et al.*, 2020; KÅRLUND *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020; SRIVASTAVA, 2018; TANGYU *et al.*, 2019). Sabe-se também que a fermentação de matrizes lácteas e não lácteas por determinados tipos de micro-organismos probióticos pode estar associada tanto com a produção de compostos bioativos como com o aumento da bioacessibilidade de alguns componentes presentes nestes alimentos (BERGILLOS-MECA *et al.*, 2013; GANDHI; SHAH, 2014; HAYES *et al.*, 2006; LAMBERT *et al.*, 2017; PIHLANTO; VIRTANEN; KORHONEN, 2010; TANG *et al.*, 2007; YEO; LIONG, 2010). Apesar disso, a influência de processos fermentativos utilizando probióticos sobre a bioacessibilidade de compostos como carotenoides, por exemplo, é pouco relatada pela literatura. Da mesma maneira, a utilização de culturas probióticas pré-submetidas à condições de estresse na qualidade nutricional de leites fermentados ou iogurtes acrescidos de frutas e seus subprodutos ainda não é conhecida.

Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos da adição de polpas de frutas (buriti) ou subprodutos de frutas (bagaço de laranja) no preparo de leites fermentados e iogurtes probióticos contendo *Lactobacillus acidophilus* padrão ou pré-submetido à condições de estresse sobre a alteração do seu metaboloma e crescimento durante o processo de fermentação. E, posteriormente, avaliar o impacto desta alteração nas características funcionais e nutricionais destes produtos, visando avaliar seus potenciais efeitos benéficos à saúde assim como, a bioacessibilidade de carotenoides provitamina A e cálcio. Neste sentido, os objetivos específicos do presente trabalho visaram:

(I) Avaliar a influência da pré-exposição à condições de estresse (ácido, osmótico e oxidativo) nos parâmetros de crescimento e viabilidade de *L. acidophilus*

em leites fermentados e iogurtes naturais, contendo resíduos industriais (bagaço de laranja) ou polpa de frutas (buriti);

(II) Avaliar o impacto da fermentação com *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) na modificação de compostos voláteis e não voláteis e na bioacessibilidade de cálcio (bagaço de laranja) e carotenoides (polpa de buriti) em leites fermentados e iogurtes fortificados com produtos naturais;

(III) Avaliar o impacto do consumo de dois tipos de produtos lácteos fermentados contendo polpa de buriti (iogurte) e bagaço de laranja (leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ou não ao estresse oxidativo) no conteúdo de retinol sérico, no sistema endógeno antioxidante e na expressão de proteínas endógenas de resposta ao estresse (proteínas de choque térmico) em ratos Wistar saudáveis;

(IV) Avaliar o impacto do consumo de frutas (buriti), subproduto de frutas (bagaço de laranja) e produtos lácteos fermentados probióticos (contendo *L. acidophilus* padrão ou submetido ao estresse oxidativo) fortificados por estas duas matrizes nos parâmetros relacionados à saúde óssea e intestinal de ratos Wistar em crescimento.

REVISÃO DA LITERATURA

1 PROBIÓTICOS

Probióticos são “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (HILL *et al.*, 2014). Estes micro-organismos devem ser capazes de atingir e colonizar o trato digestório, sobrevivendo a passagem pelo trato gastrointestinal e à exposição a sucos gástricos e bile (FERNÁNDEZ *et al.*, 2015). Sendo necessário portanto, que os probióticos se encontrem viáveis. A viabilidade destes micro-organismos está relacionada a diversos fatores, tanto do tipo e características da cepa selecionada como do veículo alimentício ao qual o probiótico é aplicado. Tal escolha visa garantir a sobrevivência destes micro-organismos tanto durante o processamento e armazenamento da matriz escolhida quanto após a passagem pelo trato gastrointestinal do indivíduo (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008; RANADHEERA *et al.*, 2012). Além disso, é sugerido por alguns autores que o consumo de probióticos em alimentos siga concentrações mínimas de 10^{6-7} UFC/g ou mL para que estes micro-organismos possam atribuir benefícios à saúde do hospedeiro; contagem esta que deve permanecer durante toda a vida útil do produto (RAMCHANDRAN; SHAH, 2010; VASILJEVIC; SHAH, 2008).

No Brasil, a utilização de probióticos em alimentos é regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de acordo com os requisitos dispostos na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 241/2018 (BRASIL, 2018). Segundo esta resolução, a comprovação da segurança e dos benefícios à saúde dos probióticos em alimentos devem ser realizadas mediante protocolo de petição de avaliação de segurança e eficácia. Desta maneira, as alegações de propriedades funcionais ou de saúde devem seguir as especificações atualmente descritas em detalhes pelo “Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos” (ANVISA, 2021). Onde, as alegações devem obrigatoriamente ser comprovadas conforme a dose mínima a ser ingerida daquele micro-organismo em determinado alimento, de acordo com a sua população alvo, além de comprovações necessárias sobre a identidade inequívoca (linhagem) e segurança dos micro-organismos propostos.

Dentre os gêneros de micro-organismos conhecidos/utilizados como probióticos encontram-se: *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei*¹, *Lacticaseibacillus paracasei*¹, *Lacticaseibacillus rhamnosus*¹, *Lactobacillus crispatus*, *Latilactobacillus curvatus*¹, *Lactobacillus delbrueckii*, *Companilactobacillus farciminis*¹, *Limosilactobacillus fermentum*¹, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactiplantibacillus plantarum*¹, *Limosilactobacillus reuteri*¹, *Bifidobacterium bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. thermophilum*, *Enterococcus faecium*, *Lactococcus lactis*, *Leuconstoc mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus*, *S. diacetylactis*, *S. intermedius*, *Escherichia coli* strain Nissle, *Saccharomyces cerevisiae*, e, *Saccharomyces boulardii* (ALVAREZ-OLMOS; OBERHELMAN, 2001; SAAD et al., 2013).

¹ Nova reclassificação do gênero *Lactobacillus* conforme o descrito por Zheng e colaboradores (2020).

1.1 Benefícios à saúde associados ao consumo de probióticos

Numerosos efeitos benéficos têm sido atribuídos ao consumo de probióticos. Os benefícios associados ao consumo dos probióticos se relacionam com a sua interação com a microbiota encontrada no cólon e/ou com células imunocompetentes da mucosa intestinal (GUARNER; MALAGELADA, 2003). Devido a essa interação, os probióticos são capazes de excluir ou controlar a quantidade de patógenos no trato gastrointestinal através de mecanismos como: produção de substâncias antimicrobianas (ALVAREZ-OLMOS; OBERHELMAN, 2001); competição por nutrientes e sítios de adesão (GIBSON; MCCARTNEY; RASTALL, 2005); e modulação do sistema imune (FERNÁNDEZ et al., 2015). As substâncias antimicrobianas produzidas incluem ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, ácidos graxos, etanol, compostos antifúngicos, diacetil, acetoína, e bacteriocinas (REIS et al., 2012). As bacteriocinas são pequenos peptídeos produzidos por bactérias que possuem ação antimicrobiana, e que podem ser introduzidos em alimentos fermentados através das bactérias lácticas (COTTER; HILL; ROSS, 2005; PENNA et al., 2014).

Entre os benefícios associados ao consumo de probióticos encontram-se: prevenção ou alívio dos sintomas de diarreia viral ou bacteriana (DE VRESE; MARTEAU, 2007); redução do colesterol LDL (BUKOWSKA et al., 1998); prevenção de câncer e úlceras estomacais (MASOOD et al., 2011); modulação do sistema imune

(ZHANG *et al.*, 2005); tratamento e prevenção de eczema (KUKKONEN *et al.*, 2007); prevenção de diarreia associada a antibióticos e infecção por *Clostridium difficile* (GAO *et al.*, 2010); tratamento de doenças inflamatórias intestinais (ENCK *et al.*, 2009; NG *et al.*, 2009) como enterocolite necrozante (LIN *et al.*, 2008); encurtamento da duração de diarreia aguda ocasionada por rotavírus (ROSENFELDT *et al.*, 2002); e, remissão de colite ulcerativa (MATTHES *et al.*, 2010).

Micro-organismos probióticos, como bactérias lácticas, também são capazes de produzir outros tipos de compostos que promovem benefícios à saúde, como peptídeos bioativos, exopolissacarídeos (EPS) e vitaminas (PENNA *et al.*, 2014).

2 DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS: UM ENFOQUE ESPECIAL ÀS DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS DE MAIOR RELEVÂNCIA NO BRASIL

A subnutrição ou deficiência em micronutrientes é um problema socioeconômico e de saúde pública mundialmente importante (TULCHINSKY, 2010). É conhecido por afetar pessoas em todas as faixas etárias, tendo maior impacto em grupos populacionais mais vulneráveis como mulheres, crianças, pessoas de meia idade e idosos (TULCHINSKY, 2010; WHO/FAO, 2006a).

Dentre as formas mais comuns da subnutrição em micronutrientes encontra-se a deficiência em vitamina A, que em conjunto com as deficiências em ferro e iodo atingem cerca de um terço da população mundial; como pode ser observado na tabela 1. A preocupação despendida à subnutrição de micronutrientes não se relaciona com a grande quantidade de pessoas que são atingidas e, sim, por ser um fator de risco para várias doenças, contribuindo para o aumento de taxas de mortalidade e morbidade (WHO/FAO, 2006a).

Tabela 1: Prevalência das três principais deficiências de micronutrientes por região da OMS.

Região	Anemia ^a (população total)		Insuficiência na ingestão de iodo ^b (população total)		Deficiência em Vitamina A ^c (crianças pré-escolares)	
	Nº (milhões)	% do total	Nº (milhões)	% do total	Nº (milhões)	% do total
África	244	46	260	43	53	49
Américas	141	19	75	10	16	20
Sudeste Asiático	779	57	624	40	127	69
Europa	84	10	436	57	Dado indisponível	
Sudeste Mediterrâneo	184	45	229	54	16	22
Oriental Pacífico	598	38	365	24	42	27
Ocidental						
Total	2030	37	1989	35	254	42

Legenda: ^a baseado na proporção da população com concentrações de hemoglobinas abaixo dos níveis de corte pré-estabelecidos. ^b baseado na proporção da população com níveis urinários de iodo <100µg/L. ^c baseado na proporção da população com sinais oculares clínicos e retinol sérico <0,70molg/L. **Fonte:**(WHO/FAO, 2006a).

A deficiência em vitamina A ainda é considerada um dos problemas nutricionais mais resistentes em países em desenvolvimento (BRASIL, 2007), podendo levar a problemas como cegueira e comprometimento do sistema imunológico (ROSS; HARRISON, 2007). Além disso, estima-se que por ano, 5 a 10 milhões de crianças no mundo desenvolvem xeroftalmia e que 190 a 240 milhões estejam em risco de contrair a deficiência em vitamina A subcl clinicamente (SOMMER; WEST, 1996). No Brasil, a deficiência em vitamina A atinge em maior proporção as regiões Norte, Nordeste e Sudeste. Dentre essas regiões a população infantil do Nordeste é a mais vulnerável devido aos altos índices de deficiência encontrados, que atingem cerca de 16 a 55% dessa população (MILAGRES; NUNES; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007). Estudos isolados apresentam valores similares ou maiores, conforme apresentado na tabela 2.

Tabela 2: Prevalência da deficiência em vitamina A em regiões do Brasil.

Estado	Faixa etária	Prevalência/Nº de pessoas avaliadas	Indicadores (Nível de Retinol Sérico)	Ano
São Paulo	3 a 10 anos	17,6% (131)	0,35 a 0,70 µmol/L	1995
	6 a 24 meses	21,4% (103)	<0,70 µmol/L	2000
	10 a 19 anos	10,0% 30,0% (218)	<0,70 µmol/L <1,05 µmol/L	2004
	4 a 14 anos	21,0% (47)	1,05 µmol/L	2002
Minas Gerais	6 a 14 anos	29,0% (241)	<0,20 µg/dL	2005
Bahia	6 a 72 meses	44,7% (61)	<0,20 µg/dL	1995
	Pré-escolares	15,3% (563)	<0,10 µg/dL	1996
Sergipe	6 a 60 meses	22,5% 9,6% (607)	0,35 a 0,69 µmol/L <0,35 µmol/L	2004
Recife	< 5 anos	7,0% (311)	<0,70 µmol/L	2005
Rio de Janeiro	Pré-escolares	34,3% (175)	<1,05 µmol/L	2001
	7 a 17 anos	10,28% (574)	<1,05 µmol/L	2004
Amazonas	2 a 5 anos	25,0% 75,0% (48)	>50,0 µg/dL 20,0 a 29,9 µg/dL	2002

Fonte: Adaptado (MILAGRES; NUNES; PINHEIRO-SANT'ANA, 2007).

A deficiência em cálcio está interligada com o desenvolvimento da osteoporose e é uma carência difícil de ser determinada devido à ausência de sintomas, principalmente quando relacionado a progressão da doença. A osteoporose é um distúrbio caracterizado pela predisposição à fratura óssea de indivíduos, através da redução de massa óssea a níveis críticos (SARDESAI, 2003). Estima-se que nos Estados Unidos, em 2010, cerca de 10,2 milhões de adultos acima dos 50 anos de idade possuíam osteoporose e 43,4 milhões apresentavam baixo conteúdo mineral ósseo (WRIGHT *et al.*, 2014). Já no Brasil, supõe-se que a porcentagem de indivíduos que possuem osteoporose, mensuradas pela presença de fraturas por baixo impacto, em idade acima de 40 anos varia de 12,2 a 21,8% (PINHEIRO *et al.*, 2010; ZERBINI *et al.*, 2015).

Sabe-se que a deficiência de nutrientes como a vitamina A e o cálcio podem levar a danos como depressão, fadiga, mal de Alzheimer, problemas no fígado, osteoporose, problemas no sistema nervoso, etc. (PATEL; SHAH; PRAJAPATI, 2013).

Dentre os métodos mais comuns utilizados como forma de amenizar o problema de subnutrição de micronutrientes encontram-se propostas de enriquecimento/fortificação de alimentos e produtos industriais. Essa medida tende a ter uma resposta menos imediata quando comparada à suplementação de nutrientes, porém, possui um impacto mais amplo e sustentado (WHO/FAO, 2006a). A fortificação de nutrientes essenciais em alimentos processados é considerada necessária para a melhoria da aptidão na nutrição humana, principalmente quando se trata de países em desenvolvimento (TULCHINSKY, 2010). Além disso, recentemente uma prática de fortificação de alimentos utilizando como fortificantes fontes naturais, como alimentos contendo alto teor dos micronutrientes de interesse, têm ganhado atenção pela literatura (CHADARE *et al.*, 2019; KRUGER *et al.*, 2020). Esta prática também conhecida como fortificação de alimento para alimento (*food-to-food fortification*) pode ser caracterizada como uma abordagem que usa um recurso alimentar local interessante (fonte de micronutrientes), disponível e acessível (podendo derivar de plantas ou animais), para fortificar outro alimento (CHADARE *et al.*, 2019; UVERE; ONYEKWERE; NGODDY, 2010).

3 ALIMENTOS PROBIÓTICOS, PRODUÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E AUMENTO DA BIODISPONIBILIDADE DE NUTRIENTES

Sabe-se que o consumo de alimentos probióticos pode resultar em um aumento da biodisponibilidade de vitaminas e minerais (BERGILLOS-MECA *et al.*, 2013; PATEL; SHAH; PRAJAPATI, 2013).

A alegação de benefícios à saúde atribuídos a alimentos funcionais fermentados pode ser expressa pela interação da ingestão direta do micro-organismo vivo no intestino (efeito probiótico). No entanto, esta alegação pode também ser feita através da ingestão indireta de metabólitos produzidos por micro-organismos durante o processo fermentativo *in vivo* (efeito biogênico) (TAKANO, 2002). O aumento da biodisponibilidade de minerais pelos probióticos pode relacionar-se à fatores de redução de agentes inibidores como fitatos, através da produção da enzima fitase por alguns micro-organismos (REKHA; VIJAYALAKSHMI, 2010). Além disso, a produção de ácidos graxos de cadeia curta, peptídeos bioativos, exopolissacarídeos e a biodisponibilidade de algumas vitaminas como a vitamina D podem também influir no aumento da absorção de minerais, como o cálcio (GHANEM; BADAWEY; ABDEL-

SALAM, 2004; KAUSHIK *et al.*, 2014). A formação de peptídeos bioativos pode resultar em efeitos anti-hipertensivo, imunoregulatório, antidiabético, antioxidativo, antiobesidade, hipocolesterolêmico e efeitos anti-cancerígenos (SINGH; VIJ; HATI, 2014). Além disso, outros benefícios a saúde também vêm sendo atribuídos a possíveis compostos bioativos gerados por micro-organismos, onde podemos citar: o potencial de atividade antitumoral de exopolissacarídeos produzidos por *Lactiplantibacillus plantarum* (WANG *et al.*, 2014). A promoção de relaxamento de células endoteliais vasculares pela transformação de isoflavonas em sua forma aglicona (composto mais biodisponível) por *L. plantarum* ou *S. thermophilus* (CHENG *et al.*, 2013). As propriedades antiinflamatórias, antiaterogênicas e antioxidantes obtidas pelo aumento da concentração de ácidos linolêicos conjugados por diferentes tipos de bactérias lácticas (CHINNADURAI *et al.*, 2013; MACOUZET; LEE; ROBERT, 2009; PENEDO *et al.*, 2013); dentre outros.

Além dos compostos anteriormente mencionados, as bactérias lácticas possuem a capacidade de sintetizar alguns tipos de vitaminas solúveis, principalmente as do grupo B como riboflavina, ácido fólico e biotina (PATEL; SHAH; PRAJAPATI, 2013; REKHA; VIJAYALAKSHMI, 2010). Dentre essas vitaminas, alguns estudos citam a produção de folato (ácido fólico) na fermentação de leite desnatado por *Bifidobacterium animalis* e *Bifidobacterium lactis* (CRITTENDEN; MARTINEZ; PLAYNE, 2003).

4 ESTRESSE MICROBIANO E SEU POTENCIAL PARA AUMENTAR A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E BIODISPONIBILIDADE DE VITAMINAS E MINERAIS

O estresse microbiano pode ser definido como uma alteração no proteoma, genoma ou ambiente que resulte em uma redução na taxa de sobrevivência ou crescimento de um micro-organismo (SUGIMOTO; AL-MAHIN; SONOMOTO, 2008; YOUSEF; COURTNEY, 2003). As respostas ao estresse são muito importantes para micro-organismos que experimentam mudanças ambientais contínuas como disponibilidade de nutrientes e água, temperatura e pressão osmótica (FRANZ; HOLZAPFEL, 2011).

Os fatores de estresse podem ser de natureza biológica, química ou física, sendo alguns de origem ambiental como temperatura, pH, pressão osmótica,

concentração de etanol, oxigênio disponível, presença de antimicrobianos ou bile. Enquanto outros podem ser auto-gerados como baixa disponibilidade de nutrientes, acidez e geração de espécies reativas de oxigênio (FRANZ; HOLZAPFEL, 2011; VAN DE GUCHTE *et al.*, 2002b).

A tolerância ao estresse via exposição prévia a níveis sub-letais é uma estratégia utilizada para aumentar a sobrevivência de micro-organismos em ambientes hostis. Além disso, a resposta *cross-stress* (proteção a um estresse decorrente da exposição anterior a outro tipo de estresse) que pode ser obtida a partir desta exposição também possui grande importância na proteção de um micro-organismo quando submetido a condições de estresse (MAUS; INGHAM, 2003).

A relação do estresse microbiano ou aplicação de micro-organismos probióticos pré-submetidos às condições de estresse na geração de compostos bioativos e biodisponibilidade de vitaminas e minerais em alimentos ainda não é relatada pela literatura. No entanto, alguns autores citam a aplicação de micro-organismos probióticos expostos a condições de estresse na modificação/produção de metabólitos e compostos bioativos, como exopolissacarídeos (SERRAZANETTI *et al.*, 2013a); observando ser uma estratégia interessante para identificar a influência da modificação de metabólitos na qualidade sensorial de alimentos, como iogurtes (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015). Desta maneira, essa estratégia tecnológica pode ser interessante no que diz respeito: ao aumento de efeitos benéficos atribuídos à saúde dos consumidores, devido à presença de compostos bioativos; e na elucidação da relação da exposição dos probióticos às condições de estresse e modificação na biodisponibilidade de vitaminas e minerais, tipo de estudo inexistente até o momento.

5 FRUTAS E SEUS RESÍDUOS COMO POTENCIAIS FONTES DE VITAMINAS E MINERAIS PARA MELHORIA DA SAÚDE HUMANA

Frutas e legumes são consideradas as principais fontes de carotenoides, que devido à sua atividade convertida em vitamina A desempenham um papel muito importante na dieta. No mundo, cerca de 70% da vitamina A consumida provém de fontes vegetais (HASKELL, 2013). Os carotenoides possuem papel importante na prevenção de doenças crônicas, melhora na função imune e têm grande importância na fotoproteção ocular (ARSCOTT, 2013). No entanto, nem todos os carotenoides

podem ser convertidos em vitamina A no organismo, o β -caroteno, o α -caroteno e a β -criptoxantina são exemplos de carotenoides precursores da vitamina A. Além disso, estes carotenoides não conseguem ser 100% convertidos em vitamina A no organismo devido a fatores como biodisponibilidade, quantidade ingerida, processamento, estado nutricional, e outros. Dentre as provitaminas A, o β -caroteno é o que possui maior atividade devido a sua estrutura química se assemelhar mais com a estrutura do retinol (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008; SCOTT; RODRIQUEZ-AMAYA, 2000).

Devido ao favorecimento do clima na biossíntese de carotenoides, o Brasil oferece uma grande variedade de fontes desses compostos. Dentre eles, frutas palmáceas como tucumã, bocaiuva, umari (mari) e buriti destacam-se pelo seu alto conteúdo de β -caroteno. O buriti é o produto alimentar brasileiro com o maior teor de β -caroteno conhecido. E por ser originado do fruto de palma possui elevada biodisponibilidade devido a presença de lipídios que auxiliam na absorção intestinal dos carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Além disso, o buriti apresenta elevada atividade de vitamina A contendo valores que variam de 6.489 ± 341 a 7.280 RE/100 g (GODOY; RODRIGUEZ AMAYA, 1994; ROSSO; MERCADANTE, 2007).

Frutas cítricas são consideradas fontes de antioxidantes como compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico (ABEYSINGHE *et al.*, 2007). Além destes compostos, as frutas cítricas apresentam boa concentração (variando de 2,0 a 140,5 mg/100 g) de minerais importantes para a nutrição humana como cálcio, magnésio e potássio (BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012). Em 2010, o consumo mundial de suco, néctar e refresco sabor laranja atingiu um total de 21.219 milhões de litros, girando em torno de 1,5% do total de bebidas (CITRUS BR, 2011). O Brasil é o maior produtor de laranja no mundo, responsável em 2012, pela produção de aproximadamente 18 milhões de toneladas (FAO, 2012). Cerca de 70% dessa produção é destinada à indústria de sucos (NEVES; TROMBIN; MILAN, 2011), podendo gerar um total de 40 a 60% de subprodutos (FERNÁNDEZ-LÓPEZ *et al.*, 2009).

O principal subproduto gerado pela indústria de sucos é a casca, a qual possui teores de cálcio consideráveis variando de $145,2 \pm 6,5$ a $165,4 \pm 7,1$ mg/100 g. Ademais, esse resíduo também possui elevados teores de antioxidantes, vitaminas e outros minerais como potássio, magnésio e ferro; podendo ser desta forma, útil para

suplementação de produtos industrializados (BARROS; FERREIRA; GENOVESE, 2012).

6 METABOLÔMICA

A dificuldade encontrada na identificação e quantificação de compostos bioativos em sistemas *in vivo* e *in vitro* pode relacionar-se com a complexidade do estado dos nutrientes (compostos de metabolização) na matriz alimentar e do metabolismo presente. Através do desenvolvimento de técnicas de metabolômica é possível melhorar a compreensão da dinâmica metabólica em sistemas *in vitro* e *in vivo* (FERNÁNDEZ *et al.*, 2015).

Metodologias conhecidas como ômics (proteômica, genômica, transcriptômica e metabolômica) (Figura 1) têm revolucionado diversos campos do conhecimento científico. Essas técnicas têm como objetivo o entendimento do metabolismo celular como um sistema integrado, e não apenas como informações moleculares diferentes (ZHANG; LI; NIE, 2010).

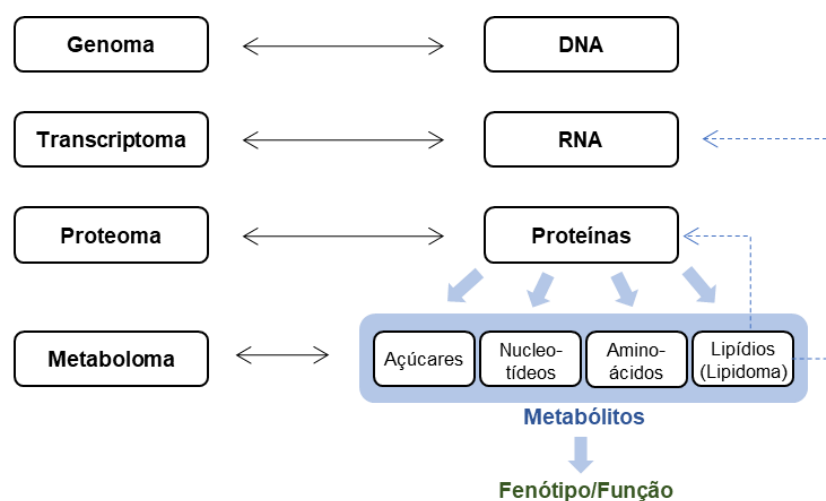


Figura 1: Tipos de ferramentas analíticas utilizadas para estudar a biologia microbiana. Adaptado de <https://www.sciencebasedmedicine.org/woo-omics/>

A metabolômica pode ser definida como tecnologia que permite a identificação e quantificação do metaboloma, ou estudo de processos químicos que envolvem metabólitos (DUNN; ELLIS, 2005; HALL, 2006). O metaboloma representa o conjunto de moléculas de baixo peso molecular presentes em uma célula que participam de processos metabólicos e que são importantes para o crescimento e

manutenção normal de uma célula (DUNN; ELLIS, 2005). Embora o metaboloma de um organismo possa ser facilmente elucidado, não é possível analisá-lo por um único método analítico.

Por isso, a metabolômica pode englobar várias técnicas analíticas como cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS) (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (NMR) (CALVANI *et al.*, 2014; MARTIN *et al.*, 2007), fluorescência induzida por laser (LIF), entre outros. Essa variação se deve ao fato da diversidade dos metabólitos que podem ser encontrados, sendo necessário uma seleção cuidadosa de acordo com os metabólitos ou via metabólica de interesse (ABDELNUR, 2011). Dentre os metabólitos que podem ser encontrados estão: compostos orgânicos de baixo ou alto peso molecular como carboidratos, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos e vitaminas; sendo os de baixo peso molecular divididos em polares e voláteis (etanol e isopreno) e os de alto peso molecular em polares (carboidratos) e não polares (terpenóides e lipídeos) (DUNN; ELLIS, 2005).

Apesar da aplicação da metabolômica em larga escala ser recente, ela possui a capacidade de auxiliar no entendimento global de um sistema biológico. Com isso, a aplicação desse método tem crescido assim como das técnicas de transcriptômica, gênômica e proteômica (DUNN; ELLIS, 2005). Alguns autores citam sua aplicação para identificar os tipos de metabólitos formados através da fermentação de oligossacarídeos de alto e baixo peso molecular, e verificar se o tamanho na molécula influencia nessa produção (SULEK *et al.*, 2014); para compreensão da correlação da microbiota intestinal com o metabolismo de energia no intestino, visando a sua elucidação para o entendimento de doenças metabólicas, obesidade e o papel dos probióticos no organismo (CHUANG *et al.*, 2012); entre outros.

7 REFERÊNCIAS

ABDELNUR, P. V. Metabolômica e espectrometria de massas. **Circular Técnica EMBRAPA**, vol. 10, p. 1–4, 2011. .

ABEYSINGHE, D. C.; LI, X.; SUN, C.; ZHANG, W.; ZHOU, C.; CHEN, K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit

of four species. **Food Chemistry**, vol. 104, no. 4, p. 1338–1344, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.047>.

ALVAREZ-OLMOS, M. I.; OBERHELMAN, R. A. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, vol. 32, p. 1567–1576, 2001. <https://doi.org/10.1086/320518>.

ANVISA. **Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**. Guia nº21/2021 – versão 2. [S. l.]: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2021. Available at: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/Guia+Probioticos+-+CP+459-2017.pdf/9b3a7fc8-4b53-49bb-8612-92c7340896f4>.

ARSCOTT, S. A. Carotenoid sources and metabolism. In: TANUMIHARDJO, S. A.; BENDICH, A. (eds.). **Carotenoids and Human Health**. New York: Springer, 2013. p. 03–19. <https://doi.org/10.10017/978-1-62703--203-2>.

BARROS, H. R. M.; FERREIRA, T. A. P. C.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**, vol. 134, no. 4, p. 1892–1898, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090>.

BERGILLOS-MECA, T.; NAVARRO-ALARCÓN, M.; CABRERA-VIQUE, C.; ARTACHO, R.; OLALLA, M.; GIMÉNEZ, R.; MORENO-MONTORO, M.; RUIZ-BRAVO, A.; LASSERROT, A.; RUIZ-LÓPEZ, M. D. The probiotic bacterial strain *Lactobacillus fermentum* D3 increases in vitro the bioavailability of Ca, P, and Zn in fermented goat milk. **Biological Trace Element Research**, vol. 151, no. 2, p. 307–314, 2013. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9544-0>.

BRASIL. **Carências de micronutrientes**. 1st ed. Brasília: Ministerio da Saúde. Unicef, 2007.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) no 241, de 26 de julho de 2018. 2018. **Diário Oficial da União, publicado em 27/07/2018, edição 144, seção 1, página 97**. Available at: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0241_26_07_2018.pdf. Acessado em: 23 de maio de 2021.

BUKOWSKA, H.; PIECZUL-MROZ, J.; JASTRZEBSKA, M.; CHELSTOWSKI, K.; NARUSZEWICZ, M. Decrease in fibrinogen and LDL-cholesterol levels upon supplementation of diet with *Lactobacillus plantarum* in subjects with

moderately elevated cholesterol. **Atherosclerosis**, vol. 137, no. 2, p. 437–438, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(97\)00283-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(97)00283-9).

CALVANI, R.; BRASILI, E.; PRATICO, G.; SCIUBBA, F.; ROSELLI, M.; FINAMORE, A.; MARINI, F.; MARZETTI, E.; MICCHELI, A. Application of NMR-based metabolomics to the study of gut microbiota in obesity. **Journal of clinical gastroenterology**, vol. 48, no. 1, p. 5–7, 2014. DOI 10.1097/mcg.0000000000000236.

CHADARE, F. J.; IDOHOU, R.; NAGO, E.; AFFONFERE, M.; HOUNHOUGAN, D. J.; AGOSSADOU, J.; KÉVIN, T.; CHRISTEL, F.; SEWANOU, K.; AZOKPOTA, P.; LINNEMANN, A. R. Conventional and food-to-food fortification: An appraisal of past practices and lessons learned. **Food Science and Nutrition**, vol. 7, p. 2781–2795, 2019. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1133>.

CHENG, C. P.; TSAI, S. W.; CHIU, C. P.; PAN, T.-M.; TSAI, T.-Y. The effect of probiotic-fermented soy milk on enhancing the NO-mediated vascular relaxation factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 93, p. 1219–1225, 2013. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5880>.

CHINNADURAI, K.; KANWAL, H. K.; TYAGI, A. K.; STANTON, C.; ROSS, P. High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. **Lipids in health and disease**, vol. 12, no. 1, p. 1–9, 2013. DOI 10.1186/1476-511X-12-121.

CHUANG, H. L.; HUANG, Y.-T.; CHIU, C. C.; LIAO, C. D.; HSU, F.-L.; HUANG, C.-C.; HOU, C.-C. Metabolomics characterization of energy metabolism reveals glycogen accumulation in gut-microbiota-lacking mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 23, p. 752–758, 2012. DOI 10.1016/j.jnutbio.2011.03.019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.03.019>.

CITRUS BR. **Consumo Mundial de Suco de Laranja**. Brasília: [s. n.], 2011. Available at: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Citricultura/28RO/App_Consumo_de_Suco.pdf.

COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Bacteriocins: developing innate immunity for food. **Nature**, vol. 3, p. 777–788, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1240>.

CRITTENDEN, R. G.; MARTINEZ, N. R.; PLAYNE, M. J. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. **International**

Journal of Food Microbiology, vol. 80, no. 3, p. 217–222, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00170-8).

DE VRESE, M.; MARTEAU, P. R. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. **The Journal of nutrition**, vol. 137, no. 3, p. 803–811, 2007. DOI 10.1016/B978-0-12-374938-3.00014-1.

DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 24, no. 4, p. 285–294, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.021>.

ENCK, P.; ZIMMERMANN, K.; MENKE, G.; KLOSTERHALFEN, S. Randomized controlled treatment trial of irritable bowel syndrome with a probiotic *E. coli* preparation (DSM17252) compared to placebo. **Zeitschrift for Gastroenterologie**, vol. 47, no. 2, p. 209–214, 2009. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1027702>.

FAO. **Top production Oranges - 2012**. [S. l.: s. n.], 2012. Available at: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Accessed on: 24 Feb. 2016.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SENDRA-NADAL, E.; NAVARRO, C.; SAYAS, E.; VIUDA-MARTOS, M.; ALVAREZ, J. A. P. Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. **International Journal of Food Science & Technology**, vol. 44, no. 4, p. 748–756, 2009. DOI 10.1111/j.1365-2621.2008.01892.x.

FERNÁNDEZ, M.; HUDSON, J. A.; KORPELA, R.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. **BioMed Research International**, p. 1–13, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/412714>.

FRANZ, C. M. A. P.; HOLZAPFEL, W. H. The importance of understanding the stress physiology of lactic acid bacteria. In: TSAKALIDOU, E.; PAPADIMITRIOU, K. (eds.). **Stress responses of lactic acid bacteria**. Greece: Springer, 2011. p. 03–20. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

GAO, X. W.; MUBASHER, M.; FANG, C. Y.; REIFER, C.; MILLER, L. E. Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of *Lactobacillus acidophilus* CL1285 and *Lactobacillus casei* LBC80R for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile*-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. **The American journal of gastroenterology**, vol. 105, no. 7, p. 1636–1641, 2010. DOI 10.1038/ajg.2010.11.

GHANEM, K. Z.; BADAWEY, I. H.; ABDEL-SALAM, A. M. Influence of yoghurt and probiotic yoghurt on the absorption of calcium, magnesium, iron and bone mineralization in rats. **Milchwissenschaft**, vol. 59, no. 9–10, p. 472–475, 2004. Available at: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16082591>. Accessed on: 25 Feb. 2016.

GIBSON, G. R.; MCCARTNEY, A. L.; RASTALL, R. A. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. **The British journal of nutrition**, vol. 93 Suppl 1, p. 31–34, 2005. <https://doi.org/10.1079/BJN20041343>.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Occurrence of *cis*-isomers of provitamin A in Brazilian fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 42, no. 6, p. 1306–1313, 1994. <https://doi.org/10.1021/jf00042a011>.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.-R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, vol. 360, p. 512–519, 2003. DOI 10.1016/S0140-6736(03)12489-0.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, vol. 169, p. 453–468, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01632.x>.

HASKELL, M. J. Provitamin A Carotenoids as a Dietary Source of Vitamin A. In: TANUMIHARDJO, S. A.; BENDICH, A. (eds.). **Carotenoids and Human Health**. New York: Springer, 2013. p. 248–260. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-203-2>.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, vol. 11, p. 506–514, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

KAUSHIK, R.; SACHDEVA, B.; ARORA, S.; KAPILA, S.; WADHWA, B. K. Bioavailability of vitamin D2 and calcium from fortified milk. **Food Chemistry**, vol. 147, p. 307–311, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.150>.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação , persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 44, p. 329–347, 2008.

KRUGER, J.; TAYLOR, J. R. N.; FERRUZZI, M. G.; DEBELO, H. What is food-to-food fortification? A working definition and framework for evaluation of efficiency and implementation of best practices. **Comprehensive Reviews in Food**

Science and Food Safety, vol. 19, p. 3618–3658, 2020. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12624>.

KUKKONEN, K.; SAVILAHTI, E.; HAAHTELA, T.; JUNTUNEN-BACKMAN, K.; KORPELA, R.; POUSSA, T.; TUURE, T.; KUITUNEN, M. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, vol. 119, no. 1, p. 192–198, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.09.009>.

LIN, H.-C.; HSU, C.-H.; CHEN, H.-L.; CHUNG, M.-Y.; HSU, J.-F.; LIEN, R.; TSAO, L.-Y.; CHEN, C.-H.; SU, B.-H. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. **Pediatrics**, vol. 122, no. 4, p. 693–700, 2008. DOI 10.1542/peds.2007-3007.

MACOUZET, M.; LEE, B. H.; ROBERT, N. Production of conjugated linoleic acid by probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 106, p. 1886–1891, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04164.x>.

MARTIN, F. P. J.; WANG, Y.; SPRENGER, N.; HOLMES, E.; LINDON, J. C.; KOCHHAR, S.; NICHOLSON, J. K. Effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* treatment on the host gut tissue metabolic profiles probed via magic-angle-spinning NMR spectroscopy. **Journal of Proteome Research**, vol. 6, no. 4, p. 1471–1481, 2007. <https://doi.org/10.1021/pr060596a>.

MASOOD, M. I.; QADIR, M. I.; SHIRAZI, J. H.; KHAN, I. U. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. **Critical reviews in microbiology**, vol. 37, no. 1, p. 91–98, 2011. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2010.536522>.

MATTHES, H.; KRUMMENERL, T.; GIENSCH, M.; WOLFF, C.; SCHULZE, J. Clinical trial: probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally administered *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). **BMC complementary and alternative medicine**, vol. 10, p. 13, 2010. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-13>.

MAUS, J. E.; INGHAM, S. C. Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold- and acid-tolerance of bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 95, p. 146–154, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01954.x>.

MILAGRES, R. C. R. M.; NUNES, L. C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 12, no. 5, p. 1253–1266, 2007.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P. **An overview of the brazilian citriculture**. Frankfurt, Germany, p. 15, 2011. Available at: [http://www.ifama.org/files/conf/2011/Symposium Papers/284_Symposium Paper.pdf](http://www.ifama.org/files/conf/2011/Symposium%20Papers/284_Symposium%20Paper.pdf).

NG, S. C.; HART, A. L.; KAMM, M. A.; STAGG, A. J.; KNIGHT, S. C. Mechanisms of action of probiotics: **Recent advances. Inflammatory Bowel Diseases**, vol. 15, no. 2, p. 300–310, 2009. <https://doi.org/10.1002/ibd.20602>.

PATEL, A.; SHAH, N.; PRAJAPATI, J. B. Biosynthesis of vitamins and enzymes in fermented foods by lactic acid bacteria and related genera - A promising approach. **Croatian Journal of Food Science and technology**, vol. 5, p. 85–91, 2013.

PENEDO, L. A.; NUNES, J. C.; GAMA, M. A. S.; LEITE, P. E. C.; QUIRICO-SANTOS, T. F.; TORRES, A. G. Intake of butter naturally enriched with cis9, trans11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults. **Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 24, p. 2144–2151, 2013. DOI 10.1016/j.jnutbio.2013.08.006.

PENNA, A. L. B.; PAULA, A. T. De; CASAROTTI, S. N.; SILVA, L. F.; DIAMANTINO, V. R.; TODOROV, S. D. Overview of the functional lactic acid bacteria in fermented milk products. In: RAI, V. R.; BAI, J. A. (eds.). **Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods**. 1st ed. New York: CRC Press, 2014. p. 113–148.

PINHEIRO, M. M.; CICONELLI, R. M.; JACQUES, N. D. O.; GENARO, P. S.; MARTINI, L. a; FERRAZ, M. B. O impacto da osteoporose no Brasil: dados regionais das fraturas em homens e mulheres adultos - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Revista Brasileira de Reumatologia**, vol. 50, no. 2, p. 113–120, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000200002>.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 43, no. 5, p. 819–827, 2010. DOI 10.1016/j.lwt.2010.01.012. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.012>.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, vol. 49, no. 2, p. 619–625, 2012. DOI 10.1016/j.foodres.2012.09.007.

REIS, J. A.; PAULA, A. T.; CASAROTTI, S. N.; PENNA, A. L. B. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. **Food**

Engineering Reviews, vol. 4, no. 2, p. 124–140, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>.

REKHA, C. R.; VIJAYALAKSHMI, G. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 109, no. 4, p. 1198–1208, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04745.x>.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente – MMA/Secretaria de Biodiversidade e Florestas - SBF, 2008.

ROSENFELDT, V.; MICHAELSEN, K. F.; JAKOBSEN, M.; LARSEN, C. N.; MOLLER, P. L.; TVEDE, M.; WEYREHTER, H.; VALERIUS, N. H.; PAERREGAARD, A. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, vol. 21, no. 5, p. 417–419, 2002. DOI 10.1097/01.inf.0000014471.82190.59.

ROSS, A. C.; HARRISON, E. H. Vitamin A: Nutrition Aspects of Retinoids and Carotenoids. **Handbook of Vitamins**, vol. 11, no. 2, p. 1–39, 2007. <https://doi.org/10.1201/9781420005806.ch1>.

ROSSO, V. V. de; MERCADANTE, A. Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 55, p. 5062–5072, 2007. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0705421>.

SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTER, J. M.; BRESSOLIER, P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 50, no. 1, p. 1–16, 2013. DOI 10.1016/j.lwt.2012.05.014.

SARDESAI, V. M. Osteoporosis. **Introduction to Clinical Nutrition**, Revised and Expanded. 3rd ed. [S. l.]: CRC Press, 2003. DOI 10.1201/9780203912393.ch18.

SCOTT, K. J.; RODRIQUEZ-AMAYA, D. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents - fact or fiction? **Food Chemistry**, vol. 69, p. 125–127, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00256-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00256-3).

SERRAZANETTI, D. I.; GOTTARDI, D.; MONTANARI, C.; GIANOTTI, A. Dynamic stresses of lactic acid bacteria associated to fermentation processes. In: KONGO, M. (ed.). **Lactic acid bacteria - R&D for food, health and livestock purposes**. [S. l.]: InTech, 2013. p. 539–570.

SETTACHAIMONGKON, S.; VAN VALENBERG, H. J. F.; WINATA, V.; WANG, X.; NOUT, M. J. R.; VAN HOOIJDONK, T. C. M.; ZWIETERING, M. H.; SMID, E. J. Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. **Food Microbiology**, vol. 49, p. 104–115, 2015. DOI 10.1016/j.fm.2015.01.011.

SINGH, B. P.; VIJ, S.; HATI, S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. **Peptides**, vol. 54, p. 171–179, 2014. DOI 10.1016/j.peptides.2014.01.022.

SOMMER, A.; WEST, K. P. **Vitamin a deficiency: health, survival, and vision**. New York: Oxford University Press, 1996.

SUGIMOTO, S.; AL-MAHIN, A.; SONOMOTO, K. Molecular chaperones in lactic acid bacteria: physiological consequences and biochemical properties. **Journal of bioscience and bioengineering**, vol. 106, no. 4, p. 324–36, 2008. DOI 10.1263/jbb.106.324.

SULEK, K.; VIGSNAES, L. K.; SCHMIDT, L. R.; HOLCK, J.; FRANDSEN, H. L.; SMEDSGAARD, J.; SKOV, T. H.; MEYER, A. S.; LICHT, T. R. A combined metabolomic and phylogenetic study reveals putatively prebiotic effects of high molecular weight arabino-oligosaccharides when assessed by in vitro fermentation in bacterial communities derived from humans. **Anaerobe**, vol. 28, p. 68–77, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.05.007>.

TAKANO, T. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, vol. 82, p. 333–340, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1020600119907>.

TULCHINSKY, T. H. Micronutrient deficiency conditions: Global health issues. **Public Health Reviews**, vol. 32, no. 1, p. 243–255, 2010.

UVERE, P. O.; ONYEKWERE, E. U.; NGODDY, P. O. Production of maize-bambara groundnut complementary foods fortified pre-fermentation with processed foods rich in calcium, iron, zinc and provitamin A. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 90, p. 566–573, 2010. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3846>.

VAN DE GUCHTE, M.; SERROR, P.; CHERVAUX, C.; SMOKVINA, T.; EHRLICH, S. D.; MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, vol. 82, p. 187–216, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics — From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, vol. 18, p. 714–728, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>.

WANG, K.; LI, W.; RUI, X.; CHEN, X.; JIANG, M.; DONG, M. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 63, p. 133–139, 2014. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.036.

WHO/FAO. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Unscn.Org, p. 341, 2006. DOI 10.1242/jeb.02490. Available at: http://www.unscn.org/layout/modules/resources/files/fortification_eng.pdf.

WRIGHT, N. C.; LOOKER, A. C.; SAAG, K. G.; CURTIS, J. R.; DELZELL, E. S.; RANDALL, S.; DAWSON-HUGHES, B. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the United States based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol. 29, no. S1, p. 2520–2526, 2014. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2269>.

YOUSEF, A. E.; COURTNEY, P. D. Basics of stress adaptation and implications in new-generation foods. In: YOUSEF, A. E.; JUNEJA, V. K. (eds.). **Microbial stress adaptation and food safety**. New York: CRC Press, 2003.

ZERBINI, C. A. F.; SZEJNFELD, V. L.; ABERGARIA, B. H.; MCCLOSKEY, E. V.; JOHANSSON, H.; KANIS, J. A. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. **Archives of Osteoporosis**, vol. 10, no. 1, p. 28, 25 Dec. 2015. DOI 10.1007/s11657-015-0224-5.

ZHANG, L.; LI, N.; CAICEDO, R.; NEU, J. Alive and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. **The Journal of nutrition**, vol. 135, no. 7, p. 1752–1756, 2005. <https://doi.org/10.1093/jn/135/7/1752> [pii].

ZHANG, W.; LI, F.; NIE, L. Integrating multiple “omics” analysis for microbial biology: application and methodologies. **Microbiology**, vol. 156, p. 287–301, 2010. <https://doi.org/10.1099/mic.0.034793-0>.

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E.; FRANZ, C. M. A. P.; HARRIS, H. M. B.; MATTARELLI, P.; O'TOOLE, P. W.; POT, B.; VANDAMME, P.; WALTER, J.;

WATANABE, K.; WUYTS, S.; FELIS, G. E.; GÄNZLE, M. G.; LEBEER, S. 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*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, vol. 70, p. 2782–2858, 2020. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.

CAPÍTULO 1: Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products

Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products.

Juliana Silva da Graça^a, Marianna Miranda Furtado^a, Luísa Freire^a, Carolina Arisa Watanabe^a, Anderson de Souza Sant'Ana^a

^a Department of Food Science, Faculty of Food Engineering, University of Campinas, Campinas, Brazil

*Corresponding author: Prof. Anderson de Souza Sant'Ana: and@unicamp.br

Rua Monteiro Lobato, 80. Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP: 13083-862. Campinas, SP, Brazil.

ABSTRACT

The loss of probiotics viability in yoghurts and fermented milks is a known and widespread problem reported in literature. Thus, practices such as pre-exposure of probiotics to stress conditions are known to be able to increase the viability of these microorganisms. Moreover, the use of fruit pulp and agro-industrial residues in these products has demonstrated interesting results in promoting growth and improving the viability of probiotics. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of pre-exposure to acid, oxidative and osmotic stress on the growth and viability of *L. acidophilus* in yoghurts and natural fermented milks containing buriti pulp or orange by-product. *L. acidophilus* was individually pre-exposed to acid, oxidative and osmotic stress and used in the production of yoghurts and fermented milks for the determination of both acidification profile and growth of the cultures. Furthermore, during cold storage, the post-acidification profiles and the dynamics of the microbial populations added to the manufactured products were analyzed. Results showed that pre-applied stress conditions influenced the growth parameters as multiplication rate (μ) and lag phase (λ) of *L. acidophilus* and the starter cultures of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Moreover, an increase in the viability of *L. acidophilus* - pre-exposed to acid stress - was observed at the 21st day of storage of natural and orange by-product containing yoghurts in comparison with non-stressful condition. This study reports new data on the growth of probiotic cultures pre-exposed to stress conditions in products added of pulps and agro-industrial residues, which have not yet been shown in literature.

Keywords: predictive microbiology, stress response, dairy product.

1 INTRODUCTION

Fermented milks and yoghurts are popular products as they are the most sold ones within the category of dairy products. Their consumption is associated with a positive image linked to the promotion of health and well-being, and these food matrices are commonly used as probiotics delivery vehicles (ELIZABETH; YEUNG; TONG, 2011; GRANATO *et al.*, 2010; MOHAMMADI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; OLIVEIRA, 2014).

Probiotics are “live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host” (HILL *et al.*, 2014). *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* are the most studied genera of microorganisms used in the manufacture of dairy products (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). The benefits attributed to the consumption of these microorganisms include modulation of both the intestinal microbiota (AZAD *et al.*, 2018) and the immune system (GALDEANO *et al.*, 2019), cholesterol reduction (SIVAMARUTHI; KESIKA; CHAIYASUT, 2019), relief of symptoms of lactose intolerance (OAK; JHA, 2019) and cancer prevention (GÓRSKA *et al.*, 2019).

Although probiotics can be used as starter cultures in the production of yoghurts and fermented milks, they usually do not have adequate characteristics to play this role. This is related to their slow growth in milk, low proteolytic activity, and low production of volatile compounds, thus reducing the sensory properties of these products. In fact, the use of cultures called “adjuncts” (or traditional) are commonly used in the manufacture of fermented milks and probiotic yoghurts (MOHAMMADI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; SHAH, 2000; SODINI *et al.*, 2002). The use of starter cultures, such as *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* play a key role in the organoleptic and technological features of

these products (CHEN *et al.*, 2017; MANI-LÓPEZ; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2014b). The fast growth of these cultures in milk, the production of lactic acid and other metabolites are able to increase the microbiological safety of these matrices, inhibiting the growth of undesirable microorganisms (RAKHMANOVA; KHAN; SHAH, 2018; VEDAMUTHU, 2006).

Co-cultivation of starter and probiotic cultures is commonly used in the production of fermented milk and yoghurt. However, it is known that the interaction of these cultures can affect the viability of probiotics during the processing and storage of fermented products (MANI-LÓPEZ; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2014b; SACCARO *et al.*, 2009b; TIAN *et al.*, 2017). For this reason, some practices such as pre-exposure to or pre-cultivation of probiotic microorganisms under stress conditions have been used to improve the viability of these strains against the harsh conditions found in foods and throughout the digestive tract (SHAH, 2000; UPADRASTA *et al.*, 2011). Pre-exposure to or pre-cultivation of probiotics under stress conditions have already been used in the production of yoghurts, helping to increase the viability of probiotics such as *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) and *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015). However, until now, no work has evaluated the influence of pre-exposure to stress conditions on the kinetic parameters of growth of probiotic cultures during the manufacture of fermented milk and yoghurt.

The application of mathematical (kinetic) models in foods can be useful to understand the relationship between the conditions found in foods (pH, nutrients, acidity) and the growth of starter cultures in fermentative processes. Thus, it is possible to optimize and control process conditions (temperature, solids content, etc.), selection of strains, reduction of economic losses (reduction in fermentation time) and improvement in the quality and food safety of products (MARTÍNEZ-VILLALUENGA;

GÓMEZ, 2007; MATEJČEKOVÁ *et al.*, 2016; SHIBY; MISHRA, 2013). Hence, there is a growing interest in the application of these models to evaluate new products, such as cereal-based fermented drinks (e.g. soybeans, buckwheat, amaranth) (MATEJČEKOVÁ; DUJMIC; *et al.*, 2018; MATEJČEKOVÁ; LIPTÁKOVÁ; VALÍK, 2017, 2015).

The inclusion of fruits and their residues in yoghurts and fermented milks has been described as potential growth promoters for probiotics; moreover, they are able to maintain the viability of these microorganisms throughout storage (ESPÍRITO SANTO *et al.*, 2010; SAH *et al.*, 2016a, b). However, a better understanding of the influence of these ingredients on growth kinetic parameters of probiotic is scarce or not available in literature. In addition, the influence of pre-exposure to stress conditions on the kinetic parameters of growth of probiotics in fermented milks and yoghurts fortified with residues or fruit pulp has not yet been elucidated. In this sense, the goal of this work is to assess the influence of pre-exposure to stress conditions (acid, osmotic and oxidative) on the growth and viability parameters of *L. acidophilus* in fermented milks and natural yoghurts containing industrial residues (orange by-product) or fruit pulp (buriti).

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Pre-processing of raw material

Buriti (*Mauritia flexuosa*) samples were collected in the cities of Formosa (Goiás), Buritizeiro (Minas Gerais) and Campo Grande (Mato Grosso do Sul), all located in Brazil. Buritis were sanitized in chlorinated solution (100 ppm/10 min). The removal of the buriti pulp was performed manually, as described by Sampaio and Carrazza (2012). Then, pulps were freeze dried (Liotop LP1010, São Carlos, Brazil)

for about 55 hours at a final pressure of 49 mmHg. Following, dried pulps were grouped, processed in a commercial blender (Philips Walita, São Paulo, Brazil), stored to avoid light contact, and kept frozen (- 20 °C).

Samples of orange by-product (*Citrus sinensis*), comprising the varieties Pera Rio and Valencia, were provided by companies located in the state of São Paulo (Brazil). The bagasse collected was composed mainly of albedo and flavedo, without the presence of seeds. The dehydration of the orange bagasse was carried out in a greenhouse with forced air circulation (Marconi MA 035, Piracicaba, Brazil) at 60 °C for 4 h (CLEMENTE *et al.*, 2012). The dried bagasse was initially crushed in a blender (Marchesoni Oxy OBL10/2, Santana de Parnaíba, Brazil) and later reprocessed in a knife and hammer mill (Treu 738/311, Rio de Janeiro, Brazil), at the Instituto Tecnológico de Alimentos (ITAL, Campinas, Brazil). Thus, its granulometry was reduced to 0.71 mm by using sieves (ASTM 25, Granutest, Telastem Peneiras para Análise Ltda, São Paulo, Brazil). Dried samples were stored in airtight polyethylene bags and kept at room temperature.

2.2 Microbial cultures

The freeze-dried starter culture YF-L812 (Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark), containing the microorganisms *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and the freeze-dried probiotic culture *L. acidophilus* DSM 13241, Nu-trish® LA-5® (Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark), were used in this study. Starter culture was prepared according to the manufacturer's instructions, using dilution in reconstituted skim milk. The freeze-dried probiotic culture was cultivated in MRS broth (Accumedia, Michigan, USA) [inoculation of 0.5% (m/v)] at 37 °C for 24 h in aerobiosis, aliquoted in

Eppendorf® flasks and frozen in a conventional freezer (- 20 °C, addition of 30% glycerol).

2.3 Determination of sublethal stress conditions

The determination of sublethal stress concentrations to be used for *L. acidophilus* DSM 13241 in fermented yoghurts and milks produced was performed according to Barbosa, Borges and Teixeira (2015) and Thaweesang and Leenanon (2016), with modifications. The probiotic culture was activated in MRS broth [1.0% (v/v)] for a period of 10 h at 37 °C, until reaching 0.5 log phase (data not shown). After activation, cells were collected by centrifugation (8000 g x 5 min. x 4 °C), washed (twice) with 0.1% peptone water and resuspended in the same diluent to adjust the inoculum to a concentration of 10⁹ CFU/ml. Subsequently, the inoculum was added to media containing the stressor agent at different concentrations and incubated at 37 °C for a period of 1 to 10 h depending on the stress applied. For the simulation of acid stress, cells were suspended in MRS broth added of HCL 1 N (Dinâmica, Diadema, Brazil) at pH 4.5 to 2.0 for 10 h and samples were collected at time-points 0, 4, 6, 8 and 10 h. For osmotic stress, cells were suspended in MRS broth with 0.5 to 5% sodium chloride (Dinâmica, Diadema, Brazil) also for a period of 10 h, and samples were collected at time-points 0, 4, 6, 8 and 10 h. For oxidative stress, cells were suspended in BPW broth (Himedia, Vadhani, India) containing hydrogen peroxide (Shynth, Diadema, Brazil) at concentrations between 0.25 to 25 mM for 1 h and samples were collected every 0.5 h, during 1 h. All experiments were performed in duplicate.

The enumeration of viable cells of *L. acidophilus* was performed using serial dilutions in 0.1% peptone water and plating on MRS agar (Merck, Darmstadt,

Germany) using the pour plate method with an overlay. Plates were incubated at 37 °C/24-48 h (LIMA *et al.*, 2009). Results were plotted accordingly (CFU/mL x time), and the viability loss was calculated by the logarithmic reduction using the equation: $\log (N/N_0)$, where N is the microbial cell density in the time analyzed and N_0 is the initial microbial cell counts (supplementary data). The sublethal conditions chosen (concentration and time) resulted in significant losses of cell viability in the shortest time analyzed (preference given to the lowest concentration) and were not much higher than 1 log (Table 1) (BARBOSA; BORGES; TEIXEIRA, 2015; THAWEESANG; LEENANON, 2016).

2.4 Production of yoghurts and fermented milks using *L. acidophilus*, orange by-product or buriti pulp

2.4.1 Set up of starter and probiotic cultures

For the production of yoghurts, the starter culture was added directly in milk of the formulation at a concentration of 2.5% (v/v). The probiotic culture was re-inoculated in MRS broth (1.0% (v/v)) during a period of 10 h at 37 °C, centrifuged (8000 g x 5 min. x 4 °C), washed in 0.1% peptone water and resuspended in the same diluent. Resuspended cells were added in milk for yoghurt production (non-stressed probiotic culture) or in media containing the stressor agent (sublethal stress) as shown in Table 1. After application of the chosen conditions for each stress, cells were centrifuged (8000 g x 5 min. x 4°C) once more, washed in 0.1% peptone water and resuspended in the same volume of milk for the production of yoghurts containing the stressed probiotic culture. Non-stressed *L. acidophilus* and the starter cultures (*S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) were added to reach initial concentrations of 10^6 CFU/mL of milk.

2.4.2 Production of yoghurts and fermented milks

Twenty-seven different formulations, including yoghurts and fermented milks, were prepared combining the buriti pulp or the orange by-product with probiotic bacterium previously exposed to the three different types of sublethal stress; and controls not added of buriti pulp or orange by-product. The term “yoghurt” is related to fermentations that use starter culture(s), even when co-cultured with the probiotic bacterium (*L. acidophilus*). Besides, the designation “fermented milk” comprises fermentations that used only the probiotic bacterium *L. acidophilus*. The experimental design used is shown in Table 2.

UHT milk (Ninho® Forti+, Nestlé, Brazil) was used to make yoghurts and fermented milk. Both the orange by-product and buriti pulp were incorporated into the milk at a concentration of 5 and 2.55% (m/v), using a homogenizer (Ika Ultra-Turrax Homogenizer T-18; Ika Works Inc., Wilmington, USA) at a speed of 18000 rpm/5 min. or 24000 rpm/3 min., respectively (according to previous tests). Stabilizer xanthan gum (0.2%) was added in formulations containing buriti pulp to aid in the emulsion (concentrations tested preliminarily). The concentrations used were chosen since they were the highest ones that revealed positive visual results with respect to cohesiveness and dispersion in milk (data not shown). Starter and/or probiotic culture were added after the incorporation of by-products. The mixture (Table 2) was then distributed in 15 ml falcon tubes in a sterile environment, followed by incubation in a water bath (Tecnal TE-057, Piracicaba, Brazil) at 42 °C. Fermentation was maintained until the mixture reached a pH of 4.6. Next, yoghurts were removed from the water bath, cooled in an ice bath to reach a temperature of 10 °C and stored at 4 °C for further analysis. All fermentations were carried out at least in duplicate and as two independent experiments.

2.5 Titratable acidity, pH and bacterial counts

During the fermentation process, samples (aliquots) were collected from each formulation (Table 2) in order to monitor the acidification process (pH reduction and lactic acid production) and the microbial growth of *L. acidophilus*, *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

The pH values and titratable acidity were measured, respectively, with a pH meter equipment (Kasvi, K39-2014B, Curitiba, Brazil) and by titration with 0.1 N NaOH (Dynamics, Diadema, Brazil) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). For microbial growth evaluation, *L. acidophilus*, *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* populations were determined during processing using serial dilutions in 0.1% peptone water and plating using the pour plate technique. Culture media and conditions used for the enumeration were MRS added of clindamycin (10 µL/mL) (Sigma Aldrich, St. Louis, USA) with incubation at 37 °C/24-48 h in aerobic conditions for *L. acidophilus*; ST agar with incubation at 37 °C/24-48h in aerobic conditions for *S. thermophilus*; RCA agar pH 5.3 with incubation at 45 °C/72 h in anaerobiosis for *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (DAVE; SHAH, 1996; ISO:20128, 2006; SACCARO *et al.*, 2011). To obtain an anaerobic atmosphere, an anaerobiosis generator system - Anaerobac (Probac, São Paulo, Brazil) was used. Counts were expressed in log CFU/mL. All analyzes were performed in duplicate and as two independent experiments.

2.6 Determination of kinetic parameters of growth of starter and probiotic cultures

Growth kinetics was assessed by adjusting the Baranyi and Roberts model (Equations 1-3) (BARANYI; ROBERTS, 1994) to the data obtained for microbial counts (log CFU/mL) as a function of time, using the DMFit software (add-in excel). The

multiplication rate (μ_{max} , log cells/mL/h) and the lag phase time (λ , h) were estimated after adjusting the model.

$$\log_{10}(N_{(t)}) = \log_{10}(N_0) + \mu_{max} A(t) - \frac{1}{m} \ln \left[1 + \frac{e^{\mu_{max} A(t)} - 1}{e^{(\log N_{max} - \log N_0)}} \right] \quad (1)$$

$$A(t) = t + \frac{1}{\mu_{max}} \ln \left(\frac{e^{(-\mu_{max} t)} + q_0}{1 + q_0} \right) \quad (2)$$

$$\lambda = \frac{\ln \left(1 + \frac{1}{q_0} \right)}{\mu_{max}} \quad (3)$$

Where: $\log_{10}(N_{(t)})$ = cell concentration in time t (cells/mL), $\log_{10}(N_0)$ = initial concentration (cells/mL), μ_{max} = maximum multiplication rate (log cells/mL/hours), N_{max} = maximum cell concentration, q_0 [-] = parameter expressing the physiological state of cells when $t=t_0$, λ = lag time (hours), t = fermentation time, m = curvature parameter.

2.7 Shelf-life

After fermentation, yoghurts produced were stored at 4 °C over a period of 21 days, formulations were evaluated for the determination of the viability of the microorganisms, pH reduction and titratable acidity (post acidification). Analyzes were carried out every 7 days as mentioned in item 2.5.

2.8 Statistical analyses

Data are presented as mean $\pm$ standard deviation. The results were analyzed by ANOVA followed by the Scott Knott test, considering $p < 0.05$, using the Sisvar software 5.6 (Lavras, MG, Brazil).

3 RESULTS

3.1 Acidification profile, lactic acid production and bacterial growth parameters during the fermentation process

The inclusion of buriti pulp and orange by-product in the yoghurts and fermented milks produced was able to reduce the initial pH of the samples ($\cong 6.15$ and 5.74 , respectively) when compared to natural formulations of each product ($\cong 6.65$) (figure 1). During processing, yoghurts did not show pronounced differences in acidification profiles with respect to the application of microbial stress and inclusion of buriti pulp in the formulations. However, the addition of orange by-product impacted the features of the acidification curves of yoghurts added or not of *L. acidophilus* (pre-exposed to stress conditions), exhibiting a gradual decrease in pH values. It is important to mention that the acidification profiles are related to microbial growth during the fermentation process and for this reason they are composed of 3 characteristics: 1) adaptation phase (slow decrease of pH); 2) exponential microbial growth (rapid pH decrease); and, 3) slowdown of the acidification rate (SOUKOULIS *et al.*, 2007). Moreover, fermented milk formulations showed differences in acidification profiles only when orange by-product was added or pre-stress conditions were used. The inclusion of buriti pulp had no influence on the profiles observed. Thus, pre-exposure of *L. acidophilus* to oxidative and osmotic stress conditions increased total fermentation time of all formulations analyzed (natural fermented milk, with orange by-product or buriti pulp) when compared to the non-stressed condition. Pre-exposure of *L. acidophilus* to acid stress reduced total fermentation time of fermented milk formulations containing orange by-product or buriti pulp and did not influence the natural formulations when compared to the non-stressed condition. Furthermore, overall, the addition of orange by-product in fermented milks reduced the total

fermentation time to a maximum of 10.5 h when compared to natural formulations (max. 17 h) (figure 1). Therefore, it was possible to observe that the inclusion of orange by-product and buriti pulp, as well as pre-exposure to acid, osmotic and oxidative stresses, could interfere in the fermentation process of the yoghurts and fermented milk produced.

The growth parameters estimated after adjusting the Baranyi and Roberts model to the data (figure 2), such as the multiplication rate (μ) and the lag phase time (λ), are shown in tables 3 and 4. The growth potential (GP) of these microorganisms in the respective formulations (table 2) was also evaluated in order to determine the total growth ($\log N_{\text{final}}/N_{\text{initial}}$) of the cultures during the fermentation process (tables 3 and 4). The fit of the Baranyi and Roberts model to the growth data of *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* was mostly higher than 0.88 (R^2). This indicates that the results obtained are in good agreement with the model used, therefore proving to be suitable for the determination of the kinetic parameters of the fermentations performed.

In fermented milk (table 3), the inclusion of orange by-product or buriti pulp favored an increase in the multiplication rate of *L. acidophilus*. Regarding the pre-exposure of this microorganism to stress conditions, it is noted that among the formulations of natural fermented milk there was no significant difference in the multiplication rates or lag phase times of *L. acidophilus*. However, formulations containing orange by-product exhibited increased multiplication rate of *L. acidophilus* after its pre-exposure to acid and osmotic stress (0.71 ± 0.04 ; $0.11 \log \text{CFU/mL/h}$) when compared to the non-stressed condition ($0.53 \pm 0.01 \log \text{CFU/mL/h}$). In contrast, formulations containing buriti pulp were shown to have a reduced multiplication rate of *L. acidophilus* determined after its pre-exposure to acid and oxidative stress ($0.23 \pm$

0.04 and 0.26 ± 0.04 log CFU/mL/h, respectively); and an increased multiplication rate for the microorganism was observed after pre-exposure to osmotic stress (0.53 ± 0.00 log CFU/mL/h) when compared to the non-stressed condition (0.37 ± 0.04 log CFU/mL/h). In addition, all formulations containing orange by-product showed lag phase times higher than 1 h, in contrast to formulations of natural fermented milk and those containing buriti pulp in which the lag phase was not observed, with the exception of the sample LA OS BP (milk fermented by *L. acidophilus* - pre-exposed to osmotic stress - added of buriti pulp). In formulations containing orange by-product the lag phase time increased when *L. acidophilus* was pre-exposed to oxidative and osmotic stress (4.46 ± 1.51 and 2.77 ± 0.24 h, respectively) compared to the non-stressed condition (1.31 ± 0.15 h). The pre-exposure of *L. acidophilus* to osmotic stress was also responsible for the presence of the lag phase in formulations containing buriti pulp (3.55 ± 0.07 h). Overall, it was observed that fermented milks added of buriti pulp and orange by-product were influenced by the pre-exposure of *L. acidophilus* to stress conditions since changes in the kinetic parameters of growth of this microorganism (μ ; λ) were determined during the fermentation process.

Data presented in table 4 represent the trials carried out with the addition of starter cultures in co-culture with *L. acidophilus* and their respective controls not added of the probiotic bacteria (Y - yoghurt, Y OB - yoghurt containing orange by-product, and Y BP yoghurt containing buriti pulp). Thus, we intended to observe whether the pre-exposure of *L. acidophilus* to stress conditions (acid, oxidative and osmotic) impacted not only the growth of this culture, but also influenced the growth of starter cultures normally used in the production of yoghurt (*S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*). Therefore, any mention of pre-exposure to stress conditions (acid,

osmotic and oxidative) refers to the exposure of the strain *L. acidophilus* against these conditions.

Natural yoghurts fermented in co-culture (table 4) with *L. acidophilus* (without the addition of residues or pulps) showed reductions in the multiplication rate of the bacterium *S. thermophilus* after exposure to stress conditions (1.58 ± 0.02 ; 0.79 ± 0.03 and 1.88 ± 0.02 log CFU/mL/h in acid, oxidative and osmotic conditions, respectively) when compared to the control condition (2.51 ± 0.10 log CFU/mL/h). In yoghurts containing orange by-product, which were fermented in co-culture with *L. acidophilus*, oxidative and osmotic stress conditions increased the multiplication rate of *S. thermophilus* to 1.23 ± 0.16 and 1.32 ± 0.20 log CFU/mL/h, respectively, compared to the non-stressed control (0.74 ± 0.03 log CFU/mL/h). In addition, the pre-exposure of *L. acidophilus* to stress conditions also increased the multiplication rate of *S. thermophilus* in yoghurts fermented in co-culture with *L. acidophilus* containing buriti pulp, from 1.06 ± 0.06 log CFU/mL/h (control) to 1.18 ± 0.01 ; 1.22 ± 0.02 and 1.53 ± 0.09 log CFU/mL/h (acid, oxidative and osmotic stress, respectively).

L. delbrueckii subsp. *bulgaricus* growth in yoghurts fermented in co-culture with *L. acidophilus* was also influenced by the pre-exposure of the probiotic to the stress conditions. In natural yoghurts, pre-exposure of *L. acidophilus* to oxidative stress resulted in an increased multiplication rate of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, which initial counts increased from 1.30 ± 0.13 to 1.68 ± 0.03 log CFU/mL/h. It is worth to mention that pre-exposure to acid stress reduced the multiplication rate of this microorganism to 0.47 ± 0.28 log CFU/mL/h. In yoghurts added of orange by-product, pre-exposure of *L. acidophilus* to oxidative and osmotic stress increased the multiplication rate of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* from 0.81 ± 0.22 (control) to 0.94 ± 0.19 and 1.09 ± 0.41 log CFU/mL/h, respectively; on the other hand, under acid

stress the multiplication rate was reduced to 0.67 ± 0.09 log CFU/mL/h. For yoghurts containing buriti pulp, only exposure of *L. acidophilus* to oxidative stress influenced the multiplication rate of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, which increased from 0.69 ± 0.07 to 0.97 ± 0.20 log CFU/mL/h.

Regarding the growth of the probiotic bacterium *L. acidophilus*, the stress condition that most influenced the increase in its multiplication rate, considering or not the presence of orange by-product or buriti pulp, was pre-exposure to oxidative stress. For natural yoghurts, all stress conditions tested increased the multiplication rate of *L. acidophilus* from 0.28 ± 0.10 to 0.62 ± 0.09 ; 2.41 ± 0.18 and 0.67 ± 0.07 log CFU/mL/h (acid, oxidative and osmotic, respectively). For yoghurts added of orange by-product, the pre-exposure to acid stress did not result in a significant difference compared to the non-stressed control. Oxidative and osmotic stresses increased the multiplication rate of *L. acidophilus* from 0.51 ± 0.07 to 1.73 ± 0.10 and 0.99 ± 0.26 log CFU/mL/h, respectively. For yoghurts added of buriti pulp, pre-exposure to acid and osmotic stress conditions reduced *L. acidophilus* multiplication rates from 1.11 ± 0.25 to 0.34 ± 0.03 and 0.49 ± 0.05 log CFU/mL/h, respectively. Moreover, under exposure to oxidative stress, the multiplication rate of this microorganism increased to 2.58 ± 0.47 log CFU/mL/h.

In general, we observed that the stress conditions tested against the probiotic *L. acidophilus* not only influenced the maximum growth rates determined for this microorganism but also impacted the growth speed of the starter cultures (*S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) used for yoghurt production.

S. thermophilus, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* showed a lag phase in most of the tests performed in co-culture. In fact, the exposure of *L. acidophilus* to stress conditions in these samples influenced the lag phase times

observed. In natural yoghurts fermented in co-culture, only the exposure of *L. acidophilus* to oxidative stress significantly influenced the lag phase time of *S. thermophilus*, which values were reduced from 0.65 ± 0.39 (non-stressed condition) to 0 h (oxidative stress). In samples containing orange by-product or buriti pulp, the stress conditions did not impact or reduced the lag phase time of *S. thermophilus*, respectively. Thus, in yoghurts containing buriti pulp, the exposure of *L. acidophilus* to acid, oxidative and osmotic stress reduced the lag phase time of *S. thermophilus* (0.47 ± 0.28 to 0, 0.07 ± 0.10 and 0.11 ± 0.16 h, respectively).

Lag phase times determined for *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in natural yoghurts were significantly impacted only by acid and osmotic stresses, which reduced lag phase from 1.38 ± 0.53 to 0.62 ± 0.53 and 0.38 ± 0.19 h, respectively. In yoghurts containing orange by-product, only the pre-exposure of *L. acidophilus* to acid and oxidative stress had a significant impact, increasing the lag phase time of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* from 0.68 ± 0.03 to 1.57 ± 0.19 and 1.54 ± 0.12 h, respectively. For yoghurts containing buriti pulp, the exposure of *L. acidophilus* to acid and osmotic stress increased the lag phase time of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* from 0.16 ± 0.07 to 1.31 ± 0.21 and 1.27 ± 0.64 h, respectively. On contrary, data obtained from pre-exposure to oxidative stress in these yoghurts did not differ significantly from the non-stressed condition.

In natural yoghurts, the pre-exposure of *L. acidophilus* to acid and oxidative stress increased its lag phase time from 0 to 0.54 ± 0.01 and 0.41 ± 0.34 h, respectively. Accordingly, these same stress conditions were responsible for the increase of the lag phase time of *L. acidophilus* from 0 to 0.74 ± 0.19 and 0.89 ± 0.30 h in yoghurt formulations containing orange by-product. After exposure to osmotic stress in these yoghurt formulations (natural and containing orange by-product) the lag phase

time of *L. acidophilus* did not differ significantly from the non-stress condition. Still, yoghurts containing buriti pulp showed a reduction in the lag phase time of *L. acidophilus* (0.57 ± 0.61) when this bacterium was exposed, respectively, to acid, oxidative and osmotic stress (0; 0.15 ± 0 , 16 and 0).

3.2 Post acidification profile, lactic acid production and viability throughout storage

Overall, counts of *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* remained stable over the 21-day period evaluated, with no significant reductions, except for the samples: Y LA OB (yoghurt containing fermented orange by-product in co-culture with *L. acidophilus*, which had not been exposed to a stress condition) - reduction on the 7th and 21st days in the counts of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus*, respectively; Y OX OB (yoghurt containing fermented orange by-product co-cultured with *L. acidophilus*, which had not been exposed to oxidative stress) - significant reduction in *L. acidophilus* counts determined on the 21st day; and Y AC BP (yoghurt containing fermented buriti pulp co-cultured with *L. acidophilus*, which had been exposed to acid stress) - reduction in *S. thermophilus* counts observed on the 7th day. In addition, the majority of milk samples fermented by *L. acidophilus* had, significantly, higher counts compared with yoghurts, mainly after the end of the fermentation process (time 0). For *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* counts, variations (reduction or increase) were more evident on the 7th and 21st days, mostly for samples that contained buriti pulp or were not added of residues or pulps, respectively (tables 5 and 6).

The pH and acidity values of the yoghurt samples showed a tendency to decrease and increase, respectively, over shelf life. Thus, throughout 21 days, the

most marked pH reduction was observed in milk fermented with *L. acidophilus* previously exposed to oxidative stress without addition of orange by-product or buriti pulp (LA OX). The yoghurt sample containing buriti pulp (ST B), on the other hand, showed the most marked increase in acidity during the 21-day period. Moreover, during the time-period studied, the pH variations were more pronounced from the 7th day onwards, when yoghurts containing buriti pulp showed greater variations. Regarding acidity variations, milk fermented by *L. acidophilus* without the addition of orange by-product or buriti pulp showed the lowest acidity values. The addition of orange by-product and buriti pulp, in general, increased acidity during the storage period.

4 DISCUSSION

The application of kinetic models to assess the growth of starter and probiotic cultures has been used in several studies performed worldwide with fermented foods, mainly with regard to the development of new products (MARTÍNEZ-VILLALUENGA; GÓMEZ, 2007; MATEJČEKOVÁ; SOLTÉSZOVÁ; *et al.*, 2018; MATEJČEKOVÁ; LIPTÁKOVÁ; VALÍK, 2015). The use of the Baranyi model is particularly indicated when the effects of previous microbial growth and a possible accumulation of critical substances impact the current microbial growth, as it takes into account the previous (historical) physiological state of the cell (BARANYI; ROBERTS, 1994; HUANG, 2013). In the present study, the use of this model was shown to be adequate to describe the growth of the starters (*S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) and probiotic (*L. acidophilus*) cultures, presenting R^2 values above 0.88 even after pre-exposure of the probiotic to stress conditions and addition of pulps or fruit residues in yoghurts and fermented milks. Likewise, this primary model was also shown to be suitable to describe the growth of probiotics (e.g. *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG)

and starter cultures (e.g. Fresco culture) in the development of fermented drinks containing or based on cereals such as buckwheat, soybeans and amaranth (MATEJČEKOVÁ; DUJMIC; *et al.*, 2018; MATEJČEKOVÁ; LIPTÁKOVÁ; VALÍK, 2017, 2015).

The inclusion of orange by-product and buriti pulp in fermented milks and yoghurts promoted the growth of the probiotic *L. acidophilus* during the fermentation process, resulting in an increase in the growth potential (GP) and multiplication rate (μ) of this microorganism compared to non-supplemented (natural) control. These data are in agreement with some previous studies that demonstrated the potential of pulps and fruit residues (pineapple, orange) as growth promoters for probiotic bacteria such as *L. acidophilus*, *Lactocaseibacillus paracasei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Bifidobacterium longum* and *B. lactis* (BUSANELLO *et al.*, 2019; ESPÍRITO SANTO *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2019; SAH *et al.*, 2016b). However, in those works, growth promotion of probiotics during fermentation was mostly based on the determination of the acidification profile of the products studied. Differently, in the present study, quantitative microbiology parameters were used to estimate the microbial growth of the cultures analyzed. Despite this, when we evaluated the acidification profile of fermented milks containing buriti pulp and orange by-product and compared them with the respective controls, we also observed that the time required to reach pH 4.6 (total fermentation time) was significantly reduced ($p < 0.05$) (data not shown). However, this behavior was not observed for yoghurts. The addition of starter culture standardized the total fermentation time, to know 4 h for almost all formulations. However, yoghurts containing buriti pulp and orange by-product showed a tendency to exhibit reduced total fermentation times of 3.75 and 3.88 h, respectively (data not shown). Despite this, the use of the approach mentioned above also allows the evaluation of the growth

promotion of these microorganisms even if there is no change in the acidification profile of the products evaluated.

The growth promotion of probiotic cultures during the fermentation process of yoghurts and fermented milks, through the use of pulps and fruit residues, is mainly related to an increase in the availability of nutrients, such as carbohydrates, vitamins, minerals, antioxidant compounds and fibers, which are added to the product through the addition of these matrices (CASAROTTI *et al.*, 2018; FRUMENTO *et al.*, 2013; MILANEZ *et al.*, 2018; SAH *et al.*, 2016a).

The addition of pulps and fruit residues in yoghurts and fermented milks can also assist to maintain the viability of probiotic microorganisms during the storage of fermented products (CASAROTTI *et al.*, 2018; HUANG *et al.*, 2019). In addition, in some cases, it can provide a symbiotic effect, stimulating the growth of these cultures throughout storage (ESPÍRITO SANTO *et al.*, 2010, 2012; SAH *et al.*, 2015). Regarding the data obtained in the current study, an increase in *L. acidophilus* counts in yoghurts added of buriti pulp and orange by-product were shown all over the storage period evaluated, compared to the control formulation for most trials. Sendra *et al.* (2015) reported similar findings. The authors observed that after 30 days of storage, orange fiber added to yoghurts containing the strain *L. acidophilus* CECT 903 increased the probiotic cell concentration in comparison with the control. In the same way, the study carried out by Espírito-Santo *et al.* (2010) showed an increase in *L. acidophilus* counts after 28 days of storage in yoghurts added of açaí pulp compared to the non-supplemented control.

The maintenance of the viability of probiotic microorganisms in yoghurts and fermented milk supplemented with fruits and their residues during storage period is usually associated with the buffering capacity of the fibers, mainly in fruit residues, and

with the amount of nutrients present after the inclusion of the matrices (ESPÍRITO SANTO *et al.*, 2012; FRUMENTO *et al.*, 2013; SENDRA *et al.*, 2008). In addition, the presence of antioxidant compounds has also been cited as a protective factor for probiotic microorganisms against oxidative stress in fermented products during the storage period (CHAIKHAM, 2015; OZCAN *et al.*, 2017).

In fermented milks, the addition of orange by-product and buriti pulp did not influence the maintenance of the viability of *L. acidophilus* during the storage period; an opposite behavior observed in yoghurts. In fermented milk samples, *L. acidophilus* counts remained unchanged throughout the storage of the product, with no statistical difference ($p > 0.05$) observed when samples added or not of orange by-product and buriti pulp were compared. Despite this, higher *L. acidophilus* counts were determined in fermented milks in comparison to yoghurts. Thus, the inclusion of the starter cultures had a negative impact on the final concentration of *L. acidophilus* in yoghurts. And, perhaps for this reason, the results obtained were different when the two types of products were compared. The negative impact of starter culture(s) in maintaining the viability of probiotics in yoghurt has already been mentioned by a number of authors (MANI-LÓPEZ; PALOU; LÓPEZ-MALO, 2014b; SACCARO *et al.*, 2009b; TIAN *et al.*, 2017). This fact is linked to post-acidification and production of toxic compounds such as hydrogen peroxide and bacteriocins by the starter culture(s), normally due to the presence of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ELIZABETH; YEUNG; TONG, 2011; MEYBODI *et al.*, 2020; MOHAMMADI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012).

Little is known about the effects of pre-exposure of probiotics to stress conditions in fermentation processes and their impact(s) on the production of yoghurts and fermented milks. In this sense, the current demonstration of the impact of stress conditions on the kinetic parameters of growth of the probiotic and starter cultures

during the production of yoghurts and fermented milks is indeed first-of-its-kind. The pre-exposure of *L. acidophilus* to sublethal conditions of acid, oxidative and osmotic stress was able to influence its multiplication rate (μ) as well as interfere in the growth parameters (μ ; λ) of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, which are normally used in yoghurt production. Therefore, the multiplication of *L. acidophilus* influences the parameters of the process, mainly in the fermentation time. The delay or shortening of fermentation time of dairy products can result in negative impacts (economy and quality), since an extension of fermentation time can favor the growth of undesirable microorganisms (MOHAMMADI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012). Thus, it is important to understand the impact of previous environmental (stress) conditions to which these microorganisms have been exposed on the quality of fermentation processes. In addition, the use of tools such as predictive microbiology is relevant to clarify the impact of pre-exposure to specific stress conditions on the performance of these microorganisms during fermentation process.

The pre-exposure of *L. acidophilus* to acid stress was responsible for reducing the growth potential of this microorganism during the fermentation process in some formulations (Y AC OB, LA AC BP and Y AC BP), when compared to control condition. In addition, in yoghurts containing orange by-product, stress conditions (acid, osmotic and oxidative) had a negative impact on the growth potential of *L. delbrueckii* subs. *bulgaricus* when co-cultured with *L. acidophilus*, which had been previously exposed to stress conditions. These results are in agreement with those reported by Settachaimongkon et al. (2015). According to the authors, pre-cultivation of *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) under high osmotic and neutral or acid stress conditions (1.5% NaCl; pH 5.0 and 7.0) was able to negatively impact the growth potential of this culture during yoghurt fermentation process. Furthermore, Settachaimongkon et al. (2015)

also observed a negative impact on the growth potential of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* after fermentation in co-culture with BB1, which was pre-cultured in 1.5% NaCl (pH 5.0 and 7.0), resulting in lower concentrations of viable cells when compared to the control.

Growth inhibition or slow growth of lactic acid bacteria (LAB) after pre-exposure to stress conditions have already been linked to the adaptive response of these microorganisms, which can be generated by changes in specific mechanisms of cellular protection (VAN DE GUCHTE *et al.*, 2002a). In addition, the growth inhibition of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* during fermentation processes may be associated with the production of bacteriocins by *L. acidophilus* due to the competition for nutrients (ANJUM *et al.*, 2014); and also with the production of inhibitory metabolites against *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* triggered by adaptation to stress conditions (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2016). However, despite the points mentioned above, it is interesting to highlight that this inhibition occurred only with yoghurts or fermented milk containing orange by-product or buriti pulp. Therefore, more studies are needed to know in depth the factors that impact the potential for microbial growth in fermentative processes containing pulps or fruit residues in the presence of probiotics pre-exposed to stress conditions.

Regarding the viability of *L. acidophilus* during the storage period, microbial counts remained stable, with no significant differences observed between stress and control conditions in fermented milks. On the other hand, for yoghurts, the viability of *L. acidophilus* was stable (in most cases), increased (pre-exposure to acid stress in natural yoghurts and those containing orange by-product) and even reduced (pre-exposure to oxidative and osmotic stress in yoghurt formulations containing orange by-product and buriti pulp) when compared to the control condition. According to Maus &

Ingham (2003), the fermentation process in yoghurts and fermented milks can be itself considered an adaptation to acid stress, due to its particular characteristics. For this reason, the process can impact the results obtained during pre-exposure to stress or pre-cultivation of microorganisms under stressful conditions, replacing any increase in tolerance to acid environments previously obtained, for example. However, pre-cultivation under acid and osmotic stress has already been shown to increase the viability of probiotics such as *B. animalis* subsp. *lactis* (BB12) and *L. rhamnosus* GG in yoghurts produced in co-culture with *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015). These differences have been previously reported as common in literature as they are responses to microbial stress. Adaptive responses to stress in probiotics can be considered strain dependent, and may vary due to the experimental conditions used and type of stress applied (MAUS; INGHAM, 2003; MOZZETTI *et al.*, 2013; SAARELA *et al.*, 2004).

The exposure of probiotics to acid stress stimulates the physiological adaptation of these microorganisms, a phenomenon called acid tolerance response (ATR). This adaptation can increase the survival of probiotics to acidic environments through: the induction of pH homeostasis in cells by translocation of protons F1F0-ATPase; the generation of stress proteins; the modification in the fatty acid composition of the cell membrane, thus reducing the permeability to protons; and the increase in cytoplasm alkalinity by means of arginine deiminase and decarboxylation (RUIZ *et al.*, 2011; VAN DE GUCHTE *et al.*, 2002a).

It is important to mention that although some yoghurts had lower viable counts of *L. acidophilus* during the storage period (Y OX OB, Y OS BP), most formulations evaluated maintained microbial populations above 10^6 CFU / mL. Thus, the minimum

amount of probiotics (10^6 CFU/mL) needed to be consumed to exert beneficial health effects on the host has been reached (LOURENS-HATTINGH; VILJOEN, 2001).

5 CONCLUSION

This study demonstrated that the pre-exposure of *L. acidophilus* to acid, oxidative and osmotic stress is able to impact the kinetic parameters of growth ($\mu_{\max}$ and λ) of both the microorganism (probiotic) and starter culture(s) used during the fermentation process of yoghurt and fermented milk. Pre-exposure to acid stress was able to reduce the multiplication rates of *L. acidophilus* in most trials performed. However, pre-exposure to these stress condition (pH 4.5 for 3 h) had a positive impact on the viability of *L. acidophilus* throughout storage in formulations of natural yoghurt and the ones containing orange by-product. In addition, our study highlights a positive impact when buriti pulp and orange by-product were added since they promoted the growth and maintained the viability of the probiotic *L. acidophilus* during the fermentation process and throughout storage of yoghurts and fermented milks. Thus, we emphasize that this research presents new data on growth of probiotic cultures pre-exposed to stress conditions in products added of pulps and agro-industrial residues, which have not yet been shown in literature.

6 ACKNOWLEDGMENT

J. S. Graça acknowledges the financial support of São Paulo Research Foundation (FAPESP): Grant # 2016/12001-0.

7 REFERENCES

- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., Momin, A., 2014. *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the species and application in food production. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 54, 1241–1251. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.621169>
- Azad, M.A.K., Sarker, M., Li, T., Yin, J., 2018. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview. Biomed Res. Int. 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>
- Baranyi, J., Roberts, T.A., 1994. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. Int. J. Food Microbiol. 23, 277–294. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0).
- Barbosa, J., Borges, S., Teixeira, P., 2015. Influence of sub-lethal stresses on the survival of lactic acid bacteria after spray-drying in orange juice. Food Microbiol. 52, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.010>
- Busanello, M., De Moraes Filho, M.L., Guergoletto, K.B., Garcia, S., 2019. Optimization of the growth of *Lactobacillus* in skim milk added with green banana flour and determination functional properties. Nutr. Food Sci. 49, 249–261. <https://doi.org/10.1108/NFS-03-2018-0098>
- Casarotti, S.N., Borgonovi, T.F., Batista, C.L.F.M., Penna, A.L.B., 2018. Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. Lwt 98, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010>
- Chaikham, P., 2015. Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. Food Biosci. 12, 61–66. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.07.006>

Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., Zhao, G., 2017. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *Int. J. Food Prop.* 20, S316–S330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>

Clemente, E., Flores, A.C., Rosa, C.I.L.F., Oliveira, D.M., 2012. Características da farinha de resíduos do processamento de laranja. *Rev. Ciências Exatas e Nat.* 14, 257–269. <https://doi.org/10.5935/RECEN.2012.02.06>

Dave, R.I., Shah, N.P., 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus*. *J. Dairy Sci.* 79, 1529–1536. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76513-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76513-X)

Elizabeth, W.N., Yeung, M., Tong, P.S., 2011. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. *Int. J. Food Microbiol.* 145, 169–175. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>

Espírito Santo, A.P. do, Cartolano, N.S., Silva, T.F., Soares, F.A.S.M., Gioielli, L.A., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M.N., 2012. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *Int. J. Food Microbiol.* 154, 135–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.025>

Espírito Santo, A.P. do, Silva, R.C., Soares, F.A.S.M., Anjos, D., Gioielli, L.A., Oliveira, M.N., 2010. Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. *Int. Dairy J.* 20, 415–422. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.01.002>

Frumento, D., do Espírito Santo, A.P., Aliakbarian, B., Casazza, A.A., Gallo, M., Converti, A., Perego, P., 2013. Development of *Lactobacillus acidophilus* fermented milk fortified with *Vitis vinifera* marc flour. *Food Technol. Biotechnol.* 51.

Galdeano, C.M., Cazorla, S.I., Dumit, J.M.L., Vélez, E., Perdigón, G., 2019. Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Ann. Nutr. Metab.* 74, 115–124. <https://doi.org/10.1159/000496426>

Górska, A., Przystupski, D., Niemczura, M.J., Kulbacka, J., 2019. Probiotic bacteria: A promising tool in cancer prevention and therapy. *Curr. Microbiol.* 76, 939–949. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01679-8>

Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F., 2010. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 9, 292–302. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E., 2014. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 11, 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

Huang, L., 2013. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. *Food Control* 32, 283–288. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.019>

Huang, M.L., Huang, J.Y., Kao, C.Y., Fang, T.J., 2019. Fermented soymilk and soy and cow milk mixture, supplemented with orange peel fiber or *Tremella flava* fermented powder as prebiotics for high exopolysaccharide-producing *Lactobacillus pentosus* SLC 13. *J. Sci. Food Agric.* 99, 4373–4382. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9671>

Instituto Adolfo Lutz, 2008. Leites e derivados, in: Zenebon, O., Pascuet, N.S., Tiglea, P. (Eds.), *Métodos Físicos-Químicos Para Análise de Alimentos*. Núcleo de Informação e Tecnologia - NIT/IAL, São Paulo, pp. 819–877.

ISO:20128, 2006. Milk products — Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium — Colony-count technique at 37 °C.

Lima, K.G. de C., Kruger, M.F., Behrens, J., Destro, M.T., Landgraf, M., Franco, B.D.G. de M., 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus*

acidophilus, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. LWT - Food Sci. Technol. 42, 491–495. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.011>

Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B.C., 2001. Yogurt as probiotic carrier food. Int. Dairy J. 11, 1–17. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X)

Mani-López, E., Palou, E., López-Malo, A., 2014. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. J. Dairy Sci. 97, 2578–2590. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7551>

Martínez-Villaluenga, C., Gómez, R., 2007. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. Int. Dairy J. 17, 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.02.003>

Matejčková, Z., Dujmic, E., Liptáková, D., Valík, L., 2018a. Modeling of lactic acid fermentation of soy formulation with *Lactobacillus plantarum* HM1. Food Sci. Technol. Int. 25, 141–149. <https://doi.org/10.1177/1082013218803257>

Matejčková, Z., Liptáková, D., Spodniaková, S., Valík, L., 2016. Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. Acta Chim. Slovaca 9, 104–108. <https://doi.org/10.1515/acs-2016-0018>

Matejčková, Z., Liptáková, D., Valík, L., 2017. Functional probiotic products based on fermented buckwheat with *Lactobacillus rhamnosus*. LWT - Food Sci. Technol. 81, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.018>

Matejčková, Z., Liptáková, D., Valík, L., 2015. Fermentation of milk- and water-based amaranth mashes. Acta Chim. Slovaca 8, 140–145. <https://doi.org/10.1515/acs-2015-0024>

Matejčková, Z., Soltészová, F., Acai, P., Liptáková, D., Valík, L., 2018b. Application of *Lactobacillus plantarum* in functional products based on fermented buckwheat. J. Food Sci. 83, 1053–1062. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14090>

Maus, J.E., Ingham, S.C., 2003. Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold- and acid-tolerance of bifidobacteria. J. Appl. Microbiol. 95, 146–154. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01954.x>

Meybodi, N.M., Mortazavian, A.M., Arab, M., Nematollahi, A., 2020. Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. Int. Dairy J. 109, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>

Milanez, J.T., Neves, L.C., Colombo, R.C., Shahab, M., Roberto, S.R., 2018. Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. Sci. Hortic. (Amsterdam). 227, 10–21. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.045>

Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M., 2012. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. Eng. Life Sci. 12, 399–409. <https://doi.org/10.1002/elsc.201100125>

Mozzetti, V., Grattepanche, F., Berger, B., Rezzonico, E., Arigoni, F., Lacroix, C., 2013. Fast screening of *Bifidobacterium longum* sublethal stress conditions in a novel twostage continuous culture strategy. Benef. Microbes 4, 167–178. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0026>

Oak, S.J., Jha, R., 2019. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 59, 1675–1683. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>

Oliveira, M. de, 2014. Fermented milks: Fermented milks and yogurt, in: Batt, C.A., Tortorello, M. Lou (Eds.), Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier Ltd., pp. 908–922. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>

Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayazit, A., Delikanlı, B., 2017. Antioxidant properties of probiotic fermented milk supplemented with chestnut flour (*Castanea sativa* Mill). J. Food Process. Preserv. 41. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13156>

Rakhmanova, A., Khan, Z.A., Shah, K., 2018. A mini review fermentation and preservation: Role of lactic acid bacteria. MOJ Food Process. Technol. 6, 414–417. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00197>

Ranadheera, R.D.C.S., Baines, S.K., Adams, M.C., 2010. Importance of food in probiotic efficacy. Food Res. Int. 43, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>

Ruiz, L., Ruas-Madiedo, P., Gueimonde, M., De Los Reyes-Gavilán, C.G., Margolles, A., Sánchez, B., 2011. How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. Genes Nutr. 6, 307–318. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0207-5>

Saarela, M., Rantala, M., Hallamaa, K., Nohynek, L., Virkajärvi, I., Mättö, J., 2004. Stationary-phase acid and heat treatments for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. J. Appl. Microbiol. 96, 1205–1214. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02286.x>

Saccaro, D.M., Horita, C.Y., Tamime, A.Y., Oliveira, M.N. de, 2011. Evaluation of different selective media for enumeration of probiotic micro-organisms in combination with yogurt starter cultures in fermented milk. African J. Microbiol. Res. 5, 3901–3906. <https://doi.org/10.5897/AJMR-11-117>

Saccaro, D.M., Tamime, A.Y., Pilleggi, A.L.O.P.S., Oliveira, M.N., 2009. The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. *Int. J. Dairy Technol.* 62, 397–404. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00497.x>

Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O.N., 2016a. Effect of pineapple waste powder on probiotic growth, antioxidant and antimutagenic activities of yogurt. *J. Food Sci. Technol.* 53, 1698–1708. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2100-0>

Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O.N., 2016b. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Sci. Technol.* 65, 978–986. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.027>

Sah, B.N.P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O.N., 2015. Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel. *J. Dairy Sci.* 98, 5905–5916. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9450>

Sampaio, M.P., Carrazza, L.R., 2012. *Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (Maurita flexuosa)*, 1st ed. Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), Brasília, Distrito Federal.

Sendra, E., Fayos, P., Lario, Y., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Pérez-Alvarez, J.A., 2008. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. *Food Microbiol.* 25, 13–21. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.09.003>

Settachaimongkon, S., van Valenberg, H.J.F., Gazi, I., Nout, M.J.R., van Hooijdonk, T.C.M., Zwietering, M.H., Smid, E.J., 2016. Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter

bacteria in set-yoghurt. Food Microbiol. 59, 14–22.

<https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.04.008>

Settachaimongkon, S., Van Valenberg, H.J.F., Winata, V., Wang, X., Nout, M.J.R., Van Hooijdonk, T.C.M., Zwietering, M.H., Smid, E.J., 2015. Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. Food Microbiol. 49, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.011>

Shah, N.P., 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J. Dairy Sci. 83, 894–907. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8)

Shiby, V.K., Mishra, H.N., 2013. Fermented milks and milk products as functional foods — A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 53, 482–496. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.547398>

Sivamaruthi, B.S., Kesika, P., Chaiyasut, C., 2019. A mini-review of human studies on cholesterol-lowering properties of probiotics. Sci. Pharm. 87. <https://doi.org/10.3390/scipharm87040026>

Sodini, I., Lucas, A., Oliveira, M.N., Remeuf, F., Corrieu, G., 2002. Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. J. Dairy Sci. 85, 2479–2488. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74330-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74330-0)

Soukoulis, C., Panagiotidis, P., Koureli, R., Tzia, C., 2007. Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. J. Dairy Sci. 90, 2641–2654. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-802>

Thaweesang, S., Leenanon, B., 2016. Survival of *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 in bile salt stress conditions. Asian J. Microbiol. Biotechnol. Environ. Sci. 18, 569–579.

Tian, H., Shen, Y., Yu, H., He, Y., Chen, C., 2017. Effects of 4 probiotic strains in coculture with traditional starters on the flavor profile of yogurt. *J. Food Sci.* 82, 1693–1701. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13779>

Upadrasta, A., Stanton, C., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P., 2011. Chapter 17 - Improving the stress tolerance of probiotic cultures: Recent trends and future directions, in: Doyle, M.P. (Ed.), *Stress Responses of Lactic Acid Bacteria*. Springer, New York, pp. 395–438.

Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S.D., Maguin, E., 2002. Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 82, 187–216. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>

Vedamuthu, E.R., 2006. Chapter 6: Starter cultures for yogurt and fermented milks, in: Chandan, R.C. (Ed.), *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Blackwell Publishing, pp. 89–115.

8 FIGURES

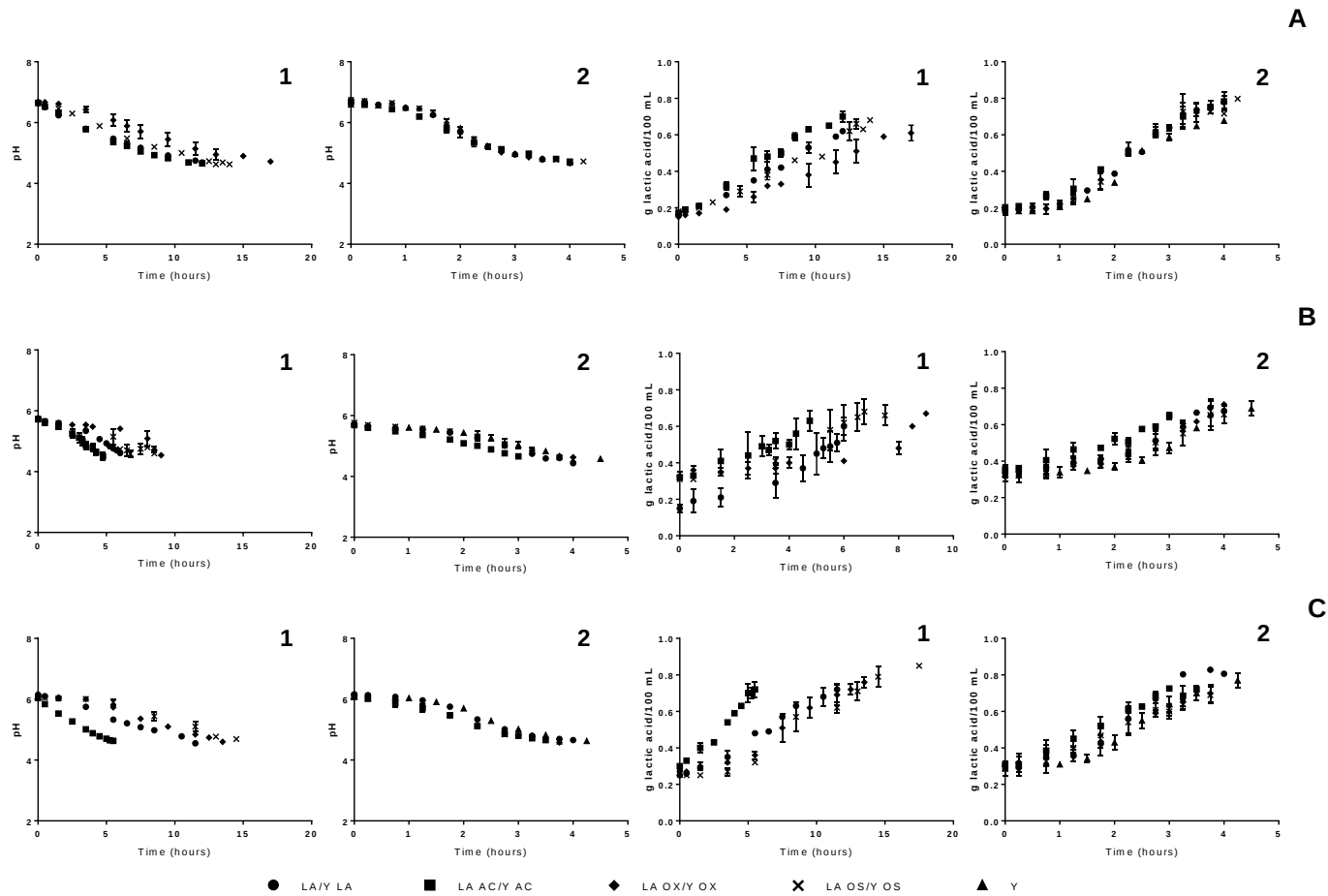


Figure 1. Acidification curves and lactic acid production during fermentation at 37 °C of fermented milk (1) and yogurt (2) with no substrate (A), orange by-product (B) or buriti pulp addition (C). Abbreviation's: LA = *L. acidophilus* fermented milk; Y LA = *L. acidophilus* yogurt; LA AC = *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; Y AC = *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; LA OX = *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; Y OX = *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; LA OS = *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; Y OS = *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y = control yogurt without *L. acidophilus*.

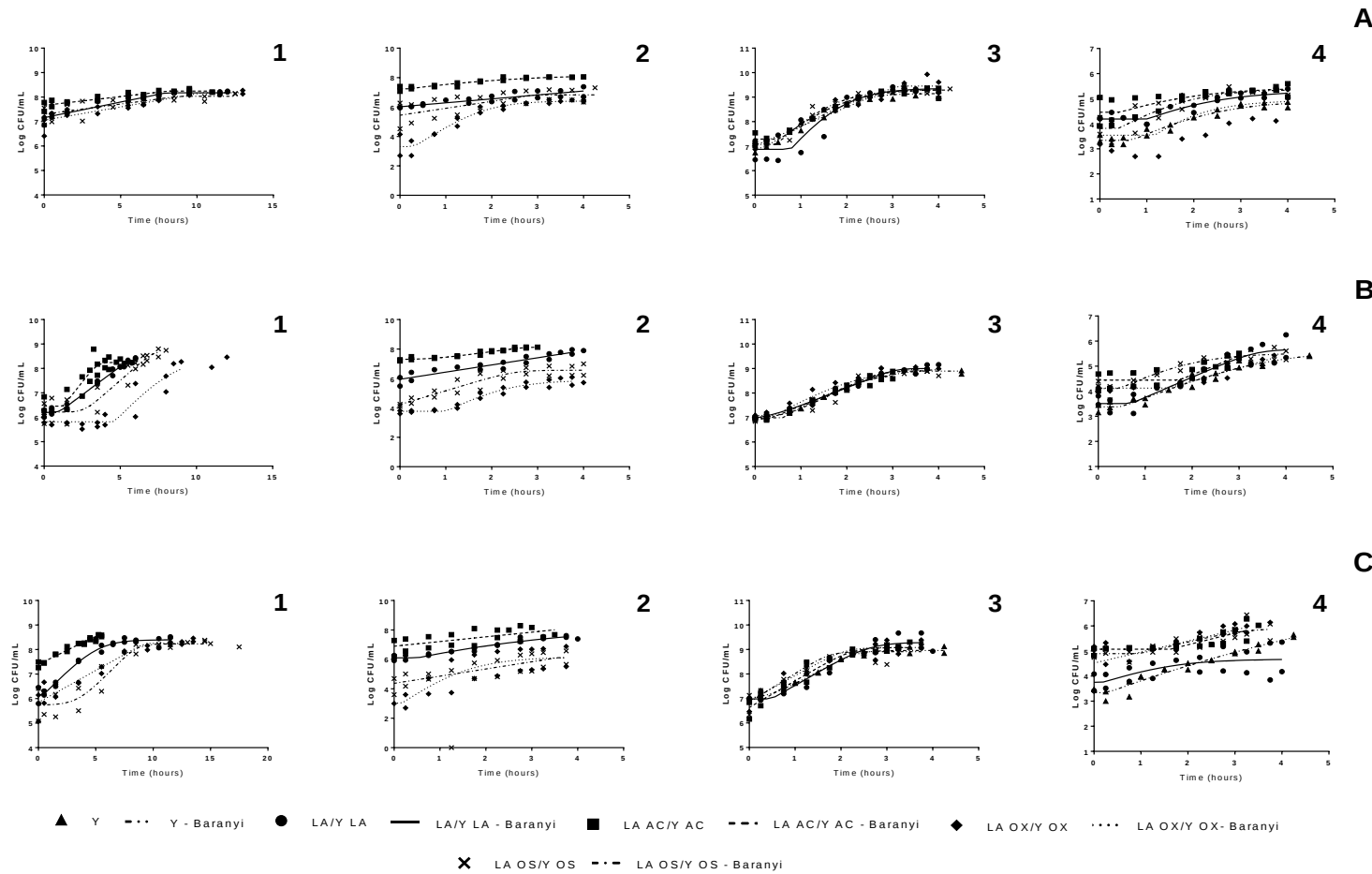


Figure 2. Growth kinetics of *L. acidophilus* (1), *L. acidophilus* in co-culture with starter bacteria (2), *S. thermophilus* (3) and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (4), respectively, after Baranyi model fitting in yogurt (2,3,4) or fermented milk (1) control/natural (A), with orange by-product (B) or buriti pulp addition (C). Abbreviation's: LA = *L. acidophilus* fermented milk; Y LA = *L. acidophilus* yogurt; LA AC = *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; Y AC = *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; LA OX = *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk;

Y OX = *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; LA OS = *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; Y OS = *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y = control yogurt without *L. acidophilus*.

9 TABLES

Table 1. Selected *L. acidophilus* sublethal stress conditions.

Type of stress	Sublethal condition
Osmotic	3.5 % NaCl for 8 h
Acidic (adjusted with HCl)	pH 4.5 for 3 h
Oxidative	10.54 mM of H ₂ O ₂ for 0.5 h

Table 2. Experimental design of the study.

Microorganism (strain) ^a	Orange by-product	Burit pulp	Sublethal Acid stress (AC)	Sublethal Osmotic stress (OS)	Sublethal Oxidative stress (OX)	Sample code
<i>L. acidophilus</i>	-	-	-	-	-	LA
<i>L. acidophilus</i>	-	-	+	-	-	LA AC
<i>L. acidophilus</i>	-	-	-	+	-	LA OS
<i>L. acidophilus</i>	-	-	-	-	+	LA OX
<i>S. thermophilus</i> + <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (St)	-	-	-	-	-	Y
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	-	-	-	-	Y LA
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	-	+	-	-	Y AC
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	-	-	+	-	Y OS
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	-	-	-	+	Y OX
<i>L. acidophilus</i>	+	-	-	-	-	LA OB
<i>L. acidophilus</i>	+	-	+	-	-	LA AC OB
<i>L. acidophilus</i>	+	-	-	+	-	LA OS OB
<i>L. acidophilus</i>	+	-	-	-	+	LA OX OB
<i>S. thermophilus</i> + <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (St)	+	-	-	-	-	Y OB
Y + <i>L. acidophilus</i>	+	-	-	-	-	Y LA OB
Y + <i>L. acidophilus</i>	+	-	+	-	-	Y AC OB
Y + <i>L. acidophilus</i>	+	-	-	+	-	Y OS OB
Y + <i>L. acidophilus</i>	+	-	-	-	+	Y OX OB
<i>L. acidophilus</i>	-	+	-	-	-	LA BP
<i>L. acidophilus</i>	-	+	+	-	-	LA AC BP
<i>L. acidophilus</i>	-	+	-	+	-	LA OS BP
<i>L. acidophilus</i>	-	+	-	-	+	LA OX BP
<i>S. thermophilus</i> + <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (St)	-	+	-	-	-	Y BP

Y + <i>L. acidophilus</i>	-	+	-	-	-	Y LA BP
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	+	+	-	-	Y AC BP
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	+	-	+	-	Y OS BP
Y + <i>L. acidophilus</i>	-	+	-	-	+	Y OX BP

^aAbbreviation's: Starter culture (St); *Lactobacillus acidophilus* (LA); yogurt (Y); (+) with or submitted (-) without or no submitted.

Table 3: Growth parameters of *L. acidophilus* in natural, orange by-product and buriti pulp fermented milk samples obtained after fit of Baranyi model.

Sample	μ (log CFU/mL/h)	λ (hours)*	R ²	GP (log CFU/mL)**
LA	0.13 ± 0.02 ^e	0.00 ± 0.00 ^d	0.92	1.22 ± 0.24 ^b
LA AC	0.07 ± 0.01 ^e	0.00 ± 0.00 ^d	0.94	0.61 ± 0.27 ^b
LA OX	0.11 ± 0.03 ^e	0.00 ± 0.00 ^d	0.93	1.46 ± 0.56 ^b
LA OS	0.09 ± 0.04 ^e	0.00 ± 0.00 ^d	0.92	1.16 ± 0.64 ^b
LA OB	0.53 ± 0.01 ^b	1.06 ± 0.12 ^c	0.99	2.27 ± 0.24 ^a
LA AC OB	0.71 ± 0.04 ^a	1.31 ± 0.15 ^c	0.98	1.88 ± 0.34 ^a
LA OX OB	0.59 ± 0.11 ^b	4.46 ± 1.51 ^a	0.98	2.42 ± 0.10 ^a
LA OS OB	0.71 ± 0.11 ^a	2.77 ± 0.24 ^b	0.99	2.34 ± 0.61 ^a
LA BP	0.37 ± 0.04 ^c	0.00 ± 0.00 ^d	0.97	2.37 ± 0.43 ^a
LA AC BP	0.23 ± 0.04 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	0.95	1.18 ± 0.12 ^b
LA OX BP	0.26 ± 0.06 ^d	0.00 ± 0.00 ^d	0.97	2.78 ± 0.86 ^a
LA OS BP	0.53 ± 0.00 ^b	3.55 ± 0.07 ^b	0.99	2.50 ± 0.75 ^a

Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $p < 0.05$.

*Zero values mean no lag phase presence.

** Growth Potential (GP) means the increase in the numbers of colonies units after fermentation process.

Abbreviation's: LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; LA AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* fermented milk; LA AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk.

Table 4: Growth parameters of *S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *L. acidophilus* in natural, orange by-product and buriti pulp yogurt samples obtained after fit of Baranyi model.

Sample	<i>Streptococcus thermophilus</i>				<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>				<i>Lactobacillus acidophilus</i>			
	μ (log CFU/mL/h)	λ (hours)	R ²	GP (log CFU/mL)	μ (log CFU/mL/h)	λ (hours)	R ²	GP (log CFU/mL)	μ (log CFU/mL/h)	λ (hours)	R ²	GP (log CFU/mL)
Y	1.03 ± 0.09 ^e	0.10 ± 0.01 ^b	0.99	2.26 ± 0.04 ^a	1.13 ± 0.11 ^b	0.70 ± 0.27 ^b	0.95	1.33 ± 0.02 ^b	-	-	-	-
Y LA	2.51 ± 0.10 ^a	0.65 ± 0.39 ^a	0.99	2.43 ± 0.46 ^a	1.30 ± 0.13 ^b	1.38 ± 0.53 ^a	0.95	1.00 ± 0.22 ^b	0.28 ± 0.10 ^e	0.00 ± 0.00 ^b	0.99	1.07 ± 0.48 ^b
Y AC	1.58 ± 0.02 ^c	0.53 ± 0.14 ^a	0.99	1.84 ± 0.62 ^a	0.47 ± 0.28 ^c	0.62 ± 0.53 ^b	0.97	0.86 ± 0.44 ^b	0.62 ± 0.09 ^d	0.54 ± 0.01 ^a	0.99	0.80 ± 0.25 ^b
Y OX	0.79 ± 0.03 ^f	0.00 ± 0.00 ^b	0.96	2.31 ± 0.31 ^a	1.68 ± 0.03 ^a	1.16 ± 0.16 ^a	0.99	1.10 ± 0.17 ^b	2.41 ± 0.18 ^a	0.41 ± 0.34 ^a	0.99	3.05 ± 1.02 ^a
Y OS	1.88 ± 0.02 ^b	0.39 ± 0.26 ^a	0.98	2.29 ± 0.02 ^a	0.95 ± 0.11 ^b	0.38 ± 0.19 ^b	0.98	1.35 ± 0.65 ^b	0.67 ± 0.07 ^d	0.13 ± 0.18 ^b	0.97	1.43 ± 0.55 ^b
Y OB	0.92 ± 0.04 ^f	0.65 ± 0.03 ^a	0.99	1.78 ± 0.04 ^a	0.88 ± 0.03 ^b	0.54 ± 0.10 ^b	0.97	2.11 ± 0.24 ^a	-	-	-	-
Y LA OB	0.74 ± 0.03 ^f	0.33 ± 0.01 ^a	0.99	2.06 ± 0.16 ^a	0.81 ± 0.22 ^c	0.68 ± 0.03 ^b	0.96	1.97 ± 0.61 ^a	0.51 ± 0.07 ^e	0.00 ± 0.00 ^b	0.98	2.15 ± 0.37 ^a
Y AC OB	0.79 ± 0.01 ^f	0.35 ± 0.06 ^a	0.99	1.78 ± 0.26 ^a	0.67 ± 0.09 ^c	1.57 ± 0.19 ^a	0.95	1.06 ± 0.33 ^b	0.42 ± 0.04 ^e	0.74 ± 0.19 ^a	0.97	1.02 ± 0.23 ^b
Y OX OB	1.23 ± 0.16 ^d	0.45 ± 0.16 ^a	0.99	1.90 ± 0.06 ^a	0.94 ± 0.19 ^b	1.54 ± 0.12 ^a	0.98	1.17 ± 0.14 ^b	1.73 ± 0.10 ^b	0.89 ± 0.30 ^a	0.99	2.19 ± 0.11 ^a
Y OS OB	1.32 ± 0.20 ^d	0.62 ± 0.04 ^a	0.97	1.98 ± 0.33 ^a	1.09 ± 0.41 ^b	0.50 ± 0.08 ^b	0.97	1.13 ± 0.39 ^b	0.99 ± 0.26 ^c	0.00 ± 0.00 ^b	0.98	2.42 ± 0.46 ^a
Y BP	1.00 ± 0.01 ^e	0.43 ± 0.00 ^a	0.99	1.97 ± 0.25 ^a	1.20 ± 0.07 ^b	0.44 ± 0.27 ^b	0.95	2.12 ± 0.07 ^a	-	-	-	-
Y LA BP	1.06 ± 0.06 ^e	0.47 ± 0.28 ^a	0.99	1.87 ± 0.09 ^a	0.69 ± 0.07 ^c	0.16 ± 0.07 ^b	0.94	1.02 ± 0.36 ^b	1.11 ± 0.25 ^c	0.57 ± 0.61 ^a	0.97	2.15 ± 0.96 ^a
Y AC BP	1.18 ± 0.01 ^d	0.00 ± 0.00 ^b	0.98	2.68 ± 0.66 ^a	0.36 ± 0.18 ^c	1.31 ± 0.21 ^a	0.93	0.75 ± 0.65 ^b	0.34 ± 0.03 ^e	0.00 ± 0.00 ^b	0.90	1.19 ± 0.44 ^b
Y OX BP	1.22 ± 0.02 ^d	0.07 ± 0.10 ^b	0.97	2.56 ± 0.27 ^a	0.97 ± 0.20 ^b	0.76 ± 1.08 ^b	0.96	1.64 ± 0.97 ^a	2.58 ± 0.47 ^a	0.15 ± 0.16 ^b	0.99	3.11 ± 0.85 ^a
Y OS BP	1.53 ± 0.09 ^c	0.11 ± 0.16 ^b	0.99	2.46 ± 0.63 ^a	0.55 ± 0.02 ^c	1.27 ± 0.64 ^a	0.88	0.90 ± 0.33 ^b	0.49 ± 0.05 ^e	0.00 ± 0.00 ^b	0.97	1.97 ± 0.13 ^a

Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Zero values mean no lag phase presence.

* Growth Potential (GP) means the increase in the numbers of colonies units after fermentation process.

Abbreviation's: Y = natural yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; Y AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* yogurt; Y AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; Y AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt.

Table 5: *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* counts (log CFU/mL) in natural, orange by-product and buriti pulp yogurt samples during storage at 4 °C.

Samples/Days	<i>Streptococcus thermophilus</i> (log CFU/mL)				<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (log CFU/mL)			
	0	7	14	21	0	7	14	21
Y	9.13 ± 0.16 ^{aA}	8.71 ± 0.03 ^{bA}	8.71 ± 0.71 ^{aA}	9.11 ± 0.19 ^{aA}	4.75 ± 0.15 ^{aA}	4.11 ± 0.05 ^{bA}	4.26 ± 0.07 ^{aA}	3.84 ± 0.79 ^{bA}
Y LA	9.26 ± 0.09 ^{aA}	9.30 ± 0.06 ^{aA}	9.22 ± 0.09 ^{aA}	9.18 ± 0.19 ^{aA}	5.22 ± 0.25 ^{aA}	4.98 ± 0.34 ^{bA}	3.97 ± 0.60 ^{aA}	4.74 ± 2.21 ^{bA}
Y AC	9.15 ± 0.30 ^{aA}	9.26 ± 0.50 ^{aA}	9.21 ± 0.02 ^{aA}	8.64 ± 0.58 ^{bA}	5.33 ± 0.37 ^{aA}	5.83 ± 0.07 ^{aA}	5.43 ± 1.20 ^{aA}	5.25 ± 1.06 ^{bA}
Y OX	9.28 ± 0.47 ^{aA}	9.30 ± 0.01 ^{aA}	8.65 ± 0.54 ^{aA}	9.27 ± 0.10 ^{aA}	5.06 ± 0.43 ^{aA}	4.62 ± 0.98 ^{bA}	5.07 ± 0.37 ^{aA}	5.36 ± 1.02 ^{bA}
Y OS	9.32 ± 0.03 ^{aA}	9.45 ± 0.04 ^{aA}	9.06 ± 0.46 ^{aA}	9.27 ± 0.00 ^{aA}	5.27 ± 0.17 ^{aA}	5.76 ± 0.43 ^{aA}	5.27 ± 1.36 ^{aA}	5.82 ± 0.27 ^{aA}
Y OB	8.79 ± 0.12 ^{aA}	9.05 ± 0.14 ^{aA}	9.07 ± 0.06 ^{aA}	9.01 ± 0.06 ^{aA}	5.47 ± 0.11 ^{aA}	5.73 ± 0.11 ^{aA}	5.50 ± 0.33 ^{aA}	5.08 ± 0.32 ^{bA}
Y LA OB	9.07 ± 0.13 ^{aA}	8.89 ± 0.05 ^{aA}	8.89 ± 0.08 ^{aA}	9.09 ± 0.01 ^{aA}	4.81 ± 0.76 ^{aA}	3.47 ± 1.09 ^{bB}	5.04 ± 0.41 ^{aA}	5.26 ± 1.41 ^{bA}
Y AC OB	8.73 ± 0.21 ^{aA}	8.45 ± 0.29 ^{bA}	8.83 ± 0.27 ^{aA}	8.16 ± 0.54 ^{bA}	4.93 ± 0.54 ^{aA}	4.61 ± 1.86 ^{bA}	5.14 ± 1.02 ^{aA}	5.50 ± 1.12 ^{aA}
Y OX OB	8.97 ± 0.04 ^{aA}	9.10 ± 0.09 ^{aA}	8.85 ± 0.38 ^{aA}	9.01 ± 0.11 ^{aA}	4.83 ± 0.84 ^{aA}	5.66 ± 1.04 ^{aA}	6.29 ± 0.29 ^{aA}	6.09 ± 0.02 ^{aA}
Y OS OB	8.88 ± 0.25 ^{aA}	9.00 ± 0.06 ^{aA}	8.87 ± 0.33 ^{aA}	9.12 ± 0.10 ^{aA}	5.43 ± 0.25 ^{aA}	6.23 ± 0.13 ^{aA}	5.74 ± 0.50 ^{aA}	5.90 ± 0.63 ^{aA}
Y BP	9.02 ± 0.15 ^{aA}	9.04 ± 0.19 ^{aA}	9.12 ± 0.04 ^{aA}	9.18 ± 0.12 ^{aA}	5.15 ± 0.78 ^{aA}	5.69 ± 0.08 ^{aA}	5.48 ± 0.14 ^{aA}	5.06 ± 0.17 ^{bA}
Y LA BP	8.87 ± 0.08 ^{aA}	8.99 ± 0.01 ^{bA}	8.61 ± 0.04 ^{aA}	8.73 ± 0.62 ^{bA}	4.77 ± 0.83 ^{aA}	4.53 ± 1.49 ^{bA}	5.31 ± 0.64 ^{aA}	4.84 ± 0.02 ^{bA}
Y AC BP	9.18 ± 0.18 ^{aA}	8.22 ± 1.47 ^{bB}	8.74 ± 0.39 ^{aA}	8.81 ± 0.43 ^{bA}	5.71 ± 0.44 ^{aA}	6.02 ± 0.52 ^{aA}	6.30 ± 0.03 ^{aA}	6.00 ± 0.33 ^{aA}
Y OX BP	9.31 ± 0.12 ^{aA}	8.79 ± 0.44 ^{bA}	9.20 ± 0.10 ^{aA}	9.23 ± 0.14 ^{aA}	5.93 ± 0.29 ^{aA}	6.20 ± 0.13 ^{aA}	6.26 ± 0.05 ^{aA}	6.33 ± 0.14 ^{aA}
Y OS BP	9.19 ± 0.07 ^{aA}	8.98 ± 0.49 ^{aA}	8.85 ± 0.02 ^{aA}	9.09 ± 0.37 ^{aA}	5.75 ± 0.47 ^{aA}	6.31 ± 0.10 ^{aA}	6.20 ± 0.11 ^{aA}	6.44 ± 0.17 ^{aA}

Different lowercase letters indicate significantly different averages in the same column and different uppercase letters indicate significantly different averages in the same row ($p < 0.05$).

Abbreviation's: Y = natural yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; Y AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* yogurt; Y AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; Y AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt.

Table 6: *L. acidophilus* counts (log CFU/mL) in natural, orange by-product and buriti pulp fermented milk and yogurt samples during storage at 4 °C.

Sample/Days	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (log CFU/mL)			
	0	7	14	21
LA C	8.22 ± 0.03 ^{a A}	8.09 ± 0.02 ^{a A}	7.86 ± 0.18 ^{a A}	7.87 ± 0.19 ^{a A}
LA AC	8.20 ± 0.00 ^{a A}	8.63 ± 0.19 ^{a A}	8.46 ± 0.14 ^{a A}	8.23 ± 0.64 ^{a A}
LA OX	8.20 ± 0.09 ^{a A}	8.28 ± 0.15 ^{a A}	8.01 ± 0.49 ^{a A}	8.25 ± 0.16 ^{a A}
LA OS	8.36 ± 0.15 ^{a A}	7.41 ± 0.89 ^{b A}	7.99 ± 0.24 ^{a A}	8.15 ± 0.10 ^{a A}
LA OB	8.41 ± 0.03 ^{a A}	8.50 ± 0.47 ^{a A}	7.79 ± 0.39 ^{a A}	7.87 ± 0.49 ^{a A}
LA AC OB	8.43 ± 0.06 ^{a A}	8.49 ± 0.01 ^{a A}	8.64 ± 0.45 ^{a A}	8.23 ± 0.07 ^{a A}
LA OX OB	8.37 ± 0.13 ^{a A}	8.19 ± 0.12 ^{a A}	8.03 ± 0.37 ^{a A}	7.98 ± 0.38 ^{a A}
LA OS OB	8.52 ± 0.01 ^{a A}	8.50 ± 0.18 ^{a A}	8.36 ± 0.17 ^{a A}	8.33 ± 0.11 ^{a A}
LA BP	8.50 ± 0.03 ^{a A}	8.31 ± 0.11 ^{a A}	8.55 ± 0.14 ^{a A}	8.45 ± 0.13 ^{a A}
LA AC BP	8.56 ± 0.04 ^{a A}	8.50 ± 0.11 ^{a A}	8.52 ± 0.16 ^{a A}	8.57 ± 0.03 ^{a A}
LA OX BP	8.39 ± 0.10 ^{a A}	8.41 ± 0.07 ^{a A}	8.36 ± 0.08 ^{a A}	8.24 ± 0.03 ^{a A}
LA OS BP	8.25 ± 0.19 ^{a A}	8.28 ± 0.22 ^{a A}	8.26 ± 0.13 ^{a A}	8.30 ± 0.02 ^{a A}
Y LA	7.04 ± 0.48 ^{b A}	7.21 ± 0.11 ^{b A}	7.05 ± 0.44 ^{b A}	6.90 ± 0.35 ^{b A}
Y AC	7.91 ± 0.20 ^{a A}	8.00 ± 0.04 ^{a A}	7.95 ± 0.10 ^{a A}	7.86 ± 0.24 ^{a A}
Y OX	6.41 ± 0.08 ^{c A}	6.65 ± 0.07 ^{b A}	6.26 ± 0.40 ^{b A}	6.11 ± 0.06 ^{b A}
Y OS	6.82 ± 0.69 ^{b A}	6.98 ± 0.54 ^{b A}	6.77 ± 0.78 ^{b A}	6.25 ± 0.52 ^{b A}
Y LA OB	7.92 ± 0.04 ^{a A}	7.84 ± 0.46 ^{a A}	8.17 ± 0.03 ^{a A}	6.51 ± 0.66 ^{b B}
Y AC OB	8.24 ± 0.17 ^{a A}	8.35 ± 0.08 ^{a A}	7.91 ± 0.34 ^{a A}	7.91 ± 0.13 ^{a A}
Y OX OB	5.90 ± 0.26 ^{c A}	6.06 ± 0.09 ^{c A}	5.94 ± 0.09 ^{c A}	4.76 ± 1.07 ^{c B}
Y OS OB	6.60 ± 0.55 ^{b A}	6.94 ± 0.40 ^{b A}	6.74 ± 0.48 ^{b A}	6.17 ± 0.13 ^{b A}
Y LA BP	7.50 ± 0.16 ^{a A}	7.65 ± 0.14 ^{a A}	7.78 ± 0.20 ^{a A}	7.81 ± 0.03 ^{a A}
Y AC BP	7.92 ± 0.35 ^{a A}	8.00 ± 0.28 ^{a A}	8.06 ± 0.48 ^{a A}	7.94 ± 0.48 ^{a A}
Y OX BP	6.20 ± 0.97 ^{c A}	6.70 ± 0.36 ^{b A}	6.43 ± 1.15 ^{b A}	6.29 ± 1.34 ^{b A}
Y OS BP	6.12 ± 0.65 ^{c A}	5.70 ± 0.10 ^{c A}	5.98 ± 0.67 ^{c A}	5.72 ± 0.62 ^{b A}

Different lowercase letters indicate significantly different averages in the same column and different uppercase letters indicate significantly different averages in the same row ($p < 0.05$). Abbreviation's: LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; LA AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* fermented milk; LA AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; : Y = natural yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; Y AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* yogurt; Y AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX OB =

orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; Y AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt.

Table 7: pH and titratable acidity of natural, orange by-product and buriti pulp fermented milk and yogurt samples during storage at 4 °C.

Sample/Days	pH				Titratable Acidity (g lactic acid/100 mL)			
	0	7	14	21	0	7	14	21
LA C	4.69 ± 0.02 ^{aA}	4.69 ± 0.03 ^{aA}	4.59 ± 0.08 ^{aA}	4.03 ± 0.02 ^{cB}	0.62 ± 0.00 ^{bA}	0.66 ± 0.01 ^{bA}	0.73 ± 0.00 ^{cA}	0.75 ± 0.03 ^{cA}
LA AC	4.65 ± 0.05 ^{aA}	4.45 ± 0.12 ^{bB}	4.25 ± 0.32 ^{cC}	4.43 ± 0.07 ^{aB}	0.72 ± 0.00 ^{aB}	0.77 ± 0.00 ^{bB}	0.85 ± 0.07 ^{bA}	0.91 ± 0.04 ^{bA}
LA OX	4.72 ± 0.07 ^{aA}	4.54 ± 0.34 ^{aB}	4.48 ± 0.19 ^{bB}	4.17 ± 0.08 ^{bC}	0.61 ± 0.06 ^{bB}	0.66 ± 0.07 ^{bB}	0.76 ± 0.08 ^{cA}	0.83 ± 0.14 ^{cA}
LA OS	4.63 ± 0.01 ^{aA}	4.43 ± 0.39 ^{bA}	4.60 ± 0.03 ^{aA}	4.53 ± 0.08 ^{aA}	0.66 ± 0.04 ^{bA}	0.70 ± 0.01 ^{bA}	0.72 ± 0.07 ^{cA}	0.81 ± 0.02 ^{cA}
LA OB	4.61 ± 0.05 ^{aA}	4.50 ± 0.01 ^{aA}	4.46 ± 0.02 ^{bA}	4.43 ± 0.02 ^{aA}	0.60 ± 0.07 ^{bB}	0.66 ± 0.08 ^{bB}	0.68 ± 0.03 ^{cB}	0.78 ± 0.03 ^{cA}
LA AC OB	4.50 ± 0.19 ^{aA}	4.49 ± 0.04 ^{aA}	4.49 ± 0.05 ^{bA}	4.35 ± 0.03 ^{aA}	0.63 ± 0.08 ^{bB}	0.77 ± 0.10 ^{bA}	0.77 ± 0.06 ^{cA}	0.78 ± 0.00 ^{cA}
LA OX OB	4.54 ± 0.08 ^{aA}	4.51 ± 0.04 ^{aA}	4.51 ± 0.01 ^{bA}	4.39 ± 0.13 ^{aA}	0.67 ± 0.00 ^{bA}	0.75 ± 0.05 ^{bA}	0.79 ± 0.04 ^{cA}	0.79 ± 0.05 ^{cA}
LA OS OB	4.53 ± 0.10 ^{aA}	4.48 ± 0.05 ^{aA}	4.36 ± 0.05 ^{cB}	4.37 ± 0.04 ^{aB}	0.73 ± 0.03 ^{aB}	0.69 ± 0.11 ^{bB}	0.70 ± 0.07 ^{cB}	0.86 ± 0.11 ^{bA}
LA BP	4.55 ± 0.07 ^{aA}	4.58 ± 0.08 ^{aA}	4.37 ± 0.01 ^{cB}	4.42 ± 0.02 ^{aB}	0.72 ± 0.04 ^{aB}	0.78 ± 0.01 ^{bB}	0.92 ± 0.07 ^{bA}	0.86 ± 0.02 ^{bA}
LA AC BP	4.63 ± 0.03 ^{aA}	4.59 ± 0.02 ^{aA}	4.40 ± 0.15 ^{cB}	4.38 ± 0.06 ^{aB}	0.72 ± 0.06 ^{aA}	0.80 ± 0.08 ^{aA}	0.85 ± 0.08 ^{bA}	0.87 ± 0.02 ^{bA}
LA OX BP	4.60 ± 0.02 ^{aA}	4.56 ± 0.01 ^{aA}	4.46 ± 0.04 ^{bB}	4.39 ± 0.07 ^{aB}	0.76 ± 0.04 ^{aB}	0.76 ± 0.00 ^{bB}	0.89 ± 0.10 ^{bA}	0.94 ± 0.04 ^{bA}
LA OS BP	4.61 ± 0.00 ^{aA}	4.68 ± 0.07 ^{aA}	4.65 ± 0.02 ^{aA}	4.51 ± 0.04 ^{aA}	0.79 ± 0.08 ^{aA}	0.73 ± 0.01 ^{bA}	0.76 ± 0.03 ^{cA}	0.87 ± 0.05 ^{bA}
Y	4.70 ± 0.04 ^{aA}	4.49 ± 0.06 ^{aB}	4.46 ± 0.04 ^{bB}	4.41 ± 0.12 ^{aB}	0.68 ± 0.00 ^{bB}	0.83 ± 0.01 ^{aA}	0.86 ± 0.01 ^{bA}	0.83 ± 0.00 ^{cA}
Y LA	4.66 ± 0.02 ^{aA}	4.42 ± 0.01 ^{bB}	4.41 ± 0.04 ^{cB}	4.48 ± 0.06 ^{aB}	0.78 ± 0.05 ^{aA}	0.89 ± 0.05 ^{aA}	0.91 ± 0.02 ^{bA}	0.90 ± 0.01 ^{bA}
Y AC	4.65 ± 0.09 ^{aA}	4.50 ± 0.05 ^{aB}	4.37 ± 0.10 ^{cB}	4.41 ± 0.05 ^{aB}	0.78 ± 0.07 ^{aA}	0.79 ± 0.10 ^{bA}	0.82 ± 0.08 ^{bA}	0.81 ± 0.02 ^{cA}
Y OX	4.69 ± 0.00 ^{aA}	4.50 ± 0.01 ^{aB}	4.47 ± 0.02 ^{bB}	4.39 ± 0.06 ^{aB}	0.78 ± 0.05 ^{aA}	0.83 ± 0.04 ^{aA}	0.88 ± 0.04 ^{bA}	0.82 ± 0.14 ^{cA}
Y OS	4.71 ± 0.03 ^{aA}	4.50 ± 0.01 ^{aB}	4.46 ± 0.04 ^{bB}	4.43 ± 0.02 ^{aB}	0.76 ± 0.06 ^{aA}	0.72 ± 0.00 ^{bA}	0.79 ± 0.06 ^{cA}	0.75 ± 0.01 ^{cA}
Y OB	4.59 ± 0.05 ^{aA}	4.29 ± 0.01 ^{bB}	4.22 ± 0.03 ^{cB}	4.19 ± 0.04 ^{bB}	0.69 ± 0.05 ^{bB}	0.78 ± 0.02 ^{bB}	0.85 ± 0.10 ^{bA}	0.90 ± 0.06 ^{bA}
Y LA OB	4.52 ± 0.08 ^{aA}	4.34 ± 0.02 ^{bB}	4.29 ± 0.01 ^{cB}	4.24 ± 0.04 ^{bB}	0.70 ± 0.04 ^{bA}	0.81 ± 0.10 ^{aA}	0.82 ± 0.03 ^{bA}	0.80 ± 0.04 ^{cA}
Y AC OB	4.66 ± 0.02 ^{aA}	4.51 ± 0.04 ^{aB}	4.45 ± 0.03 ^{bB}	4.33 ± 0.16 ^{aB}	0.65 ± 0.03 ^{bA}	0.78 ± 0.05 ^{bA}	0.74 ± 0.03 ^{cA}	0.77 ± 0.07 ^{cA}
Y OX OB	4.63 ± 0.04 ^{aA}	4.37 ± 0.02 ^{bB}	4.32 ± 0.06 ^{cB}	4.26 ± 0.07 ^{bB}	0.71 ± 0.00 ^{aB}	0.82 ± 0.04 ^{aA}	0.86 ± 0.06 ^{bA}	0.84 ± 0.07 ^{cA}
Y OS OB	4.57 ± 0.04 ^{aA}	4.39 ± 0.03 ^{bB}	4.33 ± 0.06 ^{cB}	4.24 ± 0.06 ^{bB}	0.65 ± 0.07 ^{bB}	0.80 ± 0.03 ^{aA}	0.84 ± 0.04 ^{bA}	0.81 ± 0.04 ^{cA}
Y BP	4.63 ± 0.03 ^{aA}	4.42 ± 0.01 ^{bB}	4.37 ± 0.02 ^{cB}	4.35 ± 0.05 ^{aB}	0.77 ± 0.06 ^{aC}	0.92 ± 0.04 ^{aB}	1.05 ± 0.11 ^{aA}	1.08 ± 0.01 ^{aA}
Y LA BP	4.66 ± 0.04 ^{aA}	4.43 ± 0.00 ^{bB}	4.40 ± 0.02 ^{cB}	4.33 ± 0.06 ^{aB}	0.81 ± 0.02 ^{aA}	0.88 ± 0.00 ^{aA}	0.97 ± 0.04 ^{aA}	0.92 ± 0.12 ^{bA}
Y AC BP	4.67 ± 0.02 ^{aA}	4.39 ± 0.00 ^{bB}	4.29 ± 0.06 ^{cB}	4.28 ± 0.03 ^{bB}	0.73 ± 0.02 ^{aB}	0.90 ± 0.06 ^{aA}	0.90 ± 0.08 ^{bA}	0.88 ± 0.01 ^{bA}
Y OX BP	4.58 ± 0.02 ^{aA}	4.41 ± 0.04 ^{bB}	4.35 ± 0.00 ^{cB}	4.38 ± 0.09 ^{aB}	0.70 ± 0.07 ^{bB}	0.84 ± 0.07 ^{aA}	0.83 ± 0.06 ^{bA}	0.86 ± 0.04 ^{bA}

Y OS BP	4.60 ± 0.05 ^{aA}	4.40 ± 0.01 ^{bB}	4.33 ± 0.01 ^{cB}	4.38 ± 0.09 ^{aB}	0.69 ± 0.06 ^{bB}	0.91 ± 0.11 ^{aA}	0.78 ± 0.04 ^{cB}	0.86 ± 0.11 ^{bA}
----------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------------------

Different lowercase letters indicate significantly different averages in the same column and different uppercase letters indicate significantly different averages in the same row (p < 0.05).

Abbreviation's: LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; LA AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* fermented milk; LA AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress fermented milk; LA OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; LA OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress fermented milk; : Y = natural yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; Y AC = natural *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX = natural *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS = natural *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* yogurt; Y AC OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; Y AC BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to acid stress yogurt; Y OX BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to oxidative stress yogurt; Y OS BP = buriti pulp *L. acidophilus* submitted to osmotic stress yogurt.

10 SUPPLEMENTARY DATA

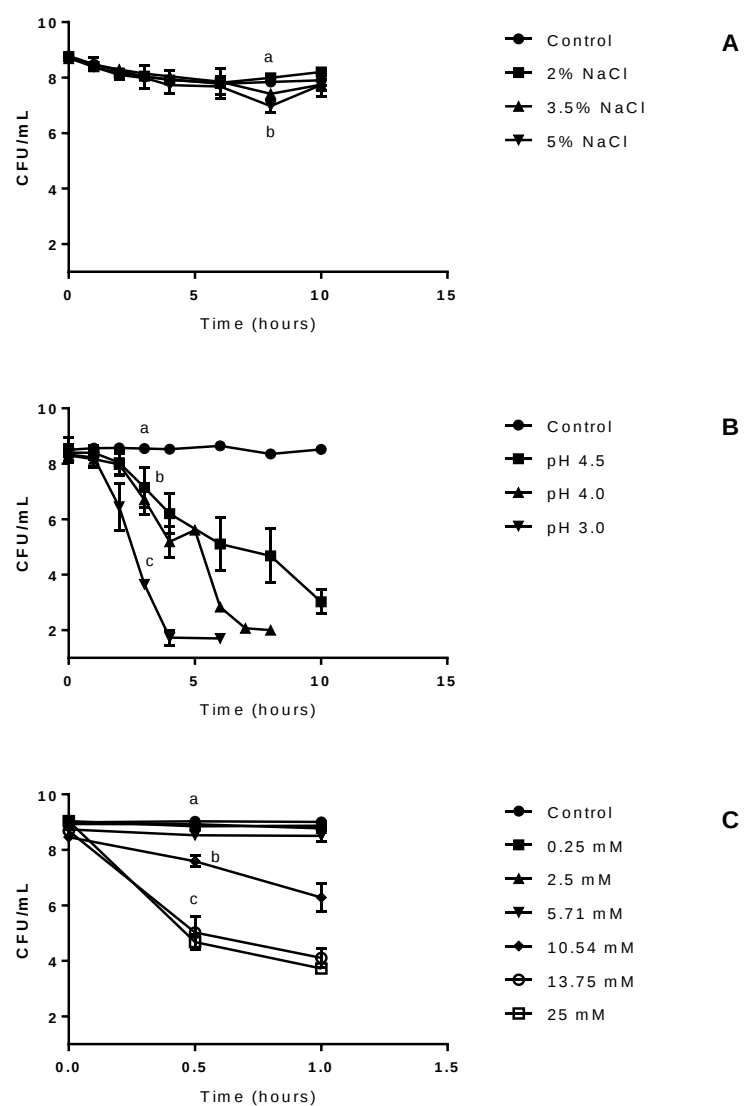


Figure 1. *L. acidophilus* pre-exposure on osmotic (A), acidic (B), and oxidative (C) sublethal stress conditions.

Table 1. Loss of cell viability of *L. acidophilus* when exposed to osmotic, acid or oxidative stress conditions.

Stress type	log (N/N0)							
	Osmotic (NaCl)					Acidic		
	Concentration/ Time (h)	0 %	2 %	3.5 %	5 %	pH 5.7	pH 4.5	pH 4.0
1	-0.30 ± 0.44	-0.37 ± 0.07	-0.22 ± 0.11	-0.32 ± 0.18	0.06 ± 0.58	0.00 ± 0.08	-0.13 ± 0.42	-0.11 ± 0.02
2	-0.53 ± 0.58	-0.59 ± 0.30	-0.39 ± 0.18	-0.61 ± 0.35	0.07 ± 0.41	-0.36 ± 0.18	-0.32 ± 0.52	-1.89 ± 0.79
3	-0.76 ± 0.72	-0.71 ± 0.09	-0.54 ± 0.24	-0.72 ± 0.18	0.05 ± 0.43	-1.26 ± 0.59	-1.60 ± 0.74	-4.68 ± 0.42
4	-0.88 ± 0.79	-0.85 ± 0.26	-0.64 ± 0.43	-0.97 ± 0.55	0.02 ± 0.45	-2.20 ± 0.58	-3.12 ± 0.77	-6.60 ± 0.04
6	-1.00 ± 0.87	-0.95 ± 0.29	-0.83 ± 0.44	-1.02 ± 0.49	0.14 ± 0.53	-3.29 ± 0.90	-5.47 ± 0.09	-6.64 ± 0.42
8	-0.94 ± 0.36	-0.77 ± 0.38	-1.27 ± 0.11	-1.73 ± 0.42	-0.16 ± 0.63	-3.72 ± 0.95	-6.30 ± 0.03	<N0*
10	-0.88 ± 0.15	-0.56 ± 0.30	-0.94 ±0.79	-0.97 ± 0.17	0.01 ± 0.63	-5.38 ± 1.03	<N0	<N0
		Oxidative (H ₂ O ₂)						
		0 mM	0.25 mM	2.5 mM	5.71 mM	10.54 mM	13.75 mM	25 mM
0.5	0.03 ± 0.01	-0.19 ± 0.00	-0.01 ± 0.49	-0.21 ± 0.14	-0.88 ± 0.26	-3.66 ± 0.67	-4.35 ± 0.50	
1	0.01 ± 0.18	-0.17 ± 0.01	-0.16 ± 0.42	-0.23 ± 0.16	-2.18 ± 0.69	-4.58 ± 0.31	-5.31 ± 0.21	

* <N0 lower than the initial microbial count, countless number.

CAPÍTULO 2: *Lactobacillus acidophilus* submetido à diferentes condições de estresse impacta na produção de metabólitos voláteis e bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em lácteos fermentados

***Lactobacillus acidophilus* submetido à diferentes condições de estresse impacta na produção de metabólitos voláteis e bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em lácteos fermentados**

Juliana Silva da Graça^a, Joyce Grazielle Siqueira Silva^a, Laísa Gomes Dias^a, Ana Augusta Odorissi Xavier^a, Elenilson G. Alves Filho^{cd}, Edy S. de Brito^c, Sueli Rodrigues^d, Juliana Azevedo Lima Pallone^a, Lilian Regina Barros Mariutti^b, Adriana Zerlotti Mercadante^a, Anderson de Souza Sant'ana^a

^a Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^b Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^c Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra Sara Mesquita, 2270, Pici, 60511-110 Fortaleza, CE, Brasil.

^d Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Bloco 858, 60440-900 Fortaleza, CE, Brasil.

*Autor correspondente: Prof. Anderson de Souza Sant'Ana: and@unicamp.br

Rua Monteiro Lobato, 80. Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP: 13083-862. Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

A fortificação de alimentos é uma prática muito utilizada na melhora da ingestão de nutrientes essenciais e na redução de deficiências nutricionais no mundo. Produtos fermentados probióticos são alimentos amplamente consumidos e tem sido muito utilizados como veículos de nutrientes como vitaminas, minerais e fibras. Além disso, a utilização de probióticos pré-submetidos às condições de estresse e seu impacto na fermentação de produtos fortificados ainda não foi estudada. Assim, este trabalho avaliou o impacto da fermentação com *L. acidophilus* pré-submetido às condições de estresse na produção de metabólitos voláteis/não voláteis e na bioacessibilidade de nutrientes em leites fermentados e iogurtes fortificados com bagaço de laranja (cálcio) e polpa de buriti (carotenoides). A produção de metabólitos voláteis e não voláteis foi analisada por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A bioacessibilidade de cálcio e carotenoides foi analisada por ensaios *in vitro* de digestão gastrointestinal (diálise e micelização, respectivamente). Os resultados demonstraram que a fermentação com *L. acidophilus* submetido às condições de estresse ácido, osmótico e oxidativo aumentou a produção de voláteis como álcoois superiores e compostos derivados do catabolismo de aminoácidos. A utilização deste micro-organismo submetido ao estresse osmótico e oxidativo aumentou também a bioacessibilidade de cálcio em leites fermentados naturais de 4,1% para 13,3-15,5% e nos mesmos produtos fortificados com bagaço de laranja de 5,3% para 9,3-10,8% (quando em comparação à condição não estressada). Em contrapartida, a utilização de *L. acidophilus* padrão ou submetido ao estresse oxidativo reduziu a bioacessibilidade de carotenoides nos produtos contendo polpa de buriti de 9,6% para 7,8 e 4,1% (em iogurtes); e, de 4,1% para 2,0% (em leites fermentados), quando em comparação às condições controle.

Dessa maneira, concluímos que a submissão de probióticos à condições de estresse é capaz de impactar não apenas nas características organolépticas e bioquímicas dos produtos fermentados como também na bioacessibilidade de nutrientes.

Palavras-chave: estresse microbiano, bioacessibilidade, micronutrientes, probióticos, voláteis.

1 INTRODUÇÃO

A fermentação é um processo reconhecido desde a antiguidade por garantir a preservação dos alimentos e por trazer características sensoriais agradáveis a diversos tipos de produtos (GARCIA *et al.*, 2020; LICANDRO *et al.*, 2020; PARVEZ *et al.*, 2006; TANGYU *et al.*, 2019). Ela é também associada com o aumento do valor nutricional dos alimentos, podendo levar à produção de compostos bioativos, aumentar a digestibilidade de proteínas, impactar na bioacessibilidade de nutrientes e reduzir fatores antinutricionais (AHMED *et al.*, 2020; KÅRLUND *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020; SRIVASTAVA, 2018; TANGYU *et al.*, 2019). Desta maneira, alimentos fermentados relacionam-se normalmente à produtos saudáveis e naturais sendo amplamente consumidos ao redor do mundo (MARCO *et al.*, 2017; REZAC *et al.*, 2018; SRIVASTAVA, 2018).

Bactérias ácido lácticas possuem importante papel na fermentação de produtos de origem animal e vegetal, sendo amplamente aplicadas na fabricação de alimentos fermentados (BINTSIS, 2018; KÅRLUND *et al.*, 2020; REZAC *et al.*, 2018). Além disso, a utilização de bactérias ácido lácticas probióticas em produtos lácteos fermentados é muito comum, principalmente pelo consumo destes micro-organismos estarem

relacionados a benefícios a saúde (HASAN; SULTAN; MAR-E-UM, 2014; PARVEZ *et al.*, 2006; WIDYASTUTI; ROHMATUSSOLIHAT; FEBRISANTOSA, 2014).

Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HILL *et al.*, 2014). Desta maneira, é conhecido que para conferirem os benefícios mencionados estes micro-organismos precisam encontrar-se viáveis e em quantidade adequada durante todo o processo de fabricação e armazenamento dos produtos nos quais forem veiculados (LAHTINEN, 2012; TERPOU *et al.*, 2019). A aplicação de probióticos em leites fermentados e iogurtes pode não ser vantajosa para a manutenção da viabilidade destes micro-organismos uma vez que são produtos de elevada acidez, baixos valores de pH, que apresentam oxigênio, e podem conter peróxido de hidrogênio e outras substâncias inibitórias geradas pelo co-cultivo com outros micro-organismos (culturas *starters*) (ELIZABETH; YEUNG; TONG, 2011; MEYBODI *et al.*, 2020; SENDRA *et al.*, 2016).

A utilização do estresse microbiano como prática para o aumento de viabilidade de culturas probióticas em produtos fermentados é uma técnica já conhecida e aplicada em diversas pesquisas (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016; TERPOU *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019). No entanto, sabe-se que a adaptação ou exposição a condições de estresse pode impactar no metabolismo microbiano das culturas utilizadas, influenciando a produção de metabólitos voláteis e não voláteis, e modificando por consequência o desempenho tecnológico das células bacterianas e as características bioquímicas e organolépticas dos alimentos produzidos (GRAÇA; FURTADO; *et al.*, 2021; SERRAZANETTI *et al.*, 2009; SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016).

A fortificação de produtos lácteos fermentados é uma estratégia que tem sido muito utilizada devido ao amplo consumo destes alimentos ao redor do mundo, os quais possibilitam o fornecimento de nutrientes importantes à saúde (GAHRUIE *et al.*, 2015; GAHRUIE; ESKANDARI; MESBAHI, 2019; LI; DING; ZHAO, 2019). O consumo de alimentos enriquecidos é conhecido pelo seu potencial na redução de deficiências nutricionais em países desenvolvidos e subdesenvolvidos (GAHRUIE *et al.*, 2015; TULCHINSKY, 2010; WHO/FAO, 2006b). Sabe-se que mundialmente as deficiências em micronutrientes chegam a atingir cerca de 2 bilhões de pessoas, sendo responsáveis por ocasionar comprometimento irreversível no desenvolvimento cognitivo e físico de crianças, além de aumentar os índices de mortalidade e morbidade no mundo (BAILEY; WEST; BLACK, 2015; DARNTON-HILL, 2018; WHO/FAO, 2006b). Dentre as formas mais comuns destas deficiências pode-se mencionar a carência em vitamina A que chega a atingir 19,1 milhões de grávidas e 190 milhões de crianças no mundo (DARNTON-HILL, 2018; ROSS; HARRISON, 2007; WHO, 2009).

A fortificação de produtos alimentícios pelo acréscimo de fontes naturais como frutas, cereais e derivados é considerada uma das melhores práticas a serem utilizadas uma vez que apresentam eficácia na melhora da ingestão de nutrientes e reduzem possíveis efeitos colaterais (GAHRUIE *et al.*, 2015; NESTLE, 2013). Os carotenoides provitamina A encontrados em frutas e vegetais representam uma das principais fontes no fornecimento de vitamina A no mundo (HASKELL, 2013). No Brasil, o alimento com a maior concentração de carotenoides provitamina A (β -caroteno) conhecido é o fruto buriti (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008).

Alguns autores também mencionam que resíduos cítricos como laranja e limão são reconhecidos por apresentarem diversos nutrientes interessantes a serem reaproveitados na produção de alimentos como fibras, minerais, carotenoides e compostos fenólicos, podendo ser utilizados na geração de alimentos de alto valor agregado (PACHECO; MORENO; VILLAMIEL, 2019; SILVA; REBELLATO; *et al.*, 2017b). Sabe-se que no mundo cerca de 14% dos alimentos são perdidos e/ou desperdiçados em sua produção (FAO, 2019) e que a produção de suco de laranja (*Citrus sinensis*), por exemplo, é estimada em 1,7 milhões de toneladas/ano podendo gerar cerca de 0,8 a 1 milhão de toneladas de resíduos (CASTRO *et al.*, 2020; USDA, 2020).

Silva e colaboradores (2017) mencionam que resíduos cítricos de laranja possuem altas concentrações de minerais como Ca com valores de bioacessibilidade chegando a atingir cerca de 21%. Entretanto, a inclusão deste subproduto em alimentos lácteos fermentados e o impacto da fermentação na bioacessibilidade de Ca ainda não foi relatado na literatura. Da mesma maneira, o impacto da fermentação da polpa de buriti na bioacessibilidade de carotenoides ainda não é conhecido. Além disso, tem-se que a bioacessibilidade dos nutrientes adicionados em produtos fortificados é um dos pré-requisitos na escolha dos fortificantes e dos alimentos adequados a veicularem estes compostos (WHO/FAO, 2006b). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da fermentação com *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) na modificação de compostos voláteis e não voláteis e na bioacessibilidade de cálcio (bagaço de laranja) e carotenoides (polpa de buriti) em leites fermentados e iogurtes fortificados com produtos naturais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção de iogurtes e leites fermentados

2.1.1 Escolha das condições subletais de estresse

As condições subletais de estresse ácido, osmótico e oxidativo utilizadas foram determinadas preliminarmente conforme o descrito por Graça e colaboradores (2021a). As condições escolhidas (concentração e tempo) ocasionaram em perdas significativas de viabilidade celular da cepa probiótica *Lactobacillus acidophilus* quando comparadas à condição controle, cultivada aerobiamente em caldo MRS pelo mesmo tempo de exposição utilizado para cada tipo de estresse analisado (dados não mostrados). As condições utilizadas estão demonstradas na tabela 1.

2.1.2 Preparo das culturas probiótica e *starter*

As culturas liofilizadas utilizadas foram: YF-L812 (cultura *starter*) e *L. acidophilus* cepa DSM 13241, Nu-trish® LA-5® (cultura probiótica) (Chr. Hansen, Hoersholm, Dinamarca). O preparo das culturas *starter* e probiótica; a aplicação de *L. acidophilus* nas condições de estresse e, a inclusão destes micro-organismos no leite para a produção dos iogurtes e leites fermentados seguiu conforme descrito por Graça e colaboradores (2021a). Sendo, a cultura *starter* pré-ativada em leite desnatado (Molico, Nestlé, Brasil) e a cultura probiótica pré-cultivada em caldo MRS (Accumedia, Michigan, USA).

2.1.3 Fermentação

O preparo dos iogurtes e leites fermentados; o design do experimento e, o pré-processamento das matérias-primas utilizadas na produção da polpa de buriti liofilizada e farinha de bagaço de laranja foram descritos por Graça e colaboradores

(2021a). Doze formulações de leite fermentado e quinze formulações de iogurte foram produzidas através da combinação: cultura *starter* e/ou probiótica (submetida ou não à condições de estresse: ácido, oxidativo ou osmótico), e, presença ou ausência de bagaço de laranja ou polpa de buriti. A fermentação ocorreu através da incubação das formulações, aliquotadas em tubos falcon de 15 mL, em banho-maria (Tecnal TE-057, Piracicaba, Brasil) à 42 °C até que se atingisse o pH de 4,6. Para a produção dos iogurtes e leites fermentados utilizou-se leite UHT integral forti+ (Ninho®, Nestlé, Brasil).

A incorporação da farinha de bagaço de laranja ou polpa de buriti liofilizada ocorreu com o auxílio do homogeneizador Ika Ultra-Turrax Homogenizer T-18 (Ika Works Inc., Wilmington, USA), utilizando-se as concentrações de 5 e 2,55 % (m/v), respectivamente (concentrações selecionadas de acordo com ensaios prévios). As formulações contendo polpa de buriti liofilizada foram acrescidas de 0,2% do estabilizante goma xantana para evitar a separação de fases.

Após a fermentação, os produtos foram resfriados em banho de gelo até a temperatura de 10 °C e congelados a - 20 °C para a realização de análises posteriores.

2.2 Produção de compostos voláteis

A produção de compostos voláteis nos iogurtes e leites fermentados foram avaliadas utilizando-se a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC-MS). Os compostos voláteis foram extraídos da matriz do iogurte pelo processo de Microextração em fase sólida (SPME) conforme descrito por Batista e colaboradores (2015), com modificações. Inicialmente, foram pesados 2 g de iogurte em vials de 20 mL. Aos vials foram adicionados 2 mL de solução salina saturada. A mistura foi homogeneizada manualmente e os vials foram fechados com tampas de

septo de politetrafluoroetileno (PTFE) (Supelco Bellefonte, PA, Estados Unidos). Estes foram adicionados em alto injetor AOC-5000 (Shimadzu, Kyoto, Japão), onde um a um foram incubados por 15 min. a 40 °C. Após o término da incubação, os compostos voláteis foram adsorvidos pela fibra DVB/CAR/PDMS (Supelco Bellefonte, PA, Estados Unidos) exposta ao head space por 30 min. e, imediatamente desorvidos no injetor do cromatógrafo por 3 min. a 250 °C (CONDURSO *et al.*, 2008). Após cada desorção, a fibra foi recondicionada a 250 °C por 10 min. em fluxo de gás hélio (DOMINGOS, 2015). A fibra utilizada para adsorção dos compostos voláteis foi previamente condicionada segundo instruções do fabricante.

Os extratos foram analisados em um Cromatógrafo a gás modelo GCMS-QP2010 ultra (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com injetor do tipo splitless a 250 °C, coluna capilar RTX-Wax (Restek Bellefonte, PA, Estados Unidos) (diâmetro interno: 30 m x 0,25 mm, espessura da fase estacionária de polietileno glicol: 0,20 µm), acoplado a um Espectrômetro de Massas Workstation GCMS Solution (Shimadzu, Kyoto, Japão) com fonte de ionização por elétrons (EI) a 70 eV e 250 °C e corte de solvente de até 1,1 min. Para a identificação dos compostos foi utilizado o analisador massa/carga (m/z) tipo quadrupolo operando em modo de varredura (35-350 m/z). O gás de arraste utilizado (hélio) operou em fluxo linear constante de 1,22 mL/min. A programação de temperatura iniciou em 30 °C permanecendo por 5 min., seguida de aquecimento para 115 °C por 1 min. (10 °C/min.) e 220 °C por 12 min. (30 °C/min.), totalizando 30 min. de corrida (DOMINGOS, 2015).

Para a identificação dos compostos voláteis presentes nas amostras analisadas (em triplicata) os dados brutos obtidos foram exportados pelo software LabSolutions (Shimadzu) e espectralmente deconvoluídos. A identificação ocorreu através da comparação dos espectros de massas dos picos obtidos com a biblioteca do National

Institute of Standards and Technology (NIST) (2014) utilizando o software Unknowns-Agilent MassHunter Workstation Quantitative Analysis (versão B.06.00). O perfil de voláteis de cada uma das amostras foi então construído através da seleção manual dos compostos identificados. Além disso, para confirmação dos perfis de voláteis encontrados uma série de alcanos (C7 a C40) foi analisada utilizando a mesma coluna (Rtx-Wax) e as mesmas condições cromatográficas aplicadas para as amostras. Desta maneira, o índice de retenção (LRI) para cada composto foi calculado (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963) e comparado com os dados presentes na literatura para colunas de mesma polaridade (NIST Chemistry WebBook).

2.2.1 Avaliação dos perfis de compostos voláteis

A comparação entre o perfil de voláteis encontrados nas 27 amostras analisadas foi realizada aplicando-se a Análise de Componentes Principais (PCA). As análises estatísticas foram realizadas pela plataforma web MetaboAnalyst 4.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/home.xhtml>), onde o tratamento prévio dos dados foi o escalonamento automático. A matriz de dados utilizada na comparação entre grupos foi composta apenas das variáveis significativamente diferentes ($p < 0,05$) pela análise de variância (ANOVA) e posterior teste post-hoc de Fisher's LDS. A análise estatística multivariada por PCA teve como objetivo a análise exploratória dos dados e o reconhecimento de padrões.

2.3 Produção de compostos não voláteis

A produção de compostos não voláteis nos iogurtes e leites fermentados foi avaliada através da utilização da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Para esta caracterização, as amostras foram inicialmente liofilizadas (K105, Liotop,

São Carlos, Brasil). O pré-tratamento das amostras tentou ser o menor possível para que a composição fosse melhor representada (LU *et al.*, 2016). Portanto, o preparo consistiu na pesagem de 10 mg do iogurte liofilizado e adição de 600 μ L de solução estoque de D₂O (99,9%) contendo 1,2 mg/mL de TMSP-d₄ (Propionato de -3-trimetilsililo, 99%) e 0,1 M do tampão Na₂HPO₄/NaH₂PO₄. As soluções foram então misturadas automaticamente (Thermomixer Comfort) durante 3 min. a 25 °C e centrifugadas a 806,4 g por 3 min. (modelo micro-centrífuga HT, CM-610, Boqueirão, Paraná). O sobrenadante final seguiu para análise em tubos de RMN (5 mm). A aquisição de dados foi realizada utilizando o Espectrômetro Agilent 600-MHz (Califórnia, Estados Unidos) com detecção inversa One ProbeTM de 5 mm (H-F/15N-31P) e gradiente Z ativamente protegido.

Os espectros de ¹H RMN foram adquiridos em triplicata utilizando a sequência de pulso PRESAT para supressão de água não deuterada, dados espectrais com 32 varreduras usando 48.000 pontos no domínio do tempo para uma janela espectral de 16,0 ppm, pulso de RF calibrado para 90 ° (7,78 μ s de comprimento de pulso a 58 dB de potência), tempo de aquisição de 5,0 e atraso de reciclagem de 35,0 s (determinado pela sequência de pulso de recuperação inversão), sob temperatura controlada para 298 K. O processamento espectral foi realizado aplicando ampliação exponencial Lorentziana de 0,3 Hz e enchimento de pontos de zero a 16k antes da transformação de Fourier. A correção de fase foi realizada manualmente e a correção da linha de base automática foi aplicada em toda a faixa espectral. Os espectros foram referenciados ao desvio químico δ 0,0 do sinal simplet de TMSP-d₄.

Para a caracterização dos metabólitos foram realizados experimentos de RMN bidimensional (2D) utilizando as sequências de pulso da biblioteca de espectrometria padrão. Os experimentos de ¹H-¹H g COSY foram obtidos com largura espectral de

9.615,4 Hz em ambas as dimensões; matriz de dados 1442×200 ; 16 varreduras por incremento de t_1 e atraso de relaxamento de 1,0 s. Os experimentos usando ^1H - ^{13}C g HSQC foram adquiridos com um atraso de evolução de 3,425 ms (atraso de transferência) para uma constante de acoplamento $1J(\text{C}, \text{H})$ de 146 Hz; matriz de dados 1442×200 ; 48 varreduras por incremento t_1 ; larguras espectrais de 9.615,4 Hz em f_2 e 30.154,5 Hz em f_1 , e atraso de relaxamento de 1,0 s. Os experimentos de ^1H - ^{13}C g HMBC foram registrados com um atraso de evolução de 62,5 ms para o acoplamento da constante $LRJ(\text{C}, \text{H})$ de 8 Hz; matriz de dados 1442×200 ; 96 varreduras por incremento t_1 ; larguras espectrais de 9.615,4 Hz em f_2 e 36.182,7 Hz em f_1 , e atraso de relaxamento de 1,0 s.

2.3.1 Análise multivariada do conjunto de dados de RMN ^1H

Inicialmente, construiu-se uma matriz numérica contemplando 150 espectros de RMN ^1H da triplicata de 27 amostras e suas repetições. O intervalo espectral entre δ 0,5 e 8,6 foi selecionado resultando na matriz numérica para avaliação do final da fermentação com dimensionalidades 1.241.400 pontos de dados (150 espectros $\times$ 8.276 variáveis). Para a construção da matriz, cada espectro foi convertido em arquivos ASCII (American Standard Code for Information Interchange) e importado pelo programa Origin™ 9.4. Em seguida, a matriz foi exportada para análise quimiométrica não supervisionada usando o software PLS Toolbox (versão 8.6.2 - Eigenvector Research Inc., Manson, WA, EUA). Algoritmos para correção da linha de base, alinhamento de variáveis utilizando o método COW (Correlation Optimized Warping) com segmento de 50 pontos de dados e uma folga de 5 pontos de dados, e normalização foram aplicados sobre as variáveis (FREITAS *et al.*, 2018). Os dados das amostras foram centrados na média e o algoritmo de decomposição do valor

singular (SVD) foi aplicado para decompor a matriz para uma avaliação exploratória (não supervisionada) por PCA (Principal Component Analysis) (WISE *et al.*, 2006).

2.4 Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de cálcio

A determinação de cálcio total nas amostras de leite fermentado e iogurte naturais e com adição de bagaço de laranja seguiu o proposto por Silva *et al.* (2017a). Foram pesados 0,6 g de amostra em balança analítica modelo AP210-0 (Ohaus, Newark, EUA) seguidos da adição de 6 mL de ácido nítrico $\geq 65\%$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) e 2 mL de peróxido de hidrogênio 30% (Synth, Diadema, Brasil). As amostras foram mineralizadas em bloco digestor M242 (Quimis, Diadema, Brasil) por 4 h (2 h a 110 °C e 2 h a 130 °C). Em seguida, as amostras foram resfriadas, solubilizadas em banho sonicador modelo 1510 (Branson, Danbury, USA) por 5 min. e filtradas com papel filtro livre de cinzas (Nalgon, Itupeva, Brasil). O digerido foi transferido para balões volumétricos de 25 mL e avolumados com água ultra pura (Arium®, Sartorius, Gottingen, Alemanha). Anterior a análise de quantificação, o digerido foi adicionado de uma solução de 1% de óxido de lantânio (m/v).

As amostras digeridas foram analisadas pelo Espectrômetro de Absorção Atômica de Alta Resolução e Chama Contínua (HR-CS FAAS) com lâmpada de deutério para correção de radiação de fundo e lâmpadas catódicas ocas para determinação de cálcio (422,67 nm), modelo AAnalyst 200 (PerkinElmer, Waltham, EUA). Para a quantificação de cálcio foi construído uma curva analítica através da utilização de padrão na concentração de 1000 mg/g (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Cada amostra foi então colocada no nebulizador e misturada com ar - chama de acetileno (2,5/10 L h⁻¹) a aproximadamente 2000 °C.

A avaliação da bioacessibilidade de cálcio (método de diálise) nas amostras foi realizada conforme o descrito por Silva et al. (2017b) com modificações. Aproximadamente 2,5 g de iogurte foram pesados e homogeneizados em 20 mL de água ultra pura. O pH da mistura foi ajustado para 2,0 através da adição de uma solução de HCl 6 M. A digestão gástrica foi realizada pela adição de 3 g de solução de pepsina (1,6 g diluídos em 10 mL de HCl 0,1 M) e incubação em banho metabólico Dubnoff MA 093 (Marcone, Piracicaba, Brasil) a 37 °C por um período de 2 h. Em seguida, os erlenmeyers contendo as amostras foram colocados em banho de gelo por 10 min. para parar a digestão. A fase intestinal foi realizada através da utilização de sacos de diálise 35 x 21 x 30 mm com porosidade de 25 Å e tamanho de poro de 12.000 Da (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA). Os sacos de diálise contendo água e quantidade equivalente de NaHCO_3 para elevar o pH final das amostras para 7,2 (condições previamente testadas) foram adicionados aos erlenmeyers e incubados em banho metabólico por um período de 30 min. a 37 °C. Passados 30 min., adicionou-se à digesta 25 mL de solução de pancreatina-bile (0,4 % de pancreatina (m/v) e 2,5 % de extrato de bile (m/v) diluídos em 0,1 mol/L de NaHCO_3). As amostras foram incubadas novamente em banho metabólico por um período de 2 h a 37 °C. Terminado o processo *in vitro* de digestão, as amostras foram resfriadas e o conteúdo presente no saco de diálise foi seco em estufa com circulação de ar forçado modelo 400-3ND (Nova Ética, Vargem Grande do Sul, Brasil) a 105 °C até completa evaporação da água. As amostras de diálise secas seguiram o mesmo procedimento de mineralização descrito para a determinação de cálcio total. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Todas as enzimas foram adquiridas da empresa Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) nos respectivos códigos: extrato de bile bovina e ovina

(B8381, EC 232-3690), pepsina da mucosa gástrica suína (P7000, EC 3.4.23.1), e pancreatina da mucosa gástrica suína (P7545, EC 232-468-9).

2.5 Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de carotenoides

A extração de carotenoides ocorreu apenas nos iogurtes/leites fermentados contendo polpa de buriti, contemplando apenas uma condição de estresse de interesse (estresse oxidativo). Esta extração foi realizada conforme o descrito por Xavier et al. (2012) com modificações. Inicialmente foram pesados 2 g de iogurte/leite fermentado e adicionados 4 mL de tetrahidrofurano (Synth, Diadema, Brasil). A mistura foi homogeneizada em vórtex (AP56, Phoenix Luferco, Araraquara, Brasil) por 1 min. e centrifugada a 3500 g por 5 min. a 20 °C (Allegra TM 64R, Beckman Coulter, Califórnia, EUA). O sobrenadante foi recolhido e a operação foi repetida até completa extração dos carotenoides (indicado pela ausência de cor do sobrenadante). O extrato recolhido foi particionado para uma mistura de éter de petróleo (Synth, Diadema, Brasil) e éter etílico (Synth, Diadema, Brasil), na proporção de 1:1 (v/v), seguido de lavagem com 5 L de água destilada. O extrato foi separado e adicionado de sulfato de sódio anidro (Synth, Diadema, Brasil) para remoção de qualquer resíduo de água. Em seguida, o mesmo foi rotaevaporado (R-101 VN, Buchler Instruments, Henan Sheng, China), recolhido e congelado à -35 °C para posterior análise.

Os carotenoides da polpa de buriti liofilizada foram extraídos por maceração em almofariz utilizando acetona como solvente (Synth, Diadema, Brasil), seguido de filtração à vácuo em funil de Büchner. Posteriormente, o extrato líquido recolhido foi também particionado para uma mistura de éter de petróleo e éter etílico na proporção de 1:1 (v/v), seguido de lavagem com água destilada. A fração orgânica foi adicionada de sulfato de sódio anidro, rotaevaporada, recolhida e congelada à -35 °C para posterior análise (ROSSO; MERCADANTE, 2007).

Os carotenoides presentes nos extratos foram identificados e quantificados utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detectores de arranjo de diodos e espectrômetro de massas (HPLC-DAD-MS/MS) conforme o descrito por De Rosso & Mercadante (2007). A separação ocorreu em coluna C30 YMC (5 μ m, 250 x 4,6 mm, Waters, MA, EUA) utilizando o cromatógrafo HPLC Shimadzu (modelo Prominence UFLC, Kyoto, Japão) equipado com uma bomba binária (LC-20AD), uma unidade desgaseificadora (DGU-20A3R), um injetor automático (SIL-20AHT) e um forno (CTO-20A). O detector de arranjo de diodos (DAD) (SPD-M20A) foi ligado em série a um espectrômetro de massa (MS) (Bruker Daltonics, AmaZon speed ETD, Bremen, Alemanha) com ionização química à pressão atmosférica (APCI) e um ion-trap como analisador m/z. As fases móveis utilizadas foram compostas por misturas dos solventes metanol (Tedia, Fairfield, EUA), éter metil tert-butílico (JTBaker, New Jersey, EUA) e água de acordo com o descrito a seguir: Fase A (81:15:4, v/v/v) e B (16:80,4:3,6, v/v/v). As condições cromatográficas utilizadas foram: utilização de gradiente linear (1,0 mL/min.) de 99% a 44% de fase A em 39 min., 44% a 0% de fase A em 6 min., retornando à condição inicial (99% de fase A) em 5 min. e permanecendo nesta condição por mais 5 min., totalizando uma corrida de 55 min. A temperatura da coluna foi ajustada para 35 °C. Os espectros UV-visível foram obtidos na faixa de 250 a 650 nm, e os cromatogramas foram processados a 285 nm (fitoeno), 347 nm (fitoflueno) e 450 nm (carotenoides em geral). O espectrômetro de massas operou no modo positivo, corrente corona 4000 nA, temperatura da fonte de ionização 450 °C, temperatura do gás de secagem (N₂) 350 °C, fluxo: 5 L/min., nebulizador 60 psi. O MS/MS foi ajustado no modo automático, com 1,4 V de energia de fragmentação. Os espectros foram adquiridos em uma faixa m/z de 100 a 1000.

A identificação dos carotenoides foi realizada utilizando uma combinação dos seguintes dados: ordem de eluição na coluna C30, características dos espectros UV-visível (comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}), estrutura fina espectral (%III/II) e intensidade do pico cis (% $A_{\text{B}}/A_{\text{II}}$)), características do espectro de massa (molécula protonada $[M+H]^+$ e fragmentação MS/MS) e comparação com dados da literatura (BRITTON; LIAAEN-JENSEN; PFANDER, 2004). A quantificação dos carotenoides foi feita por curvas de calibração externa utilizando padrões de (all-*E*)- β -caroteno e (all-*E*)-luteína.

A bioacessibilidade dos carotenoides foi determinada utilizando o método *in vitro* de digestão conforme descrito por Xavier et al. (2014). Inicialmente 2 g de iogurte foram misturados com 5 mL de 200 U/mL de α -amilase (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) em CaCl_2 (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) (3,4 mM) e incubados por 1 min. a 37 °C em banho-maria (Marconi, Piracicaba, Brasil) sob agitação magnética (fase oral). A fase gástrica foi simulada posteriormente com a adição de 20 mL de 0,05% de pepsina (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) em 0,1 M HCl (pH 2,2) e incubação das amostras por 2 h a 37 °C em banho-maria sob agitação magnética. Ao final deste período de incubação as amostras foram arrefecidas em água, tiveram o pH ajustado (DM22, Digimed, São Paulo, Brasil) para 7,0 com uma solução de 5% de NaOH, foram misturadas com 30 mL de 0,3% de extrato de bile (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) em solução salina (NaCl 3M e CaCl_2 75 mM, pH 6,2), e incubadas novamente a 37 °C com agitação magnética por 30 min. As amostras foram então novamente resfriadas e misturadas com 40 mL de solução salina (NaHCO_3 0,1 M, pH 8,4) contendo 0,4% de pancreatina (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) e 0,07% de lipase (Sigma Aldrich, Missouri, EUA) e incubadas pela quarta vez a 37 °C com agitação magnética por 2 h (fase intestinal). As amostras digeridas foram centrifugadas (Avanti™ J-25, Beckman

Coulter™, Brea, USA) a 12.000 g por 5 min a 4 °C e o sobrenadante foi coletado (fração micelar).

Os carotenoides da fração micelar foram extraídos com a adição de 20 mL de éter etílico com posterior agitação em vórtex por 1 min. e adição de 10 mL de solução 10% de NaCl (Sigma, Missouri, USA) seguida de centrifugação a 12.000 × g por 5 min. a 4 °C (com intuito de auxiliar a separação das camadas de água e orgânicas). O sobrenadante foi coletado e o procedimento foi repetido até a completa extração dos carotenoides. O extrato orgânico foi então acrescido de sulfato de sódio, para remoção de qualquer resíduo de água, e em seguida rotaevaporado, recolhido e congelado a - 35 °C para posterior análise.

A identificação e quantificação de carotenoides da fração micelar foram realizadas conforme descrito acima. A bioacessibilidade dos carotenoides foi calculada como a razão entre o teor de carotenoides na fração micelar e o teor de carotenoides presente na amostra antes da digestão.

2.6 Análises Estatísticas

As análises estatísticas realizadas para a avaliação da produção de compostos voláteis e não-voláteis são descritas com detalhes nos itens 2.2 e 2.3. Para a análise estatística dos demais resultados utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), com teste posterior de Skott-Knott ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 Produção de compostos voláteis

Independentemente das diferentes formulações de iogurtes e leites fermentados produzidas foram identificados um total de 349 metabólitos voláteis,

compostos principalmente por ácidos, álcoois, aldeídos, cetonas, compostos carbonila e derivados de benzeno (dados não mostrados). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada com o objetivo de identificar as variações no perfil de metabólitos voláteis produzidos em iogurtes e leites fermentados após a utilização da cultura probiótica *L. acidophilus* pré-submetida às condições de estresse. Portanto, para facilitar a compreensão dos dados analisados e por tratarmos de produtos contendo diferentes perfis de compostos voláteis, as amostras foram divididas em 6 grupos distintos compreendendo formulações de: leite fermentado natural (Figura 1, tabela S1), iogurte natural (Figura 2, tabela S2), leite fermentado contendo polpa de buriti (Figura 3, tabela S3), iogurte contendo polpa de buriti (Figura 4, tabela S4), leite fermentado contendo bagaço de laranja (Figura 5, tabela S5), e iogurte contendo bagaço de laranja (Figura 6, tabela S6).

No geral, observou-se que a utilização do probiótico *L. acidophilus* pré-submetido às condições de estresse (ácido, osmótico e oxidativo) apresentou diferenças no perfil de voláteis de todos os produtos avaliados (leites fermentados e iogurtes contendo ou não polpa de buriti ou bagaço de laranja). Nos leites fermentados naturais (LA) e contendo bagaço de laranja (LAOB) a condição de estresse que apresentou mais similaridades à condição controle foi a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse ácido (LAAC ou LAACOB) (Figuras 1 e 5). Nos iogurtes naturais os perfis de voláteis que mais apresentaram similaridades foram os do iogurte natural contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STAC) com o iogurte natural contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (STOX) (Figura 2). Já nos iogurtes contendo polpa de buriti, a fermentação utilizando co-cultura de *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STACBP) e osmótico (STOSBP) apresentaram similaridades no perfil de compostos voláteis (Figura 4).

3.1.1 Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes naturais

No gráfico de pontuações gerais da PCA observamos que as amostras de leite fermentado natural apresentaram uma variância total de 79,4% no perfil de voláteis encontrados (Figura 1). Na PC1, uma variância de 53,5% distinguiu os perfis de voláteis presentes nas amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (LAOS) e oxidativo (LAOX) em relação às amostras fermentadas pela cepa probiótica padrão (LA) e pré-submetida ao estresse ácido (LAAC). Dentre os compostos que mais influenciaram na separação destes grupos podemos mencionar uma maior concentração de voláteis como o 1 e 2-nonanol, decanal, dimetilsulfona, e dos ácidos heptanóico, hexanóico, n-decanóico, nonanóico e octanóico nas amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* submetido aos estresses osmótico (LAOS) e oxidativo (LAOX). Além disso, a presença ou maior concentração de compostos como 1,4-butanodiol, 3-metil-1-butanol, tiolacetato de metila, prenol, ftalato dietílico e éster butílico dos ácido butanóico e 2-propenóico foram característicos nos leites fermentados por *L. acidophilus* padrão (LA) e pré-submetido ao estresse ácido (LAAC). Na PC2 (25,9%) observamos uma clara separação entre as amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (LAOS) e oxidativo (LAOX). A presença de voláteis como furfural, 2-pentil furano, 2,5-hexanediona, éster butílico do ácido 2-butenóico e alguns derivados de benzeno foi característico nas amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOX), enquanto que maior concentração ou presença de heptanal, 2-metil ácido butanóico, estireno e 2-pentanona foram determinantes para discriminar as amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (LAOS).

A utilização de *L. acidophilus* padrão e de suas células pré-submetidas ao estresse (ácido, osmótico e oxidativo) em iogurtes naturais (produzidos em co-cultura) foram responsáveis por diferenciar o perfil de metabólitos voláteis encontrado em relação ao iogurte controle (ST, produzido pela cultura *starter*) ao longo da PC1 com 51% de variância (Figura 2). A carga desta componente (PC1) indica que compostos como 2-decanona, 2-etil-1-hexanol, 2-heptanona, 2-metil- ácido propanóico, 2-heptenal (E) e 2-nonanona foram responsáveis por diferenciar os iogurtes fermentados em co-cultura (STLA e suas variações), enquanto que a presença de 3-metil-1-butanol, 1-decanol, 2,4-heptadienal (E, E), ácido dodecanóico, 2-nonenal (Z) e 2-heptenal (Z) foram determinantes para a separação do iogurte controle fermentado pela cultura *starter* (ST). A PC2 apresentou variância de 18% demonstrando diferenças na composição de voláteis presente em iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLA) e pré-submetido ao estresse osmótico (STOS) em comparação aos co-fermentados com o probiótico exposto aos estresses ácido (STAC) e oxidativo (STOX). Compostos como 2,3-pentanodiona, ácidos butanóico, hexanóico e 2-metil propanóico, octanal, e 2-heptanona foram determinantes para os iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLA) e pré-submetido ao estresse osmótico (STOS), enquanto que 2-decenal (E), 2-etil-1-hexanol, 3-octanol 3,7-dimetil-, 3-penten-2-ona (E) e dibutil ftalato foram responsáveis por diferenciar os iogurtes co-fermentado com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STAC) e oxidativo (STOX).

3.1.2 Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes contendo polpa de buriti

Os leites fermentados contendo polpa de buriti apresentaram diferentes perfis de compostos voláteis dependendo do tipo de estresse aplicado ao probiótico *L. acidophilus*, demonstrando uma variância de 48,9% em PC1 e de 23,7% em PC2 (Figura 3). Na componente 1 (PC1) observou-se a separação dos leites fermentados pela cultura probiótica padrão (LABP) e pré-submetida ao estresse osmótico (LAOSBP) dos leites fermentados pela cultura probiótica pré-submetida ao estresse ácido (LAACBP) e oxidativo (LAOXPB). A separação entre os grupos mencionados se deu principalmente pela maior concentração de éster metílico de ácido octanóico e dos ácidos heptanóico, hexanóico, n-decanóico e octanóico que foram determinantes para as amostras fermentadas pela cultura padrão (LABP) e pré-submetida ao estresse osmótico (LAOSBP), enquanto que a presença de 1-decanol, 2-butanona, 1-metoxi- 2-propanol e 2-metil ácido butanóico foi responsável pela separação dos leites fermentados por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (LAACBP) e oxidativo (LAOXPB). Além disso, a PC2 demonstra a diferença entre o perfil de metabólitos voláteis do leite fermentado com a cultura de *L. acidophilus* padrão (LABP) em relação ao produzido com a cultura pré-submetida ao estresse osmótico (LAOSBP) (considerando o carregamento positivo de PC1); e, a diferença entre a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse ácido (LAACBP) e osmótico (LAOSBP) (considerando o carregamento negativo da PC1). Dentre os compostos responsáveis por essa diferenciação podemos mencionar a presença ou maior concentração de 2-heptanal (E), isoforona, decanal e 2-pentenal (E) determinantes para as amostras fermentadas com a cultura padrão de *L. acidophilus* (LABP), enquanto que a presença ou maior concentração de voláteis como 1-penten-3-ol, 2,4-heptadienal (E, E) e 2-metil ácido

propanóico foram responsáveis pela separação das amostras fermentadas com a cultura probiótica pré-submetida ao estresse osmótico (LAOSBP). Ainda, voláteis como isoforona, 3-hexen-1-ol, 2-butoxi- etanol e 2-etoxi- etanol foram determinantes para as amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXPB), enquanto que a diferenciação da composição de voláteis nas amostras que utilizaram a cultura pré-submetida ao estresse ácido (LAACBP) se deu principalmente pela presença de ácido propanóico, 2-metil ácido propanóico, heptanal, 1-metoxi 2-propanol e 2-butanona.

Os iogurtes contendo polpa de buriti fermentados em co-cultura com *L. acidophilus* padrão e pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) também apresentaram diferenças na composição de metabólitos voláteis encontrada (Figura 4). Na componente 1 (PC1) podemos observar uma variância de 35,6% diferenciando as amostras de iogurte controle (STBP), iogurte fermentado em co-cultura com *L. acidophilus* padrão (STLABP) e pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXPB) dos iogurtes contendo a cepa probiótica pré-submetida aos estresses ácido (STACBP) e osmótico (STOSBP). A presença de 1-butanol, 2,3-pentanodiona, 2-metil- ácido butanóico, 2-penten-1-ol (Z) e 2-pentenal (E) foram os principais metabólitos responsáveis pela discriminação dos iogurtes tradicional (STBP), fermentado em co-cultura com *L. acidophilus* padrão (STLABP) e pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXPB). Já a presença ou maior concentração de 2-metil 1-propanol, ácido acético, benzenoacetaldeído, metil-éster- ácido octanóico e prenol foram determinantes para a separação das amostras fermentadas por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STACBP) e osmótico (STOSBP). Os perfis de metabólitos voláteis presentes nos iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLABP) e pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXPB) também puderam ser

diferenciados das amostras de iogurte controle (STBP) com uma variância de 28,2% (PC2). Uma maior concentração dos voláteis ácido butanóico, nonanal, 2-nonanona, octanal, 1-octanol, 3-metil-1-butanol e acetoína foram determinantes para a separação das amostras de iogurte controle (STBP), fermentada apenas pela cultura *starter*. Enquanto que a presença ou maior concentração de 3,5-octadien-2-ona, 3-metil- 3-pentanol, 2-heptenal (Z), 4-hepten-1-ol e 3-metil- benzaldeído foram responsáveis por discriminar os iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLABP) e pré submetido ao estresse oxidativo (STOXPB).

3.1.3 Produção de compostos voláteis em leites fermentados e iogurtes contendo bagaço de laranja

Os leites fermentados contendo bagaço de laranja demonstraram uma diferenciação na composição de voláteis das formulações analisadas apresentando uma variância total de 73,1% no gráfico de pontuações gerais da PCA (Figura 5). Na componente 1 (PC1) observamos uma variância de 42,4% na composição de voláteis entre a amostra de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (LAOSOB) (carregamento positivo) e as amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* padrão (LAOB) e pré-submetido ao estresse ácido (LAACOB) e oxidativo (LAOXOB) (carregamento negativo). Dentre os principais voláteis responsáveis por essa diferenciação podemos mencionar a presença ou maior concentração de 1-octen-3-ol, ácido pentanóico, terpinen-4-ol, dibutil ftalato, 2,3-octanediona e haxanal no leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (LAOSOB), enquanto que as amostras fermentadas pela cepa padrão (LAOB) e pré-submetidas aos estresses ácido (LAACOB) e oxidativo (LAOXOB) se caracterizaram pela presença ou maior concentração de ácido butanóico, decanal, ácido dodecanóico,

ácido n-decanóico, 2-nonanona e 1-heptanol. A componente 2 (PC2) demonstrou variância de 30,7% no perfil de metabólitos voláteis presentes nas amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* padrão (LAOB) ou pré-submetido ao estresse ácido (LAACOB) em comparação ao leite fermentado pelo probiótico pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXOB). A presença de nonanol, ácido undecanoico, dimetilsulfona e 1-decanol foi característica para as amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* padrão (LAOB) ou pré-submetido ao estresse ácido (LAACOB), enquanto que a presença ou maior concentração de 1-pentanol, 2-heptenal (Z), acetoína, 6-metil- 5-hepten-2-ona e 2-hidroxi- benzaldeído foi determinante para a amostra de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAAXOB).

Os iogurtes contendo bagaço de laranja, fermentados em co-cultura com a cepa probiótica (LA) padrão ou pré-submetida às condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico), apresentaram diferenças nos perfis de voláteis encontrados conforme demonstrado no gráfico de pontuações gerais da PCA com um total de 59% de variância (Figura 6). Na PC1, uma variância de 36,7% foi encontrada entre o perfil de voláteis dos iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLAOB) e pré-submetido ao estresse osmótico (STOSOB) em relação aos iogurtes controle (STOB), co-fermentado com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STACOB) e oxidativo (STOXOB). A carga desta componente demonstrou que a presença ou maior concentração de metabólitos como 1-nonanol, 1-octanol, ácido dodecanóico, terpinen-4-ol, α -pineno e γ -dodecalactona foram determinantes nos iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* padrão (STLAOB) e pré-submetido ao estresse osmótico (STOSOB), enquanto que a presença ou maior concentração de benzeneacetaldeído, acetofenona, 2-butanona, 3-penten-2-ona e 2,4-heptadienal (E, E) foram

característicos para os iogurtes controle (STOB), co-fermentado com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STACOB) e oxidativo (STOXOB). Já na PC2 (22,3%), observou-se a diferenciação da composição de metabólitos voláteis presentes no iogurte contendo *L. acidophilus* padrão (STLAOB) em relação ao iogurte contendo a cultura pré-submetida ao estresse osmótico (STOSOB) (carregamento positivo); e, nos iogurtes controle (STOB) e co-fermentado com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXOB) em relação ao estresse ácido (STACOB) (carregamento negativo). A presença ou maior concentração de ácido butanóico, 2-metil- ácido butanóico, carvona, ácido hexanóico, octanal e 2-metil ácido propanóico caracterizaram as amostras de iogurte contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (STOSOB), enquanto que a maior concentração de compostos como 2-etil-1-hexanol e prenol foram determinantes para a separação das amostras de iogurtes fermentados com a cultura probiótica padrão (STLAOB). Além disso, a separação dos iogurtes controle (STOB) e fermentados com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXOB) foi caracterizada principalmente pela presença ou maior concentração de voláteis como ácido butanóico, 2-metil- ácido butanóico, carvona, ácido hexanóico, octanal e 2-metil ácido propanóico, enquanto que a presença ou maior concentração de 3-hexen-1-ol, 1,3-dimetil- benzeno, benzenoacetaldeído e prenol foram determinantes para as amostras fermentadas com *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido (STACOB).

3.2 Produção de compostos não voláteis

3.2.1 Composição Orgânica dos iogurtes por RMN

A identificação dos principais compostos orgânicos presentes no final do processo de fermentação dos iogurtes e leites fermentados analisados é ilustrada de

modo representativo pelo espectro de ^1H NMR na figura 7. Este espectro apresenta prótons de resíduo α -carbonílico/alquilo (δ 0,5 a 3,0); prótons carbinólicos (δ 3,0 a 5,5); e prótons aldeídicos e aromáticos (δ 6,0 a 8,6). Em geral, os espectros apresentaram compostos em três regiões diferentes (regiões alifática, carbinólica e aromática), mostrando que os iogurtes apresentam em sua composição lactose, aminoácidos e ácidos orgânicos de cadeia curta. A identificação dos compostos orgânicos foi realizada por meio de correlações de RMN bidimensionais usuais (^1H - ^1H g COSY, ^1H - ^{13}C g HSQC, ^1H - ^{13}C g HMBC), bem como avaliações utilizando banco de dados de acesso aberto (www.hmdb.ca) (WISHART *et al.*, 2007) e literatura (ALVES FILHO *et al.*, 2017; ISANGA; ZHANG, 2009; LU *et al.*, 2016; LU *et al.*, 2018; ÖZER; ATASOY, 2002). Estruturas moleculares, desvios químicos, multiplicidade e acoplamento constante de ^1H e ^{13}C são descritos na tabela 2.

3.2.2 Perfilamento não direcionado

Os iogurtes e leites fermentados foram produzidos utilizando algumas variáveis como a: inclusão da bactéria probiótica *L. acidophilus* pré-submetida ou não à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico); adição de polpa de buriti (rica em carotenoides provitamina A); adição de farinha de bagaço de laranja (fonte de minerais como cálcio); e, inclusão da cultura *starter* (*Streptococcus thermophilus* e *L. delbrueckii* subs. *bulgaricus*). Portanto, a fim de investigar o efeito das diferentes composições durante o processo de fermentação, um método quimiométrico não supervisionado por PCA (Principal Component Analysis) foi aplicado ao conjunto de dados de RMN ^1H para exploração não direcionada, uma vez que os principais compostos, seus produtos e resíduos de transformação nem sempre são conhecidos.

3.2.3 Avaliação geral

Para detalhar os efeitos das diferentes composições na variabilidade dos iogurtes e leites fermentados de acordo com a ação do probiótico *L. acidophilus* pré-submetido ou não à condições de estresse (ácido, oxidativo ou osmótico), inserções de polpa de buriti ou bagaço de laranja e influência da cultura *starter*, uma avaliação geral por PCA foi desenvolvida no final do processamento e é apresentada na figura 8. A variabilidade dos iogurtes foi claramente observada, destacando 3 grupos distintos: produtos naturais (não acrescidos de frutas ou subprodutos), produtos adicionados de bagaço de laranja, e, produtos adicionados de polpa de buriti. As avaliações detalhadas da PCA destacaram que produtos contendo bagaço de laranja apresentaram menores quantidades de lactose, ácidos graxos e ácidos láctico, cítrico e acético em relação aos produtos naturais e contendo polpa de buriti. Já os produtos acrescidos de polpa de buriti apresentaram maior concentração de lactose e menor concentração de ácidos graxos em relação aos produtos naturais e acrescidos de bagaço de laranja. Além disso, os produtos classificados como naturais apresentaram maiores quantidades de lactose, ácidos graxos e ácidos láctico, cítrico e acético quando em comparação às outras formulações avaliadas (Figura 8).

3.2.4 Avaliação da PCA dos produtos classificados como naturais

Em geral, uma clara variabilidade entre a composição dos produtos naturais foi detectada pelo uso da cultura *starter* (iogurtes) quando não foi feita a inserção do bagaço de laranja ou da polpa de buriti. O uso de cultura *starter* (vermelho) influenciou na obtenção de maiores quantidades de ácidos láctico e cítrico e menor quantidade de ácidos graxos. Maiores concentrações de lactose foram detectadas de forma relevante quando cultura *starter* não foi utilizada (azul). Além disso, o iogurte natural

(ST) e iogurte natural contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (STLAOS) apresentaram maiores quantidades de ácidos láctico e cítrico do que os demais iogurtes destacados (STLA, STLAOX e STLAAC) (Figura 9).

3.2.5 Avaliação da PCA dos produtos acrescidos de bagaço de laranja

Conforme apresentado anteriormente na seção 3.2.3, as fermentações realizadas apenas pela bactéria probiótica (LA) influenciaram na obtenção de menores concentrações de ácidos graxos e maiores concentrações de lactose, somente sob o estresse osmótico (LAOS). Entretanto, o uso da cultura *starter* (ST) aumentou a concentração de ácidos graxos nas amostras. Por outro lado, o iogurte fermentado pela cultura *starter* (ST) e o iogurte contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse osmótico (STLAOS) apresentaram maiores quantidades de ácidos cítrico e láctico. Iogurtes sem separação relevante foram ilustrados na cor preta (Figura 10).

3.2.6 Avaliação da PCA dos produtos acrescidos de polpa de buriti

Em geral, os ácidos graxos não apresentaram variabilidade relevante nos iogurtes e leites fermentados adicionados de polpa de buriti. Por outro lado, quantidades de ácidos orgânicos de cadeia curta, como láctico e cítrico, aumentaram com o uso de cultura *starter* (nos iogurtes). Esse fato pode ser observado pelos escores opostos entre os agrupamentos compostos por LA (leite fermentado por *L. acidophilus*) e LAOX (leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo) (nos escores PC2 negativos) e os compostos por ST (iogurte) e STLAOX (iogurte contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo) (escores PC2 positivos). Além disso, o processamento sob estresse oxidativo (STLAOX e LAOX) apresentou efeito mais forte que o estresse ácido (STLAAC). O estresse osmótico

(OS) não apresentou efeito relevante sobre a variabilidade dos iogurtes e leites fermentados neste caso. Iogurtes sem separação relevante foram ilustrados na cor preta (Figura 11).

3.3 Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de cálcio

Em sua maioria, os ensaios realizados em co-cultura (iogurte probiótico composto por cultura *starter* + *L. acidophilus*) (STLA e STLAOB) apresentaram concentrações de cálcio total mais elevadas ($1420,37 \pm 44,51$ e $1825,46 \pm 11,56$ $\mu\text{g/g}$) que os ensaios em monocultura (LA e LAOB), fermentados por *L. acidophilus* ($1261,67 \pm 48,42$ e $1796,30 \pm 23,09$ $\mu\text{g/g}$) (Tabelas 3 e 4).

A pré-submissão de *L. acidophilus* às condições de estresse (AC: ácido, OX: oxidativo e, OS: osmótico) não influenciou significativamente ($p > 0,05$) na concentração de cálcio total dos iogurtes e leites fermentados naturais quando em comparação à condição controle de cada um destes produtos (LA e STLA). Os iogurtes probióticos contendo bagaço de laranja (OB) pré-submetidos às condições de estresse (AC, OX e OS) também não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) no conteúdo de cálcio total quando comparados à condição controle (STLAOB: $1825,46 \pm 11,56$ $\mu\text{g/g}$). Já nos ensaios em monocultura (LA), relativos aos leites fermentados contendo bagaço de laranja (OB), a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse ácido (AC), osmótico (OS) e oxidativo (OX) reduziu a concentração de cálcio total em relação à condição controle não estressada (LAOB: $1796,30 \pm 23,09$ $\mu\text{g/g}$).

O conteúdo de cálcio dialisado variou em cada grupo de amostras (Figura 12). Nos leites fermentados naturais, a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo (OX) e osmótico (OS) elevaram as concentrações de cálcio dialisado ($p < 0,05$) quando comparadas à condição não estressada (LA: $51,33 \pm 3,55$ $\mu\text{g/g}$). As mesmas amostras quando fermentadas em co-cultura (iogurtes naturais) obtiveram o

resultado inverso, onde a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo (OX) e osmótico (OS) apresentaram concentrações de cálcio dialisado inferiores ($p < 0,05$) à condição não estressada (STLA: $128,78 \pm 22,59 \mu\text{g/g}$) (Figura 12, Tabela 3). Já nos leites fermentados contendo bagaço de laranja (OB), as concentrações de cálcio dialisado aumentaram significativamente ($p < 0,05$) após a aplicação de *L. acidophilus* ao estresse ácido (AC), oxidativo (OX) e osmótico (OS) em relação à condição não estressada (LAOB: $95,07 \pm 10,44 \mu\text{g/g}$). Nas amostras de iogurte contendo bagaço de laranja (OB), as concentrações de cálcio dialisado não diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre os ensaios com e sem estresse, com exceção da pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo (STOXOB) que apresentou aumento nos valores de cálcio dialisado ($141,95 \pm 17,70 \mu\text{g/g}$). Além disso, o iogurte contendo bagaço de laranja fermentado apenas pela cultura *starter* (STOB) apresentou valores de cálcio dialisado superiores ($129,16 \pm 9,11 \mu\text{g/g}$) aos fermentado em co-cultura e pré-submetidos ao estresse ácido e osmótico (STLAOB; STACOB e STOSOB), sendo similar apenas ao ensaio onde *L. acidophilus* foi pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXOB) (Figura 12, Tabela 4).

3.4 Quantificação e avaliação da bioacessibilidade de carotenoides

Observa-se que todas as amostras analisadas (polpa de buriti liofilizada, iogurtes e leites fermentados contendo a polpa de buriti e fração micelar destas amostras) apresentaram o mesmo perfil de carotenoides, demonstrando compostos similares independente do processo (fermentação) e da simulação (digestão *in vitro*) aplicados. Ou seja, tanto a fermentação da polpa de buriti nos iogurtes e leites fermentados como a digestão simulada destes produtos não foram capazes de modificar o perfil de carotenoides encontrado (Figura 13, tabela 5).

Nas amostra de iogurte contendo polpa de buriti, nota-se que tanto a inclusão de *L. acidophilus* (STLABP) como a sua pré-submissão ao estresse oxidativo (STOXPB) influenciou negativamente no conteúdo total de carotenoides, reduzindo-o ($p < 0,05$) em relação ao iogurte fermentado apenas pela cultura *starter* (STBP: $15,52 \pm 0,69 \mu\text{g/g}$). Além disso, podemos observar que a exclusão da goma xantana nestas formulações (STBP WXG e STLABP WXG) também impactou para a redução ($p < 0,05$) na concentração de carotenoides totais dos iogurtes avaliados ($12,29 \pm 0,20$ e $11,85 \pm 0,23 \mu\text{g/g}$) (Tabela 6).

Com relação a fração micelar (bioacessível) de carotenoides, podemos observar que a formulação padrão de iogurte de buriti (STBP, contendo goma xantana) apresentou a maior concentração de carotenoides micelizados ($1,50 \pm 0,23 \mu\text{g/g}$) quando em comparação com as demais formulações. Com isso, nota-se que tanto a exclusão do espessante (goma xantana) como a inclusão de *L. acidophilus* nas formulações de iogurte contendo polpa de buriti (STBP WXG e STLABP) impactaram negativamente na concentração de carotenoides micelizados, reduzindo ($p < 0,05$) sua concentração para $0,24 \pm 0,04$ e $1,11 \pm 0,09 \mu\text{g/g}$, respectivamente. Além disso, podemos observar também um impacto negativo na concentração de carotenoides micelizados nas formulações de iogurte e leite fermentado contendo *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (STOXPB e LAOXPB) em relação às condições não estressadas (STLABP: $1,11 \pm 0,09$ e LABP: $0,66 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$, respectivamente). Apesar dos impactos negativos, observa-se que os iogurtes e leite fermentado contendo goma xantana (STBP, STLABP, STOXPB e LABP) auxiliaram no aumento da concentração de carotenoides micelizados quando em comparação com a polpa de buriti liofilizada diluída em leite ($0,20 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$). Além disso, podemos notar que a inclusão de polpa de buriti em iogurtes probióticos contribuiu

para o aumento da concentração de carotenoides micelizados quando em comparação aos leites fermentados (por *L. acidophilus*) contendo este substrato (Figura 14, tabela 6).

4 DISCUSSÃO

De modo geral, os resultados apresentados demonstraram que a utilização de *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) influenciou no perfil de metabólitos voláteis produzidos em iogurtes e leites fermentados naturais e acrescidos de polpa de buriti ou bagaço de laranja. A modificação no perfil de metabólitos voláteis produzidos por bactérias ácido lácticas expostas ou adaptadas a condições de estresses já foi diversas vezes mencionado pela literatura (GUERZONI *et al.*, 2007; PARLINDUNGAN; MAY; JONES, 2019; SERRAZANETTI *et al.*, 2011, 2009). Da mesma maneira, estudos envolvendo a utilização de culturas lácticas probióticas adaptadas ao estresse ácido e osmótico, como *Lactiplantibacillus plantarum* WCFS1, *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12, em processos fermentativos demonstraram uma modificação no perfil de metabólitos voláteis encontrados durante a produção e armazenamento de iogurtes (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016).

A modificação na produção de metabólitos (voláteis e não voláteis) após exposição ou adaptação às condições de estresse é conhecida por derivar de alterações na atividade metabólica de micro-organismos (PAPADIMITRIOU *et al.*, 2016; SERRAZANETTI *et al.*, 2011, 2013b, 2009). Desta maneira, observamos que a pré-exposição às condições de estresse ácido, oxidativo e osmótico foi capaz de influenciar a atividade metabólica de *L. acidophilus* dependendo do tipo de produto

em que este micro-organismo foi utilizado, conforme apresentado pelos resultados da PCA. A distinção em alguns padrões sugerem que o perfil de metabólitos voláteis gerados nas amostras de leite fermentado por *L. acidophilus* contendo polpa de buriti podem ser diferenciados de acordo com a pré-submissão aos estresses ácido, oxidativo e osmótico; enquanto que os leites fermentados natural e contendo bagaço de laranja só podem ser diferenciados pela pré-submissão aos estresses osmótico e oxidativo. Já nos iogurtes, a discriminação nos perfis de compostos voláteis produzidos nas amostras contendo polpa de buriti e bagaço de laranja co-fermentados com *L. acidophilus* podem ser diferenciados da condição controle pela pré-exposição aos estresses ácido e osmótico (sendo eles diferentes ou não entre si), enquanto que no iogurte natural observamos uma diferenciação após a aplicação dos estresses ácido e oxidativo.

Guerzoni e colaboradores (2007) mencionam não encontrarem a mesma resposta de superprodução de ácido isovalérico, após a exposição de *Fructilactobacillus sanfranciscensis* LSCE1 ao estresse ácido, em meio líquido contendo farinha de trigo hidrolisada e em *sourdough* (massa fermentada ou fermento preparado a base de farinha de trigo). Neste estudo, discute-se que a microestrutura do sistema alimentar utilizada pode ter interferido no papel de sinalização e liberação de moléculas durante a exposição ao estresse, dificultando este processo na massa em comparação ao meio líquido e por consequência reduzindo o número de metabólitos liberados. Settachaimongkon e colaboradores (2015) também apresentam diferenças nos padrões de voláteis encontrados em iogurtes co-fermentados com probióticos adaptados ao estresse ácido e osmótico dependendo do tipo de cultura utilizada. Estes autores observaram que os perfis de metabólitos voláteis nos iogurtes puderam ser diferenciadas de acordo como tipo de estresse

aplicado (ácido ou osmótico) para os produtos co-fermentados com *L. rhamnosus* GG, enquanto que os produtos contendo *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 só puderam ser distinguidos pela adaptação ao estresse ácido.

Dentre os principais metabólitos voláteis encontrados nos leites fermentados e iogurtes co-fermentados com *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) podemos observar a presença de álcoois superiores e compostos derivados do catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada e de enxofre. Os gráficos de carregamento da PCA nas diversas amostras avaliadas demonstram a presença ou aumento no conteúdo de voláteis como 1-butanol, 1-decanol, 1-nonanol, 2-etil-1-hexanol, 1-metoxi- 2-propanol, 3-hexen-1-ol, 2-metil-ácido butanoico, dimetilsulfona, ácido nonanóico e 2-metil- ácido propanoico diferenciando o perfil de voláteis dos produtos co-fermentados com *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico). Settachaimongkon e colaboradores (2015, 2016) também mencionam o aparecimento de voláteis derivados do catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada e presença de álcoois superiores no iogurte ao utilizar culturas de *L. plantarum* WCFS1, *L. rhamnosus* GG e *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 pré-cultivadas em estresse ácido e osmótico. A produção de 2-metil- ácido butanoico através do catabolismo do aminoácido leucina é também apresentada por Serrazanetti e colaboradores (2011) após a exposição de *F. sanfranciscensis* LSCE1 em condições de estresse ácido para a produção de *sourdough*.

O catabolismo de aminoácidos de cadeia ramificada como rota metabólica alternativa utilizada por bactérias ácido lácticas após exposição à condições de estresse já é conhecida, sendo principalmente relacionada com a resposta de tolerância ao estresse ácido (RTA) em lactobacilos (PAPADIMITRIOU *et al.*, 2016;

SERRAZANETTI *et al.*, 2011, 2009). O metabolismo destes aminoácidos auxilia na sobrevivência de bactérias lácticas à condições de estresse, permitindo a geração de energia (ATP) e aumento do pH intracelular (SERRAZANETTI *et al.*, 2011). Além disso, o metabolismo de aminoácidos livres é conhecido por contribuir no desenvolvimento de sabor em produtos fermentados, levando a biossíntese de nucleotídeos, ácidos graxos e precursores de aminoácidos (PAPADIMITRIOU *et al.*, 2016).

Em *sourdoughs* e iogurtes a produção de diferentes variedades de metabólitos voláteis pode estar associada com a modificação nas características organolépticas e por consequência pode impactar na qualidade destes produtos (SERRAZANETTI *et al.*, 2009; SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016). Alguns voláteis como o ácido acético e o ácido hexanóico produzidos em maiores quantidades em diversas formulações, principalmente nas que utilizaram a cepa de *L. acidophilus* pré-submetida ao estresse osmótico (STOS, LAOS, STOSBP e LAOSBP), são reconhecidos por apresentarem respectivamente sabores de “vinagre, picante, ácido” e “pungente, rançoso, florido”. O ácido hexanóico no entanto é reconhecido como um composto importante para a caracterização de leites fermentados sendo responsável por aumentar o odor presente contribuindo com os sabores mencionados (DABAJ *et al.*, 2020; DAN *et al.*, 2017). Além disso, a presença de aldeídos como hexanal, heptanal e nonanal também foram responsáveis pela discriminação de algumas amostras fermentadas utilizando a cultura de *L. acidophilus* pré-submetida ao estresse (principalmente ácido e osmótico, LAOS, LAOX, LAACBP, LAOSOB, LAACOB). Estes compostos são importantes para as características organolépticas de iogurtes e leites fermentados sendo responsáveis por apresentarem sabores “verdes e doces” (heptanal e hexanal) e “doce, floral, cítrico, grass-like” (nonanal) (CHENG, 2010; DAN

et al., 2017). Por este motivo, uma avaliação mais detalhada quantificando os principais compostos voláteis presentes em iogurtes e leites fermentados além de uma avaliação sensorial é necessária para melhor descrever os reais impactos da utilização de *L. acidophilus* pré-submetido aos estresses ácido, oxidativo e osmótico nas características organolépticas dos produtos estudados.

Os perfis de metabólitos não voláteis encontrados nos iogurtes e leites fermentados produzidos foram claramente separados após a utilização de polpa de buriti e bagaço de laranja, conforme apresentado pela PCA (figura 8). A avaliação desta análise destacou que as formulações produzidas com bagaço de laranja apresentaram menores concentrações de lactose, ácidos graxos e ácidos láctico, cítrico e acético, enquanto que as formulações acrescidas de polpa de buriti apresentaram maior quantidade de lactose e menor conteúdo de ácidos graxos. Estes resultados já eram esperados uma vez que a utilização destes substratos durante a fermentação de produtos lácteos aumentaria a quantidade e tipo de nutrientes presentes (carboidratos, fibras, etc.) os quais também poderiam ser metabolizados pelas culturas *starters* e probiótica, levando a geração de diferentes metabólitos. Graça e colaboradores (2021a) demonstraram que a utilização de polpa de buriti e bagaço de laranja em leites fermentados promoveu o crescimento de *L. acidophilus*, aumentando o potencial de crescimento e a taxa de multiplicação deste micro-organismo durante o processo de fermentação quando comparado à versão tradicional deste produto. Apesar disso, mais estudos precisam ser realizados caracterizando com mais detalhes os iogurtes e leites fermentados produzidos, principalmente com relação a composição centesimal, perfil lipídico e proteico e, quantificação de ácidos graxos e orgânicos.

Leites e produtos lácteos como iogurtes são considerados uma das principais fontes de cálcio utilizadas na alimentação humana, chegando a contribuir com 52-65% da ingestão diária recomendada para este mineral (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000; ROZENBERG *et al.*, 2016). Além disso, altos teores de minerais como cálcio, ferro e magnésio já foram relatados em resíduos cítricos como bagaço de laranja e limão, ressaltando o seu potencial de reaproveitamento na fortificação de alimentos (SILVA; REBELLATO; *et al.*, 2017b). Neste trabalho, os iogurtes e leites fermentados produzidos com o acréscimo de 5% de bagaço de laranja apresentaram aumento significativo na concentração de cálcio total encontrada quando em comparação com os produtos naturais (dados não mostrados), confirmando o potencial de utilização destes resíduos no aumento do conteúdo de minerais em produtos fermentados.

Os resultados apresentados também demonstraram um aumento na concentração de cálcio total nos iogurtes em comparação aos leites fermentados produzidos com ou sem adição de bagaço de laranja. Acreditamos que este aumento, inicialmente não esperado, esteja relacionado a fatores como: (I) Tipo de inoculação utilizada nos diferentes produtos. Onde, os leites fermentados foram inoculados apenas com o probiótico diluído em solução aquosa, enquanto que os iogurtes foram inoculados com a cultura *starter* previamente diluída em leite e com o probiótico diluído em solução aquosa; e, (II) Utilização de leite UHT fortificado com sais de fosfato tricálcico, os quais podem ter sofrido precipitação em alguma parte do processo reduzindo os valores encontrados nos diferentes produtos. Os sais de fosfato como (fosfato de cálcio e fosfato tricálcico) são muito aplicados na fortificação de produtos industrializados como leites e derivados, no entanto apresentam baixa solubilidade em água podendo apresentar decantação em alimentos líquidos (HEANEY; RECKER; WEAVER, 1990; LÓPEZ-HUERTAS *et al.*, 2006; LORIEAU *et al.*, 2018).

Apesar do acréscimo de bagaço de laranja ter aumentado a concentração de cálcio total nos iogurtes e leites fermentados, o mesmo padrão de aumento não foi observado na concentração de cálcio dialisada. Este fato pode estar veiculado a diversos fatores devido à complexidade da matriz estudada. É conhecido que resíduos cítricos como bagaço de laranja possuem altas concentrações de fibras solúveis e insolúveis além da presença de compostos fenólicos (como flavonoides e taninos), fitatos e oxalatos, o que pode ter influenciado a bioacessibilidade de cálcio apresentada nas amostras contendo este subproduto (M'HIRI; IOANNOU; GHOU; BOUDHRIUA, 2017; PACHECO; MORENO; VILLAMIEL, 2019; ROMELLE; RANI; MANOHAR, 2016; SILVA; REBELLATO; *et al.*, 2017b). Fibras solúveis como pectinas, presentes em alta concentração em resíduos de laranja, já foram mencionadas como potenciais fatores de redução na concentração de cálcio dialisado em bagaço de laranja cozido (SCHALOW *et al.*, 2018; SILVA; REBELLATO; *et al.*, 2017b). Além disso, outros autores relataram que a presença de alguns tipos de fibras solúveis como a pectina altamente metilesterificada e a goma alfarroba (locust bean gum) influenciaram negativamente na bioacessibilidade de minerais como ferro, cálcio e zinco (BOSSCHER *et al.*, 2003).

A pectina presente naturalmente em frutas e em alguns tipos de alimentos de origem vegetal pode ser considerada um fator anti-nutricional devido ao seu potencial de interação com minerais (principalmente cátions divalentes como Ca, Fe e Zn), sendo capaz de reduzir a bioacessibilidade destes compostos (CELUS *et al.*, 2018; RAES *et al.*, 2014). A pectina é também classificada como um polissacarídeo normalmente encontrado na parede celular de plantas, constituído majoritariamente de unidades de ácido galacturônico metilesterificadas em maior ou menor grau. O grau de metilesterificação (DM) é um dos principais fatores que impactam na capacidade

de ligação da pectina a cátions; quanto menor o grau de DM maior a capacidade de ligação (CELUS *et al.*, 2018; NASSERI; THIBAUT; RALET, 2008). Kyomugasho e colaboradores (2017) já relataram que a redução no grau de DM de pectinas cítricas e derivadas de beterraba reduziram a bioacessibilidade *in vitro* de Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} e Mg^{2+} devido ao aumento das interações cátion-pectina em soluções de pectina (1 a 2%) enriquecidas com estes minerais (5 a 25 mM). Estes autores também demonstraram que a redução na DM de pectinas ocasionava no aumento da formação e tamanho de agregados após a digestão *in vitro* das soluções analisadas. Desta maneira, concluiu-se que a redução da DM estava relacionada com o aumento das interações eletrostáticas dos minerais com a pectina (devido ao aumento da densidade de cargas) formando junções mais estáveis e evidentes que, por consequência, reduziam a disponibilidade dos minerais (KYOMUGASHO *et al.*, 2017).

A presença de minerais na forma solúvel e ionizada durante o processo de digestão são considerados fatores importantes que podem determinar a biodisponibilidade de minerais como o cálcio no intestino (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000; HANSEN *et al.*, 1996; SCHUCHARDT; HAHN, 2017). Em leites e produtos derivados a presença de alguns componentes como lactose, proteínas, peptídeos como fosfopeptídeos derivados da caseína (CPP) e aminoácidos como L-lisina e L-arginina podem aumentar a solubilidade de cálcio durante o processo de digestão intestinal através da formação de quelatos solúveis, aumentando a sua absorção principalmente pela estimulação da difusão passiva (CÁMARA-MARTOS; AMARO-LÓPEZ, 2002; GUÉGUEN; POINTILLART, 2000; KŁOBUKOWSKI; SKIBNIEWSKA; KOWALSKI, 2014; MIQUEL *et al.*, 2006). Além disso, o baixo pH e a presença de ácido láctico em produtos fermentados como os iogurtes são conhecidos por

aumentarem a solubilidade de cálcio devido ao aumento da ionização deste mineral (ADOLFSSON; MEYDANI; RUSSELL, 2004; TANG *et al.*, 2007).

A bioacessibilidade de cálcio apresentada no ensaio *in vitro* realizado demonstrou que o tipo de cultura utilizada na fermentação também influenciou no aumento ou redução da concentração de cálcio dialisado encontrada nos iogurtes e leites fermentado naturais e contendo bagaço de laranja. Nestes ensaios a utilização da cultura *starter* (ST e STOB) demonstrou valores significativamente ($p < 0,05$) maiores que os ensaios contendo apenas *L. acidophilus* (LA) ou fermentados em co-cultura com este probiótico (STLA ou STLAOB). Estudos envolvendo a utilização de diferentes culturas já demonstraram que o tipo de cultura ou a utilização de co-cultura na fermentação de leite e produtos de origem vegetal pode influenciar na posterior bioacessibilidade de minerais (DAI *et al.*, 2020; EL-GAWAD *et al.*, 2014a; NGOUNOU *et al.*, 2003). Apesar da pouca quantidade de dados relacionados ao assunto, acreditamos que a diferença apresentada esteja envolvida com dois principais fatores: (I) A atividade proteolítica das culturas utilizadas podendo levar a produção de peptídeos com capacidade quelante ao cálcio e por consequência aumentar a sua bioacessibilidade; e, (II) A produção de enzimas extracelulares capazes de degradar compostos conhecidos por impactarem negativamente na bioacessibilidade de minerais como fitatos e oxalatos.

Alguns peptídeos como os CPPs são compostos normalmente gerados pela hidrólise enzimática da caseína durante o processo de digestão de leites e derivados (MIQUEL *et al.*, 2006; SUN *et al.*, 2016). No entanto, a produção de CPP também já foi relacionada com a atividade proteolítica de bactérias ácido lácticas durante a fermentação do leite na produção de iogurtes tradicionais e probióticos (CHO; OH, 2010; PINTO *et al.*, 2012). Da mesma maneira, a produção de outros tipos de

peptídeos bioativos também correlacionados com o aumento da biodisponibilidade de cálcio no intestino como isoleucil-prolil-prolina (IPP) e valil-prolil-prolina (VPP) já foram relatados durante a fermentação do leite por bactérias ácido lácticas probióticas como *Lactobacillus helveticus* (DUBEY; PATEL, 2018; MATAR *et al.*, 1996; NARVA *et al.*, 2004). Neste sentido, observa-se que a fermentação pode levar à formação de compostos nutracêuticos e bioativos como peptídeos e aminoácidos, os quais podem estar correlacionados com o aumento da bioacessibilidade de cálcio em produtos fermentados. No entanto, é conhecido que o processo de fermentação pode levar a diferentes perfis proteolíticos dependendo das culturas utilizadas durante a fabricação de leites fermentados e iogurtes, influenciando na concentração e tipo dos peptídeos gerados (DONKOR *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2019).

A fermentação por culturas *starters* e probióticas também apresenta papel importante na fabricação de produtos vegetais pois é conhecida por reduzir fatores anti-nutricionais encontrados normalmente nestas matrizes como fitatos, oxalatos e taninos, aumentando a bioacessibilidade de minerais (AHMED *et al.*, 2020; CHIANG; PAN, 2011; SUVARNA *et al.*, 2018). Esta característica se relaciona principalmente com a presença de enzimas naturalmente presentes nestas matrizes ou produzidas pela cultura utilizada na fermentação, a qual possui a capacidade de degradar estes compostos reduzindo a sua interação com os minerais presentes no produto e por consequência aumentando a sua bioacessibilidade (AHMED *et al.*, 2020; DAI *et al.*, 2020; NKHATA *et al.*, 2018; SHARMA *et al.*, 2020). Bactérias ácido lácticas já foram descritas como produtoras de enzimas como a fitases, oxalil-CoA descarboxilases e tanases (CIZEIKIENE *et al.*, 2015; NISHITANI *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2020; TURRONI *et al.*, 2007). Além disso, a atividade de algumas enzimas de degradação como a fitase, tanase e fenil oxidase é favorecida em ambientes ácidos, sendo

facilitada conforme o decorrer da fermentação a partir da redução do pH pela produção de ácido láctico (BUDDRICK *et al.*, 2014; DAI *et al.*, 2020; KÅRLUND *et al.*, 2020; NKHATA *et al.*, 2018).

Além disso, observamos que a pré-submissão do probiótico *L. acidophilus* à condições de estresse ácido, oxidativo e osmótico também foi responsável pela modificação na concentração de cálcio dialisado encontrada nos leites fermentados e iogurtes naturais e contendo bagaço de laranja. É importante destacar que no geral a pré-exposição de *L. acidophilus* aos estresses oxidativo e osmótico impactaram positivamente na concentração de cálcio dialisado encontrada nos iogurtes e leites fermentados produzidos, aumentando significativamente ($p < 0,05$) a sua concentração em relação ao probiótico padrão. No entanto, ainda não existem estudos que descrevam o impacto da utilização de micro-organismos probióticos pré-submetidos à condições de estresse na bioacessibilidade de minerais em alimentos. Por este motivo, apesar de observarmos diferenças nos processos de fermentação que utilizaram *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido, oxidativo e osmótico na concentração de cálcio dialisado durante a digestão *in vitro*, há uma dificuldade na compreensão das reais mudanças que levaram a estes resultados.

O estudo da bioacessibilidade de minerais em matrizes complexas como os alimentos e em modelos supersaturados como o estudado (com alta concentração de diferentes minerais) dificulta a compreensão dos mecanismos que levaram aos resultados obtidos, uma vez que muitos fatores podem ter impactado. Desta maneira, novos trabalhos precisam ser realizados para melhor compreender o real impacto da fermentação com diferentes culturas pré-submetidas ou não à condições de estresse na bioacessibilidade de minerais como o cálcio. Ainda, análises como perfil proteico, reações enzimáticas, estudos das interações iônicas, visualizações microscópicas da

possível formação de agregados durante a digestão e quantificação de compostos fenólicos, fibras e polissacarídeos trariam maior entendimento para mecanismos relacionados ao aumento ou redução da bioacessibilidade dos minerais nas matrizes estudadas.

Poucos estudos também descrevem os efeitos de processos fermentativos na concentração e bioacessibilidade de carotenoides em matrizes alimentares (MAPELLI-BRAHM *et al.*, 2020). Até onde sabemos o impacto da fermentação nos carotenoides presentes em iogurtes e leites fermentados acrescidos de polpa de buriti nunca foi mencionado pela literatura. Os resultados apresentados demonstraram que o conteúdo de carotenoides totais dos iogurtes produzidos com polpa de buriti variaram principalmente com relação ao tipo de cultura láctea utilizada na fermentação e com presença ou ausência do espessante goma xantana. Observamos que tanto a exclusão da goma xantana como a utilização de fermentações em co-cultura com *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo reduziram o conteúdo de carotenoides totais encontrados nas amostras de iogurte. Apesar da ausência de goma xantana ter aparentemente influenciado na redução da concentração de carotenoides totais em iogurtes, ressaltamos que estas amostras apresentaram uma maior taxa de concentração de β -caroteno na configuração de isômero *cis*, nos levando a crer que a polpa de buriti utilizada nestas formulações sofreu perda anterior dos carotenoides presentes. Este ponto foi levantado principalmente pelos iogurtes contendo goma xantana terem sido produzidos anterior à análise de carotenoides da polpa de buriti e fabricação dos iogurtes não adicionados de goma xantana (entre um período de 4 meses). Ressaltamos também que apesar da ausência do espessante o processamento aplicado para a fabricação dos iogurtes e leites fermentados contendo

polpa de buriti foi o mesmo para todas as amostras, utilizando-se a homogeneização em alta velocidade.

A degradação de carotenoides em frutas processadas é conhecida por ocorrer durante a produção e armazenamento destes alimentos. Esta degradação ocorre principalmente por reações de isomerização e oxidação associadas a processos de aquecimento/secagem, exposição a luz e oxigênio (FRATIANNI *et al.*, 2013; PÉNICAUD *et al.*, 2011). Apesar da secagem por liofilização ocasionar em menores perdas dos carotenoides durante o processamento uma maior área de contato com o oxigênio é criada devido ao aumento da porosidade do material, deixando-o mais acessível a oxidação (SILVA-ESPINOZA *et al.*, 2020). A degradação de carotenoides por isomerização e oxidação durante o armazenamento de amostras de plantas liofilizadas em diversas condições de temperaturas, tempo e exposição a luz já foi relatado como um processo comum que pode ser reduzido com a redução de temperatura e exposição a luz (ÇINAR, 2004; TANG; CHEN, 2000).

A aplicação de processos mecânicos em alimentos é conhecida por influenciar no aumento da liberação e acessibilidade de carotenoides, agindo através da desintegração da matriz alimentar e pelo possível rompimento de células e estruturas celulares (ERIKSEN *et al.*, 2017; HEDRÉN; DIAZ; SVANBERG, 2002; HOF *et al.*, 2000a; PARADA; AGUILERA, 2007). O aumento da liberação de carotenoides totais presentes na polpa de buriti após aplicação de homogeneização em alta velocidade e/ou ultrassom já foi mencionada pela literatura. Neste estudo, a utilização destes processos durante a produção de microemulsões de buriti contendo 5% óleo de milho e 2% de surfactantes como o tween 80 ou isolado de proteína de soro de leite (WPI) foram responsáveis por liberar e proteger os carotenoides totais presentes na polpa deste fruto (BERNI *et al.*, 2020). No entanto, apesar da liberação de carotenoides da

matriz alimentar ser considerada um fator importante para a bioacessibilidade ela também pode levar a uma maior exposição destes compostos ao meio influenciando em um aumento de sua oxidação e degradação (BOHN *et al.*, 2015).

Os hidrocolóides são polímeros de carboidratos amplamente utilizados pela indústria de alimentos na melhora de características qualitativas e de armazenamento (SAHA; BHATTACHARYA, 2010). Além de suas inúmeras funções são compostos que podem atuar como emulsificantes e estabilizadores de emulsão, sendo responsáveis por retardar a precipitação ou coalescência de partículas sólidas ou oleosas dispersas em alimentos, aumentando a estabilidade destes produtos durante a sua produção e armazenamento (MILANI; MALEKI, 2012). A utilização de goma xantana em emulsões contendo β -caroteno já foi descrita como sendo responsável por proteger este composto da degradação química durante o armazenamento e por auxiliar na estabilidade destes produtos em condições de aquecimento, redução de pH e altas concentrações de NaCl (FU *et al.*, 2019). Além disso, outros autores mencionam a utilização de goma xantana como agente espessante em emulsões óleo/água realçando o seu potencial de estabilização (CAPORASO *et al.*, 2016; RIQUELME *et al.*, 2020).

Segundo Mapelli-Brahm e colaboradores (2020) o efeito das fermentações ácido lácticas e alcoólicas nos níveis de carotenoides dependem principalmente da matriz do alimento, do tipo de carotenoide envolvido e das condições encontradas na fermentação, sendo em sua maioria processos que não apresentam perdas consideráveis nas concentrações de carotenoides em alimentos. Em contrapartida, Kun e colaboradores (2008) relataram que a produção de suco de cenoura fermentado por bifidobactérias durante um período de 24 h reduziu de 5 a 25% as concentrações de α e β -caroteno no produto dependendo do tipo de cultura utilizada. Estes autores

mencionaram também que a degradação destes compostos pode ter sido proveniente tanto do metabolismo bacteriano como das condições encontradas na fermentação como temperatura e pH.

Desta maneira, concluímos que apesar da utilização de goma xantana ter auxiliado na estabilização da dispersão dos carotenoides provenientes da polpa de buriti nos iogurtes e leites fermentados produzidos, a sua ausência não levou a uma redução na quantidade total de carotenoides encontrada. Além disso, a maior dispersão dos carotenoides “livres” nos iogurtes pode ter influenciado em uma maior exposição destes compostos ao meio e à ação das bactérias utilizadas na elaboração destes produtos. Portanto, acreditamos que a redução na concentração total de carotenoides nos iogurtes fermentados em co-cultura com *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo possa estar relacionado com a oxidação destes compostos por metabólitos gerados durante a fermentação em co-cultura, uma vez que nos leites fermentados (monocultura) esta redução não ocorreu. O antagonismo de culturas *starters* compostas de micro-organismos como *Streptococcus thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* em relação ao probiótico *L. acidophilus* já foi diversas vezes relatada, estando relacionada principalmente com a produção de metabólitos de efeito inibitório como o peróxido de hidrogênio (MOHAMMADI; SOHRABVANDI; MORTAZAVIAN, 2012; NG; YEUNG; TONG, 2011; SACCARO *et al.*, 2009a). Além disso, sabe-se que baixas concentrações de peróxido de hidrogênio já são capazes de resultar na degradação de carotenoides em alimentos, induzindo a sua oxidação (AUGSPOLE; RAKCEJEVA, 2013; RAVANFAR *et al.*, 2019; STOUT; PARK; DRAKE, 2017).

Os resultados apresentados também demonstraram que a bioacessibilidade dos carotenoides totais nos iogurtes e leites fermentados produzidos com polpa de

buriti variaram principalmente com relação ao tipo de cultura láctea utilizada na fermentação e com presença ou ausência do espessante goma xantana. Nestes produtos a utilização de *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo reduziu a bioacessibilidade dos carotenoides nos iogurtes e leites fermentados, enquanto que a utilização de goma xantana aumentou a bioacessibilidade destes compostos no iogurte.

Sabe-se que a bioacessibilidade de carotenoides durante o processo digestivo é dependente principalmente de fatores como: liberação dos carotenoides da matriz alimentar; solubilização dos carotenoides em uma fase lipídica; e, incorporação destes compostos em micelas mistas (HEDRÉN; DIAZ; SVANBERG, 2002; MUTSOKOTI *et al.*, 2017). Por este motivo, qualquer variável que influencie nestes fatores pode impactar na absorção de carotenoides. Apesar de alguns polissacarídeos como a amido, metilcelulose e pectina poderem influenciar negativamente a bioacessibilidade de lipídeos e carotenoides em alimentos (ESPINAL-RUIZ *et al.*, 2014; MUN *et al.*, 2016; RIQUELME *et al.*, 2020), o impacto da utilização de goma xantana na bioacessibilidade de carotenoides em produtos como iogurtes e leites fermentados ainda não é encontrada na literatura. Segundo McClements (2018) a utilização de agentes espessantes, gelificantes ou estabilizadores podem impactar na taxa e extensão da digestão lipídica e por consequência aumentar ou reduzir a bioacessibilidade de compostos como os carotenoides. Estes polissacarídeos ou fibras dietéticas como são classificados pelo autor podem interferir de diferentes maneiras, sendo estas: (I) Modificar as características dos fluidos intestinais pelo aumento ou gelificação, reduzindo assim, a difusão molecular e o acesso de componentes como sais biliares e enzimas digestivas à superfície lipídica; (II) Formar um revestimento no entorno das gotículas de lipídeos dificultando a ligação dos sais

biliares e enzimas digestivas e por consequência reduzir a sua taxa de digestão; (III) Alterar o estado de agregação dos lipídeos nos fluidos gastrointestinais, promovendo ou inibindo a floculação destas gotículas, o que no segundo caso pode reduzir a taxa de digestão lipídica pela dificuldade de acesso dos sais biliares e enzimas digestivas à superfície das gotículas no interior do floco; e, (IV) Interagir ou se ligar a outros componentes presentes como enzimas digestivas, sais biliares e micelas mistas, interferindo na digestão lipídica.

Fu e colaboradores (2019) relataram que a inclusão de goma xantana em emulsões contendo β -caroteno e nano partículas de glúten de trigo (WGN-XG) foi responsável por aumentar a bioacessibilidade deste carotenoide durante a digestão *in vitro*. Segundo os autores a adição de goma xantana facilitou a liberação de β -caroteno das gotículas lipídicas para a fase micelar devido à redução da coalescência destas partículas nos fluidos gastrointestinais, aumentando assim, a área de contato para a atuação das enzimas lipolíticas. Além disso, a presença deste polissacarídeo também foi relacionada com a possível redução na degradação dos carotenoides por compostos pro-oxidantes como íons metálicos (como Fe^{2+} e Fe^{3+}) devido à espessa proteção conferida pelo revestimento das gotículas de óleo na emulsão, podendo conferir proteção durante o processo digestivo (FU *et al.*, 2019; QIU *et al.*, 2015). Outra pesquisa recente também relatou que a produção de microemulsões de buriti, contendo surfactantes e óleo de milho aumentou a bioacessibilidade dos carotenoides totais presentes após a digestão simulada quando em comparação com o fruto *in natura* (BERNI *et al.*, 2020).

Até onde sabemos o impacto da fermentação por culturas lácteas e probióticas (submetidas ou não à condições de estresse) na bioacessibilidade de carotenoides é pouco relatada pela literatura. Além disso, poucos artigos trazem luz à conhecimentos

descritivos da atuação e influência destes micro-organismos durante os processos digestivos envolvendo a absorção de carotenoides. Apesar disso, sabe-se que bactérias lácticas do gênero *Lactobacillus* podem possuir um sistema enzimático denominado hidrolases de sais biliares (BSH), o qual é responsável pela desconjugação de sais biliares no trato gastrointestinal (TGI) (O'FLAHERTY *et al.*, 2018). A desconjugação de sais biliares é uma característica desejável para lactobacilos probióticos uma vez que estes compostos antimicrobianos podem impactar na viabilidade destes micro-organismos no intestino (BEGLEY; HILL; GAHAN, 2006; O'FLAHERTY *et al.*, 2018). A capacidade antimicrobiana dos sais biliares pode desencadear em danos ao DNA microbiano impactando na desorganização ou dissolução da membrana celular e acidificação do citoplasma (BEGLEY; HILL; GAHAN, 2006; RUIZ; MARGOLLES; SÁNCHEZ, 2013). Desta maneira, acredita-se que a capacidade de desconjugação de sais biliares contribua para a sobrevivência de micro-organismos no trato gastrointestinal (TGI) sendo portanto um dos critérios conhecidos e utilizados para a seleção de probióticos (FAO/WHO, 2002; NAGPAL *et al.*, 2012; O'FLAHERTY *et al.*, 2018).

Culturas probióticas comerciais de *L. acidophilus* já foram classificadas por possuírem atividade de hidrolases de sais biliares (SEDLÁČKOVÁ *et al.*, 2015). No entanto, o efeito do estresse oxidativo nas características fisiológicas e metabólicas de *L. acidophilus* durante o processo de digestão de lipídeos e compostos lipofílicos como os carotenoides ainda não é conhecido. Alguns artigos mencionam que a exposição a bile pode também levar à indução do estresse oxidativo em micro-organismos através da produção de espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio (BEGLEY; GAHAN; HILL, 2005; RUIZ; MARGOLLES; SÁNCHEZ, 2013). Sabe-se também que a pré-exposição de bactérias às condições de estresse pode levar a uma

adaptação cruzada conferindo proteção a outros tipos de estresse, diferentes do utilizado (HUANG *et al.*, 2016; LEVERRIER *et al.*, 2003; MA *et al.*, 2021). Além disso, alguns autores mencionam que as respostas adaptativas encontradas após pré-exposição à bile se relacionam a respostas gerais também encontradas em outros tipos de estresses como ácido e oxidativo (HAMON *et al.*, 2011; KOSKENNIEMI *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2013; LEVERRIER *et al.*, 2003; RUIZ *et al.*, 2012). Desta maneira, acreditamos que a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo possa ter implicado em uma maior resistência às condições deletérias encontradas no fluido intestinal conferindo uma maior sobrevivência desta bactéria e por consequência aumentando o seu impacto na bioacessibilidade de carotenoides.

Os sais biliares conjugados, devido a suas características anfifílicas, são extremamente importantes na absorção de lipídeos e compostos lipídicos como vitaminas e carotenoides pois atuam como emulsionantes e surfactantes durante a digestão intestinal auxiliando na micelização destes compostos (CORTE-REAL; BOHN, 2018; WILDE; CHU, 2011). Setchell e colaboradores (2013) relataram que crianças que possuíam defeitos genéticos na conjugação de sais biliares apresentavam deficiências de vitaminas lipossolúveis como D e E, além de baixos níveis sanguíneos das vitaminas A e K. Segundo os autores essa deficiência na absorção de vitaminas ocorreu principalmente pela incapacidade de formação de micelas mistas devido à redução da secreção biliar de sais biliares conjugados. Além disso, outros trabalhos já demonstraram a importância da concentração de sais biliares na bioacessibilidade de carotenoides, relatando que baixas concentrações destes compostos reduziram a bioacessibilidade de carotenoides em alimentos (BIEHLER *et al.*, 2011; TYSSANDIER; LYAN; BOREL, 2001).

Portanto, concluímos que muitos fatores podem estar associados com o aumento e redução da bioacessibilidade de carotenoides após a utilização de goma xantana e aplicação do probiótico *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo, respectivamente. Por este motivo, outros estudos mais específicos são necessários para melhor compreender os mecanismos envolvidos neste processo. Acreditamos que a inclusão de análises como microscopia óptica, quantificação de sais biliares conjugados e desconjugados, quantificação do probiótico durante o processo de digestão e características reológicas dos produtos auxiliariam em um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos. Além disso, mais estudos envolvendo o impacto das fermentações na bioacessibilidade de nutrientes deveriam ser investigados uma vez que são trabalhos muito escassos na literatura e pouco se sabe sobre o tema.

5 CONCLUSÃO

A inclusão de bagaço de laranja e polpa de buriti foram responsáveis pela modificação do perfil de metabólitos não voláteis produzidos nos leites fermentados e iogurtes avaliados além do aumento respectivo no teor de nutrientes importantes para a alimentação humana como cálcio e carotenoides. Além disso, observou-se que a utilização de diferentes culturas como a *starter* (*S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) e probiótica (*L. acidophilus*) submetida ou não a condições de estresse foi responsável por impactar na produção de metabólitos voláteis e na bioacessibilidade de cálcio e carotenoides dependendo dos produtos (leites fermentados e iogurtes) avaliados. A utilização de *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido, oxidativo e osmótico foi capaz de impactar no aparecimento de voláteis derivados de álcoois superiores e do catabolismo de aminoácidos em iogurtes e leites fermentados

naturais, contendo polpa de buriti e bagaço de laranja. Já a bioacessibilidade de cálcio em leites fermentados e iogurtes naturais e contendo bagaço de laranja foi reduzida com a utilização da fermentação em monocultura (LA) e em co-cultura com *L. acidophilus* padrão, sendo aumentada após a pré-submissão do probiótico aos estresses osmótico e oxidativo. Ainda, a bioacessibilidade de carotenoides nos leites fermentados e iogurtes contendo polpa de buriti foi influenciada pela aplicação de goma xantana e pelo tipo de cultura utilizada durante a fermentação, demonstrando aumento após a aplicação do espessante e redução após a aplicação de *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo.

Neste sentido, além de apresentarmos diversos fatores que podem estar relacionados com a bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em produtos fermentados contendo resíduos e polpas de frutas demonstramos que as condições de estresse podem impactar em diferentes parâmetros relacionados a qualidade sensorial e funcional de produtos fermentados. Desta maneira, mais estudos precisam ser realizados para melhor compreender os mecanismos relacionados com a fermentação destas matrizes e a utilização de culturas probióticas submetidas a condições de estresse.

6 AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (Processo #2016/12001-0).

7 REFERÊNCIAS

ADOLFSSON, O.; MEYDANI, S. N.; RUSSELL, R. M. Yogurt and gut function. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 245–256, 2004. DOI 10.1093/ajcn/80.2.245.

AHMED, M. I. *et al.* The effect of fermentation time on in vitro bioavailability of iron, zinc, and calcium of kisra bread produced from koreeb (*Dactyloctenium aegyptium*) seeds flour. **Microchemical Journal**, v. 154, p. 1–6, 2020. DOI 10.1016/j.microc.2020.104644.

ALVES FILHO, E. G. *et al.* ¹H NMR spectra dataset and solid-state NMR data of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Data in Brief**, v. 11, p. 136–146, 2017. DOI 10.1016/j.dib.2017.01.013.

AUGSPOLE, I.; RAKCEJEVA, T. Effect of hydrogen peroxide on the quality parameters of shredded carrots. **Research for Rural Development**, v. 1, p. 91–97, 2013.

BAILEY, R. L.; WEST, K. P.; BLACK, R. E. The epidemiology of global micronutrient deficiencies. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 66, n. suppl 2, p. 22–33, 2015. DOI 10.1159/000371618.

BATISTA, A. L. D. *et al.* Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses. **Food Research International**, v. 77, p. 627–635, 2015. DOI 10.1016/j.foodres.2015.08.017.

BEGLEY, M.; GAHAN, C. G. M.; HILL, C. The interaction between bacteria and bile. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 29, n. 4, p. 625–651, 2005. DOI 10.1016/j.femsre.2004.09.003.

BEGLEY, M.; HILL, C.; GAHAN, C. G. M. Bile salt hydrolase activity in probiotics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 3, p. 1729–1738, 2006. DOI 10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006.

BERNI, P. *et al.* Characterization of the behavior of carotenoids from pitanga (*Eugenia uniflora*) and buriti (*Mauritia flexuosa*) during microemulsion production and in a dynamic gastrointestinal system. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, n. 2, p. 650–662, 2020. DOI 10.1007/s13197-019-04097-7.

BIEHLER, E. *et al.* Dietary and host-related factors influencing carotenoid bioaccessibility from spinach (*Spinacia oleracea*). **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1328–1334, 2011. DOI 10.1016/j.foodchem.2010.09.110.

BINTSIS, T. Lactic acid bacteria: their applications in foods. **Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access**, v. 6, n. 2, p. 89–94, 2018. DOI 10.15406/jbmoa.2018.06.00182.

BOHN, T. *et al.* Mind the gap-deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites-a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 59, n. 7, p. 1307–1323, 2015. DOI 10.1002/mnfr.201400745.

BOSSCHER, D. *et al.* Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, v. 19, n. 7–8, p. 641–645, 2003. DOI 10.1016/S0899-9007(03)00063-7.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. **Carotenoids: Handbook**. Switzerland: Springer Basel AG, 2004.

BUDDRICK, O. *et al.* The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 1, p. 3–8, 2014. DOI 10.1016/j.jcs.2013.11.006.

CÁMARA-MARTOS, F.; AMARO-LÓPEZ, M. A. Influence of dietary factors on calcium bioavailability: A brief review. **Biological Trace Element Research**, v. 89, n. 1, p. 43–52, 2002. DOI 10.1385/BTER:89:1:43.

CAPORASO, N. *et al.* Effect of olive mill wastewater phenolic extract, whey protein isolate and xanthan gum on the behaviour of olive O/W emulsions using response surface methodology. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 66–76, 2016. DOI 10.1016/j.foodhyd.2016.04.040.

CASTRO, L. A. *et al.* From orange juice by-product in the food industry to a functional ingredient: Application in the circular economy. **Foods**, v. 9, n. 593, p. 1–17, 2020. DOI 10.3390/foods9050593.

CELUS, M. *et al.* Influence of pectin structural properties on interactions with divalent cations and its associated functionalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1576–1594, 2018. DOI 10.1111/1541-4337.12394.

CHENG, H. Volatile flavor compounds in yogurt: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, p. 938–950, 2010. DOI 10.1080/10408390903044081.

CHIANG, S. S.; PAN, T. M. Antiosteoporotic effects of *Lactobacillus*-fermented soy skim milk on bone mineral density and the microstructure of femoral bone in ovariectomized mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 7734–7742, 2011. DOI 10.1021/jf2013716.

CHO, Y.; OH, S. Casein phosphopeptide (CPP)-producing activity and proteolytic ability by some lactic acid bacteria. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, v. 30, n. 3, p. 443–448, 2010. DOI 10.5851/kosfa.2010.30.3.443.

ÇINAR, I. Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 363–367, 2004. DOI 10.1016/j.lwt.2003.10.006.

CIZEIKIENE, D. *et al.* Phytase activity of lactic acid bacteria and their impact on the solubility of minerals from wholemeal wheat bread. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 66, n. 7, p. 736–742, 2015. DOI 10.3109/09637486.2015.1088939.

CONDURSO, C. *et al.* Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. **International Dairy Journal**, v. 18, n. 8, p. 819–825, 2008. DOI 10.1016/j.idairyj.2007.12.005.

CORTE-REAL, J.; BOHN, T. Interaction of divalent minerals with liposoluble nutrients and phytochemicals during digestion and influences on their bioavailability – a review. **Food Chemistry**, v. 252, p. 285–293, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.01.113.

DABAJ, F. K. *et al.* Evaluation of the volatilomic potentials of the *Lactobacillus casei* 431 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 in fermented milk. **CYTA - Journal of Food**, v. 18, n. 1, p. 291–300, 2020. DOI 10.1080/19476337.2020.1741688.

DAI, J. *et al.* Fermentation improves calcium bioavailability in *Moringa oleifera* leaves and prevents bone loss in calcium-deficient rats. **Food Science and Nutrition**, v. 8, p. 3692–3703, 2020. DOI 10.1002/fsn3.1653.

DAN, T. *et al.* Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2488–2500, 2017. DOI 10.3168/jds.2016-11528.

DARNTON-HILL, I. Chapter 2: Prevalence, causes, and consequences of micronutrient deficiencies. The gap between need and action. In: MANNAR, M.G. V.; HURRELL, R. F. (org.). **Food Fortification in a Globalized World**. London: Elsevier Inc., 2018. p. 13–28. DOI 10.1016/b978-0-12-802861-2.00002-x.

DOMINGOS, L. D. **Influência da redução de gordura e da adição de concentrado proteico de soro nas características do queijo prato durante a maturação**. 2015. 117 f. UNICAMP, 2015.

DONKOR, O. N. *et al.* Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. **Lait**, v. 86, n. 21, p. 21–38, 2007. DOI 10.1051/lait:2006023.

DUBEY, M. R.; PATEL, V. P. Probiotics: A promising tool for calcium absorption. **The Open Nutrition Journal**, v. 12, n. 1, p. 59–69, 2018. DOI 10.2174/1874288201812010059.

EL-GAWAD, I. A. Abd *et al.* Bioavailability of Ca, P and Zn and bone mineralization in rats fed yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, v. 4, n. 2, p. 110–126, 2014. DOI 10.9734/ejnfs/2014/6856.

ELIZABETH, W. Ng.; YEUNG, M.; TONG, P. S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 169–175, 2011. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006.

ERIKSEN, J. N. *et al.* Adaption of an in vitro digestion method to screen carotenoid liberation and in vitro accessibility from differently processed spinach preparations. **Food Chemistry**, v. 224, p. 407–413, 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2016.11.146.

ESPINAL-RUIZ, M. *et al.* Impact of dietary fibers [methyl cellulose, chitosan, and pectin] on digestion of lipids under simulated gastrointestinal conditions. **Food and Function**, v. 5, n. 12, p. 3083–3095, 2014. DOI 10.1039/c4fo00615a.

FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report**. London: [s.n.], 2002. p. 1–11.

FAO. **The state of food and agriculture: Moving forward on food loss and waste reduction**. Rome: [s.n.], 2019.

FRATIANNI, A. *et al.* Degradation of carotenoids in apricot (*Prunus armeniaca* L.) during drying process. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 68, p. 241–246, 2013. DOI 10.1007/s11130-013-0369-6.

FREITAS, J. V. B. *et al.* Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. **Talanta**, v. 180, n. October 2017, p. 329–336, 2018. DOI 10.1016/j.talanta.2017.12.053.

FU, D. *et al.* Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 80–89, 2019. DOI 10.1016/j.foodhyd.2018.10.032.

GAHRUIE, H. H. *et al.* Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. **Food Science and Human Wellness**, v. 4, p. 1–8, 2015. DOI 10.1016/j.fshw.2015.03.002.

GAHRUIE, H. H.; ESKANDARI, M. H.; MESBAHI, G. Development of functional yogurt fortified with wheat germ and strawberry as functional ingredients. **Progress in Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 388–398, 2019. DOI 10.23751/pn.v21i1-S.6503.

GARCIA, C. *et al.* Lactic fermented fruit or vegetable juices: Past, present and future. **Beverages**, v. 6, n. 8, p. 1–31, 2020. DOI 10.3390/beverages6010008. .

GRAÇA, J. S. da *et al.* Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products. **In submission process for International Journal of Food Microbiology**, 2021.

GUÉGUEN, L.; POINTILLART, A. The bioavailability of dietary calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 19, n. 2, p. 119S-136S, 2000. DOI 10.1080/07315724.2000.10718083.

GUERZONI, M. E. *et al.* Generation of aroma compounds in sourdough: Effects of stress exposure and lactobacilli-yeasts interactions. **Food Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 139–148, 2007. DOI 10.1016/j.fm.2006.07.007.

HAMON, E. *et al.* Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. **BMC Microbiology**, v. 11, n. 63, p. 1–11, 2011. DOI 10.1186/1471-2180-11-63.

HANSEN, C. *et al.* Intestinal calcium absorption from different calcium preparations: Influence of anion and solubility. **Osteoporosis International**, v. 6, p. 386–393, 1996. DOI 10.1007/BF01623012.

HASAN, M. N.; SULTAN, M. Z.; MAR-E-UM, M. Significance of fermented food in nutrition and food science. **Journal of Scientific Research**, v. 6, n. 2, p. 373–386, 2014. DOI 10.3329/jsr.v6i2.16530.

HASKELL, M. J. Provitamin A carotenoids as a dietary source of vitamin A. In: TANUMIHARDJO, S. A.; BENDICH, A. (org.). **Carotenoids and Human Health**. New York: Springer, 2013. p. 248–260. DOI 10.1007/978-1-62703-203-2.

HEANEY, R. P.; RECKER, R. R.; WEAVER, C. M. Absorbability of calcium sources: The limited role of solubility. **Calcified Tissue International**, v. 46, n. 5, p. 300–304, 1990. DOI 10.1007/BF02563819.

HEDRÉN, E.; DIAZ, V.; SVANBERG, U. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56, n. 5, p. 425–430, 2002. DOI 10.1038/sj.ejcn.1601329.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, vol. 11, p. 506–514, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

HOF, K. H. van het *et al.* Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **The Journal of Nutrition**, v. 130, n. 3, p. 503–506, 2000. DOI <https://doi.org/10.1093/jn/130.3.503>.

HUANG, R. *et al.* Physiological and transcriptional responses and cross protection of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 under acid stress. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 2, p. 1002–1010, 2016. DOI 10.3168/jds.2015-9993. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9993>.

ISANGA, J.; ZHANG, G. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1132–1138, 2009. DOI 10.1016/j.lwt.2009.01.014.

KÅRLUND, A. *et al.* Harnessing microbes for sustainable development: Food fermentation as a tool for improving the nutritional quality of alternative protein sources. **Nutrients**, v. 12, p. 1–26, 2020. DOI 10.3390/nu12041020.

KŁOBUKOWSKI, J. A.; SKIBNIEWSKA, K. A.; KOWALSKI, I. M. Calcium bioavailability from dairy products and its release from food by in vitro. **Journal of Elementology**, v. 19, n. 1, p. 277–288, 2014. DOI 10.5601/jelem.2014.19.1.436.

KOSKENNIEMI, K. *et al.* Proteomics and transcriptomics characterization of bile stress response in probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 10, n. 2, 2011. DOI 10.1074/mcp.M110.002741.

KUN, S. *et al.* Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. **Process Biochemistry**, v. 43, n. 8, p. 816–821, 2008. DOI 10.1016/j.procbio.2008.03.008.

KYOMUGASHO, C. *et al.* Pectin nanostructure influences pectin-cation interactions and in vitro-bioaccessibility of Ca²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺ and Mg²⁺-ions in model systems. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 299–310, 2017. DOI 10.1016/j.foodhyd.2016.07.030.

LAHTINEN, S. J. Probiotic viability – does it matter? **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 23, 2012. DOI 10.3402/mehd.v23i0.18567.

LEE, J. Y. *et al.* Proteomic and transcriptional analysis of *Lactobacillus johnsonii* PF01 during bile salt exposure by itraq shotgun proteomics and quantitative RT-PCR. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 1, p. 432–443, 2013. DOI 10.1021/pr300794y.

LEVERRIER, P. *et al.* Susceptibility and adaptive response to bile salts in *Propionibacterium freudenreichii*: Physiological and proteomic analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 3809–3818, 2003. DOI 10.1128/AEM.69.7.3809-3818.2003.

LI, R.; DING, Q.; ZHAO, X. Impact of milk fortification on the microbiological and physicochemical properties of set-type skimmed yoghurt using three commercial soluble prebiotics. **Foods**, v. 8, n. 181, p. 1–11, 2019.

LI, S. *et al.* Changes in proteolysis in fermented milk produced by *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus plantarum* or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* during refrigerated storage. **Molecules**, v. 24, p. 1–13, 2019. DOI 10.3390/molecules24203699.

LICANDRO, H. *et al.* How fermentation by lactic acid bacteria can address safety issues in legumes food products? **Food Control**, v. 110, p. 1–8, 2020. DOI 10.1016/j.foodcont.2019.106957.

LÓPEZ-HUERTAS, E. *et al.* Absorption of calcium from milks enriched with fructooligosaccharides, caseinophosphopeptides, tricalcium phosphate, and milk solids. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 2, p. 310–316, 2006. DOI 10.1093/ajcn/83.2.310.

LORIEAU, L. *et al.* Bioaccessibility of four calcium sources in different whey-based dairy matrices assessed by in vitro digestion. **Food Chemistry**, v. 245, p. 454–462, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.10.108.

LU, Y. *et al.* Complex mixture analysis of organic compounds in yogurt by NMR spectroscopy. **Metabolites**, v. 6, n. 19, p. 1–11, 2016. DOI 10.3390/metabo6020019.

LU, Y. *et al.* Real-Time monitoring of chemical changes in three kinds of fermented milk products during fermentation using quantitative difference Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 1479–1487, 2018. DOI 10.1021/acs.jafc.7b05279.

M'HIRI, N. *et al.* Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review.

Food Reviews International, v. 33, n. 6, p. 587–619, 2017. DOI 10.1080/87559129.2016.1196489.

MA, J. *et al.* Stress adaptation and cross-protection of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0628. **CyTA - Journal of Food**, v. 19, n. 1, p. 72–80, 2021. DOI 10.1080/19476337.2020.1859619.

MAPELLI-BRAHM, P. *et al.* The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. **Trends in Food Science and Technology**, v. 99, p. 389–401, 2020. DOI 10.1016/j.tifs.2020.03.013.

MARCO, M. L. *et al.* Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, p. 94–102, 2017. DOI 10.1016/j.copbio.2016.11.010.

MATAR, C. *et al.* The effect of milk fermentation by *Lactobacillus helveticus* on the release of peptides during in vitro digestion. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 6, p. 971–979, 1996. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(96)76448-2.

MCCLEMENTS, D. J. Enhanced delivery of lipophilic bioactives using emulsions: A review of major factors affecting vitamin, nutraceutical, and lipid bioaccessibility. **Food and Function**, v. 9, n. 1, p. 22–41, 2018. DOI 10.1039/c7fo01515a.

MEYBODI, N. M. *et al.* Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. **International Dairy Journal**, v. 109, p. 1–10, 2020. DOI 10.1016/j.idairyj.2020.104793.

MILANI, J.; MALEKI, G. Hydrocolloids in Food Industry. In: VALDEZ, B. (org.). **Food Industrial Processes - Methods and Equipment**. [s.l.]: IntechOpen, 2012. p. 17–38. DOI 10.5772/2491.

MIQUEL, E. *et al.* Casein phosphopeptides released by simulated gastrointestinal digestion of infant formulas and their potential role in mineral binding. **International Dairy Journal**, v. 16, n. 9, p. 992–1000, 2006. DOI 10.1016/j.idairyj.2005.10.010.

MOHAMMADI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. **Engineering in Life Sciences**, v. 12, n. 4, p. 399–409, 2012. DOI 10.1002/elsc.201100125.

MUN, S. *et al.* Influence of methylcellulose on attributes of β -carotene fortified starch-based filled hydrogels: Optical, rheological, structural, digestibility, and bioaccessibility properties. **Food Research International**, v. 87, p. 18–24, 2016. DOI 10.1016/j.foodres.2016.06.008.

MUTSOKOTI, L. *et al.* Carotenoid bioaccessibility and the relation to lipid digestion: A kinetic study. **Food Chemistry**, v. 232, p. 124–134, 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.04.001.

NAGPAL, R. *et al.* Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: A review. **FEMS Microbiology Letters**, v. 334, n. 1, p. 1–15, 2012. DOI 10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x.

NARVA, M. *et al.* Effects of long-term intervention with *Lactobacillus helveticus*-fermented milk on bone mineral density and bone mineral content in growing rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 48, n. 4, p. 228–234, 2004. DOI 10.1159/000080455.

NASSERI, A. T.; THIBAUT, J.; RALET, M. Citrus pectin: Structure and application in acid dairy drinks. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**. 2 Special ed. [s.l.]: Global Science Books, 2008. p. 60–70.

NESTLE, M. **Food politics: How the food industry influences nutrition and health**. Berkeley: University of California Press, 2013.

NG, E. W.; YEUNG, M.; TONG, P. S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 145, n. 1, p. 169–175, 2011. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006.

NGOUNOU, C. J. *et al.* Mise en evidence de la biodisponibilité du calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé de zébu. **Journal of Food Engineering**, v. 57, p. 301–304, 2003. DOI 10.1016/S0260-8774(02)00302-3.

NISHITANI, Y. *et al.* Genotypic analyses of lactobacilli with a range of tannase activities isolated from human feces and fermented foods. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 27, n. 1, p. 109–117, 2004. DOI 10.1078/0723-2020-00262.

NKHATA, S. G. *et al.* Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. **Food Science and Nutrition**, v. 6, p. 2446–2458, 2018. DOI 10.1002/fsn3.846.

O'FLAHERTY, S. *et al.* The *Lactobacillus* bile salt hydrolase repertoire reveals niche-specific adaptation. **mSphere** 3:e00140-18., p. 1–13, 2018.

ÖZER, B.; ATASOY, F. Effect of addition of amino acids, treatment with β -galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, v. 55, n. 4, p. 166–170, 2002. DOI 10.1046/j.1471-0307.2002.00041.x.

PACHECO, M. T.; MORENO, F. J.; VILLAMIEL, M. Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 2, p. 868–876, 2019. DOI 10.1002/jsfa.9257.

PAPADIMITRIOU, K. *et al.* Stress physiology of lactic acid bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p. 837–890, 2016. DOI 10.1128/mmbr.00076-15.

PARADA, J.; AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 2, p. 21–32, 2007. DOI 10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x.

PARLINDUNGAN, E.; MAY, B. K.; JONES, O. A. H. Metabolic insights into the effects of nutrient stress on *Lactobacillus plantarum* B21. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 6, p. 1–11, 2019. DOI 10.3389/fmolb.2019.00075.

PARVEZ, S. *et al.* Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, p. 1171–1185, 2006. DOI 10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x.

PÉNICAUD, C. *et al.* Degradation of β -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. **Fruits**, v. 66, n. 6, p. 417–440, 2011. DOI 10.1051/fruits/2011058.

PINTO, G. *et al.* Chapter 1: Bioactive casein phosphopeptides in dairy products as nutraceuticals for functional foods. **Milk Protein**. [s.l.]: InTech, 2012. p. 3–44. DOI 10.5772/50725.

QIU, C. *et al.* Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion. **Food Research International**, v. 74, p. 131–139, 2015. DOI 10.1016/j.foodres.2015.04.022.

RAES, K. *et al.* Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. **Trends in Food Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 32–41, 2014. DOI 10.1016/j.tifs.2014.02.002.

RAVANFAR, R. *et al.* Catalyzed oxidation of carotenoids by lactoperoxidase in the presence of ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 1742–1748, 2019. DOI 10.1021/acs.jafc.8b06558.

REZAC, S. *et al.* Fermented foods as a dietary source of live organisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1–29, 2018. DOI 10.3389/fmicb.2018.01785.

RIQUELME, N. *et al.* Influence of the particle size and hydrocolloid type on lipid digestion of thickened emulsions. **Food and Function**, v. 11, n. 7, p. 5955–5964, 2020. DOI 10.1039/d0fo01202e.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides**. Brasília: MMA/SBF, 2008. v. 53.

RODRÍGUEZ, L. G. R. *et al.* Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. **Food Research International**, 2020. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109854.

ROMELLE, F. D.; RANI, A.; MANOHAR, R. S. Chemical composition of some selected fruit peels. **European Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 4, p. 12–21, 2016. Disponível em: www.eajournals.org.

ROSS, A. C.; HARRISON, E. H. Vitamin A: Nutrition aspects of retinoids and carotenoids. In: ZEMPLÉNI, Janos *et al.* (org.). **Handbook of Vitamins**. 4th. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 1–39.

ROSSO, V. V. de; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **J. Agric. Food Chem.** v. 55, p. 5062–5072, 2007. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0705421>.

ROZENBERG, S. *et al.* Effects of dairy products consumption on health: Benefits and beliefs — A commentary from the belgian bone club and the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases. **Calcified Tissue International**, v. 98, n. 1, p. 1–17, 2016. DOI 10.1007/s00223-015-0062-x.

RUIZ, L. *et al.* Discovering novel bile protection systems in *Bifidobacterium breve* UCC2003 through functional genomics. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 4, p. 1123–1131, 2012. DOI 10.1128/AEM.06060-11.

RUIZ, L.; MARGOLLES, A.; SÁNCHEZ, B. Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1–8, 2013. DOI 10.3389/fmicb.2013.00396.

SACCARO, D. M. *et al.* The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, n. 3, p. 397–404, 2009. DOI 10.1111/j.1471-0307.2009.00497.x.

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 6, p. 587–597, 2010. DOI 10.1007/s13197-010-0162-6.

SCHALOW, S. *et al.* Orange pulp and peel fibres: pectin-rich by-products from citrus processing for water binding and gelling in foods. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 2, p. 235–244, 2018. DOI 10.1007/s00217-017-2950-y.

SCHUCHARDT, J. P.; HAHN, A. Intestinal absorption and factors influencing bioavailability of magnesium - An update. **Current Nutrition & Food Science**, v. 13, n. 4, p. 260–278, 2017. DOI 10.2174/1573401313666170427162740.

SEDLÁČKOVÁ, P. *et al.* Two different methods for screening of bile salt hydrolase activity in *Lactobacillus* strains. Czech **Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 1, p. 13–18, 2015. DOI 10.17221/299/2014-CJFS.

SENDRA, E. *et al.* Effect of food composition on probiotic bacteria viability. **Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion**. [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. p. 257–269. DOI 10.1016/B978-0-12-802189-7.00017-4.

SERRAZANETTI, D. I. *et al.* Acid stress-mediated metabolic shift in *Lactobacillus sanfranciscensis* LSCE1. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 8, p. 2656–2666, 2011. DOI 10.1128/AEM.01826-10.

SERRAZANETTI, D. I. *et al.* Dynamic stresses of lactic acid bacteria associated to fermentation processes. In: KONGO, J. Marcelino (org.). **Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes**. Rijeka: InTech, 2013. p. 539–570. DOI 10.5772/51049.

SERRAZANETTI, D. I. *et al.* Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. **Food Microbiology**, v. 26, n. 7, p. 700–711, 2009. DOI 10.1016/j.fm.2009.07.007.

SETCHELL, K. D.R. *et al.* Genetic defects in bile acid conjugation cause fat-soluble vitamin deficiency. **Gastroenterology**, v. 144, n. 5, p. 945–955, 2013. DOI 10.1053/j.gastro.2013.02.004.

SETTACHAIMONGKON, S. *et al.* Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. **Food Microbiology**, v. 49, p. 104–115, 2015. DOI 10.1016/j.fm.2015.01.011.

SETTACHAIMONGKON, S. *et al.* Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. **Food Microbiology**, v. 59, p. 14–22, 2016. DOI 10.1016/j.fm.2016.04.008.

SHARMA, N. *et al.* Phytase producing lactic acid bacteria: Cell factories for enhancing micronutrient bioavailability of phytate rich foods. **Trends in Food Science and Technology**, v. 96, p. 1–12, 2020. DOI 10.1016/j.tifs.2019.12.001.

SILVA-ESPINOZA, M. A. *et al.* The impact of freeze-drying conditions on the physico-chemical properties and bioactive compounds of a freeze-dried orange puree. **Foods**, v. 9, n. 32, p. 1–15, 2020.

SILVA, J. G. S.; REBELLATO, A. P.; *et al.* Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. **Food Research International**, v. 97, p. 162–169, 2017a. DOI 10.1016/j.foodres.2017.04.005.

SILVA, J. G. S.; ORLANDO, E. A.; *et al.* Optimization and validation of a simple method for mineral potential evaluation in citrus residue. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 6, p. 1899–1908, 2017b. DOI 10.1007/s12161-016-0748-3. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s12161-016-0748-3>.

SRIVASTAVA, R. K. Enhanced shelf life with improved food quality from fermentation processes. **Journal of Food Technology and Preservation**, v. 2, n. 3, p. 1–7, 2018. Disponível em: <http://www.alliedacademies.org/food-technology-and-preservation/>.

STOUT, M. A.; PARK, C. W.; DRAKE, M. A. The effect of bleaching agents on the degradation of vitamins and carotenoids in spray-dried whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 10, p. 7922–7932, 2017. DOI 10.3168/jds.2017-12929. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12929>.

SUN, N. *et al.* Food protein-derived calcium chelating peptides: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 58, p. 140–148, 2016. DOI 10.1016/j.tifs.2016.10.004.

SUVARNA, V.C. *et al.* Enhancement of bioavailable iron and calcium contents in fermented linseed (*Linum usitatissimum* L.) beverages. **Asian Journal of Dairy and Food Research**, v. 37, n. 4, p. 331–334, 2018. DOI 10.18805/ajdfr.dr-1397.

TANG, A. L. *et al.* Fermentation of calcium-fortified soymilk with *Lactobacillus*: Effects on calcium solubility, isoflavone conversion, and production of organic acids. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. 431–436, 2007. DOI 10.1111/j.1750-3841.2007.00520.x.

TANG, Y. C.; CHEN, B. H. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. **Food Chemistry**, v. 69, n. 1, p. 11–17, 2000. DOI 10.1016/S0308-8146(99)00216-2.

TANGYU, M. *et al.* Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, p. 9263–9275, 2019. DOI 10.1007/s00253-019-10175-9.

TERPOU, A. *et al.* Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. **Nutrients**, v. 11, p. 1–32, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/7/1591>.

TULCHINSKY, T. H. Micronutrient deficiency conditions: Global health issues. **Public Health Reviews**, v. 32, n. 1, p. 243–255, 2010.

TURRONI, S. *et al.* Oxalate consumption by lactobacilli: Evaluation of oxalyl-CoA decarboxylase and formyl-CoA transferase activity in *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, p. 1600–1609, 2007. DOI 10.1111/j.1365-2672.2007.03388.x.

TYSSANDIER, V.; LYAN, B.; BOREL, P. Main factors governing the transfer of carotenoids from emulsion lipid droplets to micelles. **Biochimica et Biophysica Acta**

- **Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1533, n. 3, p. 285–292, 2001. DOI 10.1016/S1388-1981(01)00163-9.

USDA. Citrus: World markets and trade. 2020. **United States Department of Agriculture**. Foreign Agricultural Service. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/%0Acitrus.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2021.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463–471, 1963.

WHO/FAO. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: WHO Press, World Health Organization, 2006.

WHO. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005**. Geneva: World Health Organization, 2009.

WIDYASTUTI, Y.; ROHMATUSSOLIHAT; FEBRISANTOSA, A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. **Food and Nutrition Sciences**, v. 05, p. 435–442, 2014. DOI 10.4236/fns.2014.54051.

WILDE, P. J.; CHU, B. S. Interfacial & colloidal aspects of lipid digestion. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 165, n. 1, p. 14–22, 2011. DOI 10.1016/j.cis.2011.02.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2011.02.004>.

WISE, B. M. *et al.* **PLS Toolbox**. [s.l.: s.n.], 2006. Disponível em: http://mitr.p.lodz.pl/raman/jsurmacki/pliki/zajecia/LMDiT/cw4i5/LMDiT_PLS_Manual_4.pdf.

WISHART, D. S. *et al.* HMDB: The human metabolome database. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. suppl. 1, p. 521–526, 2007. DOI 10.1093/nar/gkl923.

XAVIER, A. A. O. *et al.* Desenvolvimento e validação de método espectrofotométrico para determinação de corante à base de luteína adicionado em

iogurte desnatado. **Quimica Nova**, v. 35, n. 10, p. 2057–2062, 2012. DOI 10.1590/S0100-40422012001000028.

XAVIER, A. A. O. *et al.* Fat content affects bioaccessibility and efficiency of enzymatic hydrolysis of lutein esters added to milk and yogurt. **Food Research International**, v. 65, p. 171–176, 2014. DOI 10.1016/j.foodres.2014.06.016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.016>.

ZHANG, C. *et al.* Mild heat stress limited the post-acidification caused by *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 in fermented milk. **Biotechnology Letters**, v. 41, p. 633–639, 2019. DOI 10.1007/s10529-019-02669-3.

8 FIGURAS

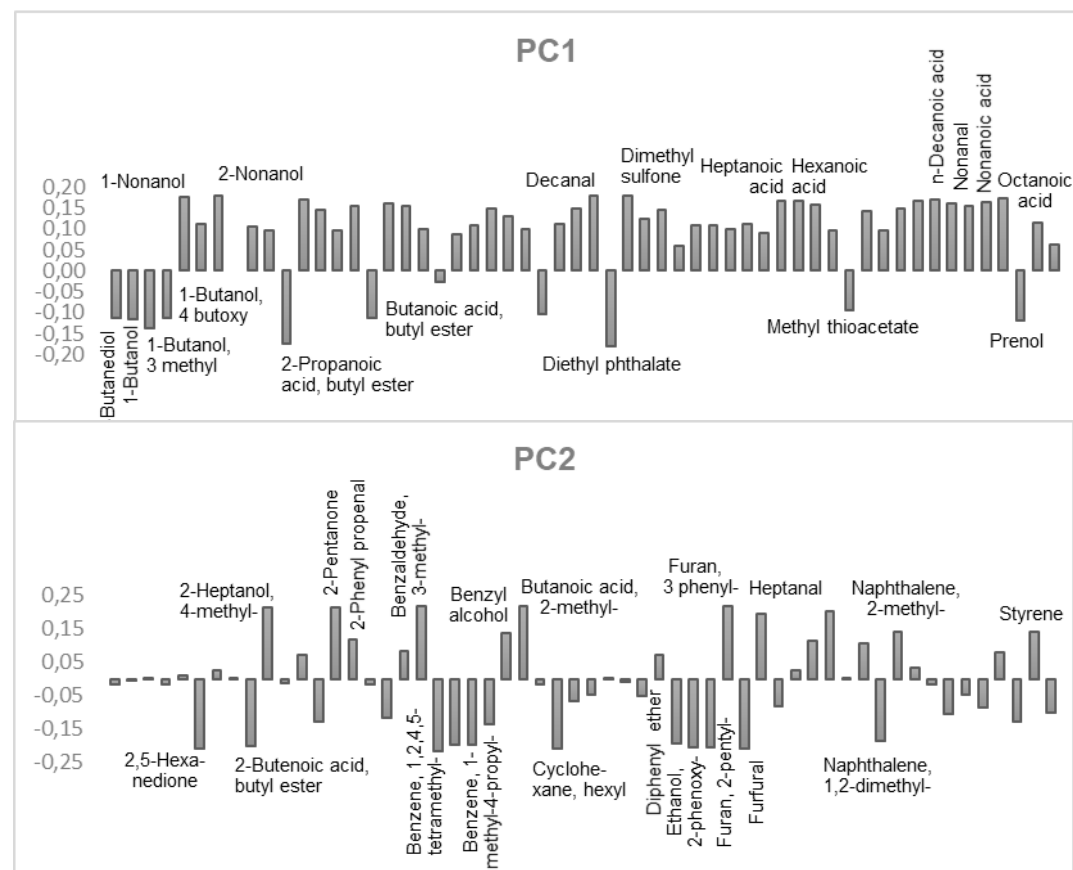
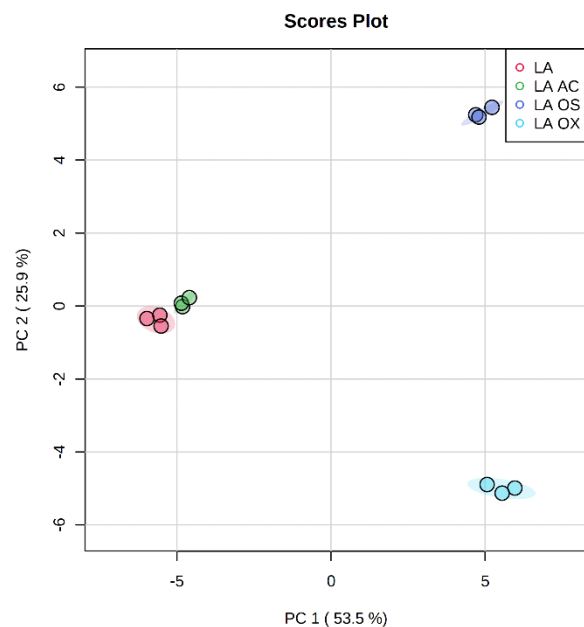


Figure 1. PCA of natural fermented milk volatile compounds in the ending of fermentation.

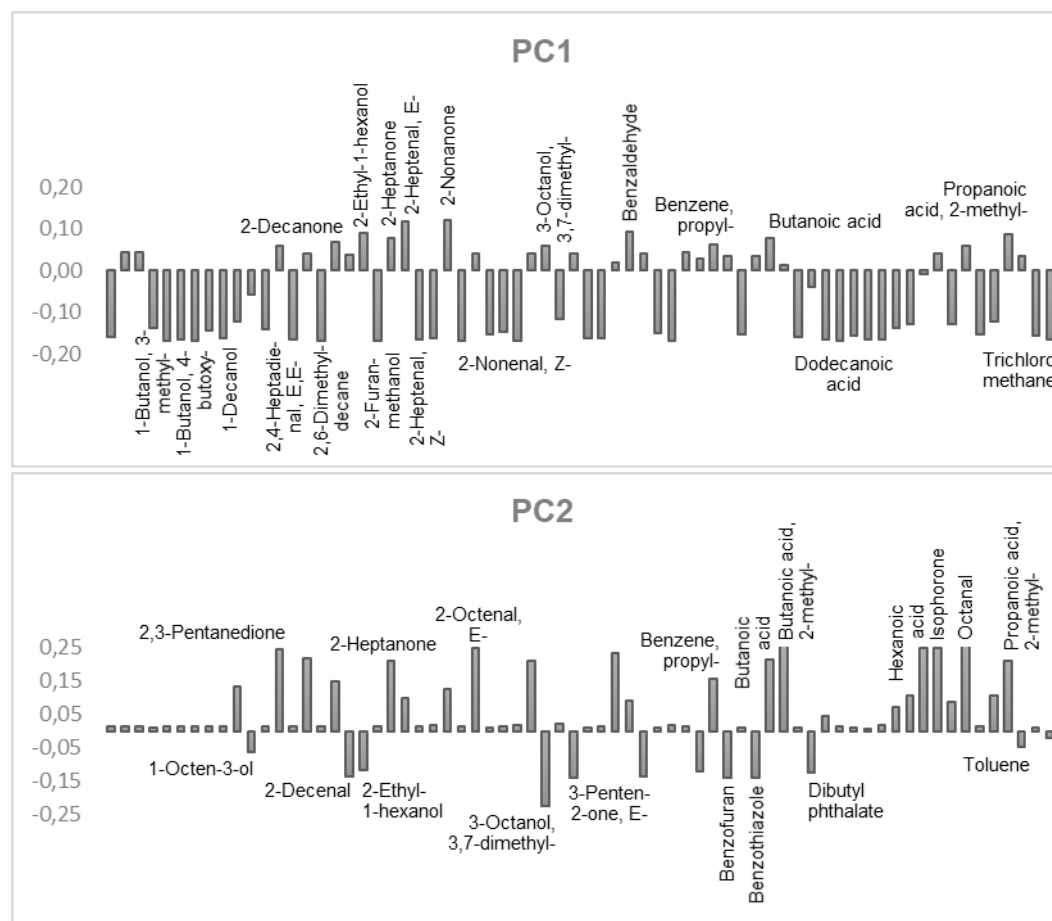
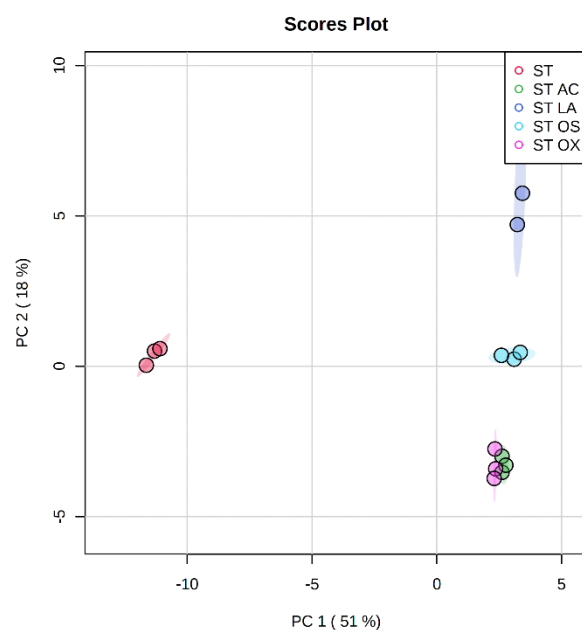


Figure 2. PCA of natural yogurt volatile compounds in the ending of fermentation.

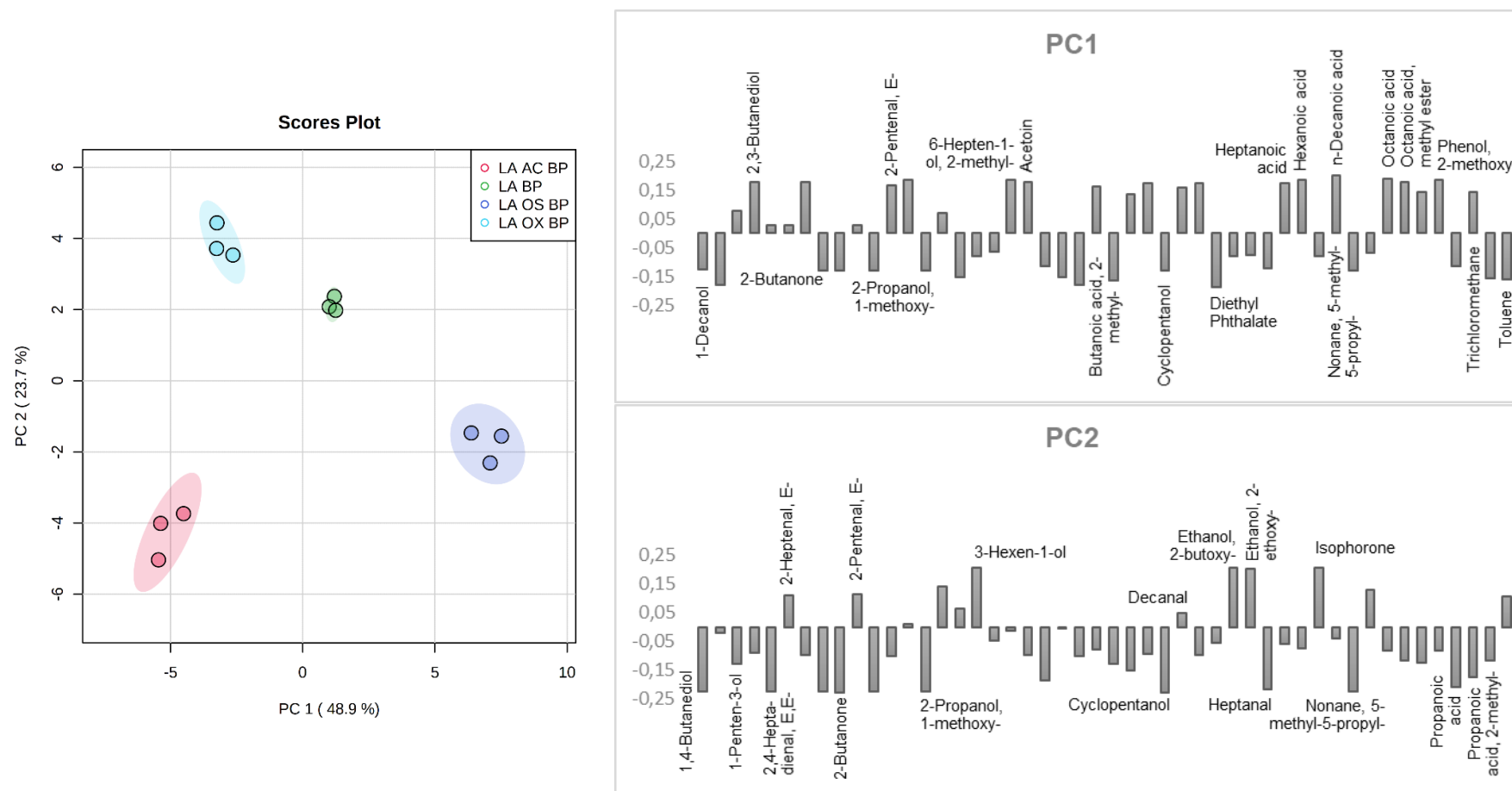


Figure 3. PCA of buriti pulp ferment milk volatile compounds in the ending of fermentation.

Figure 4. PCA of buriti pulp yogurt volatile compounds in the ending of fermentation.

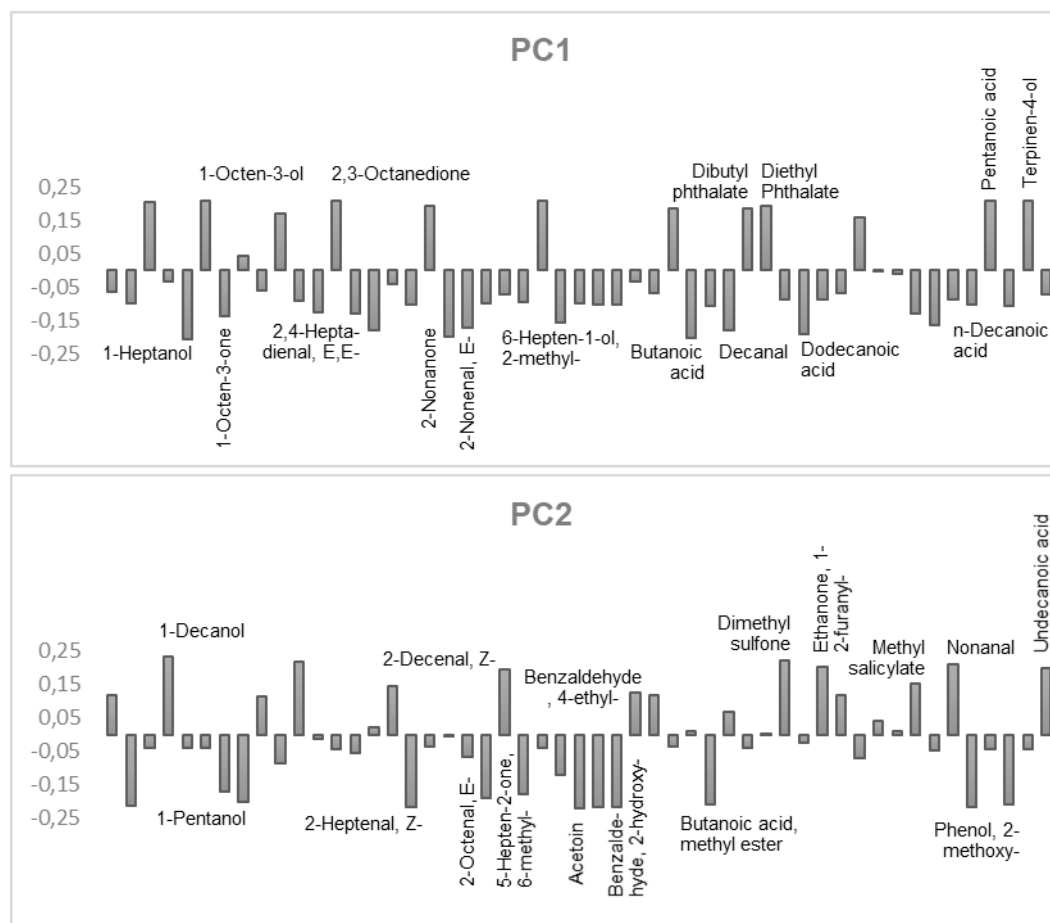
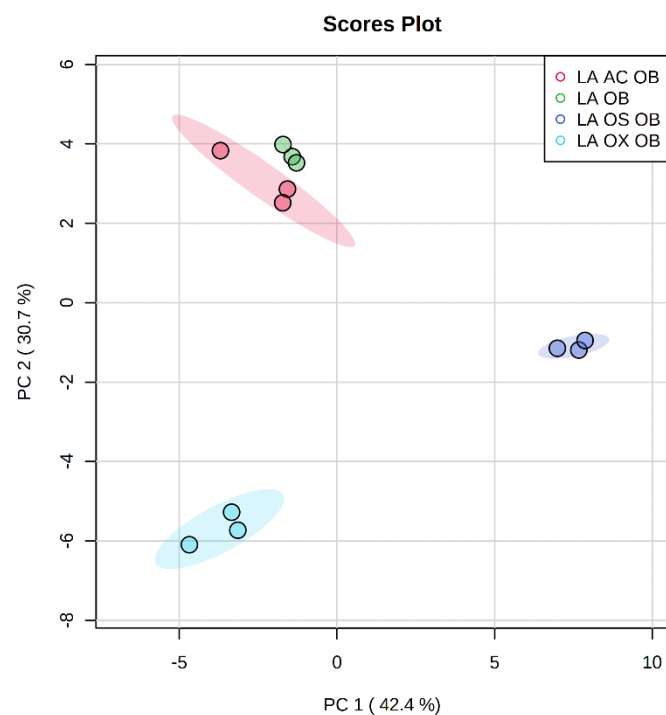


Figure 5. PCA of orange bagasse fermented milk volatile compounds in the ending of fermentation.

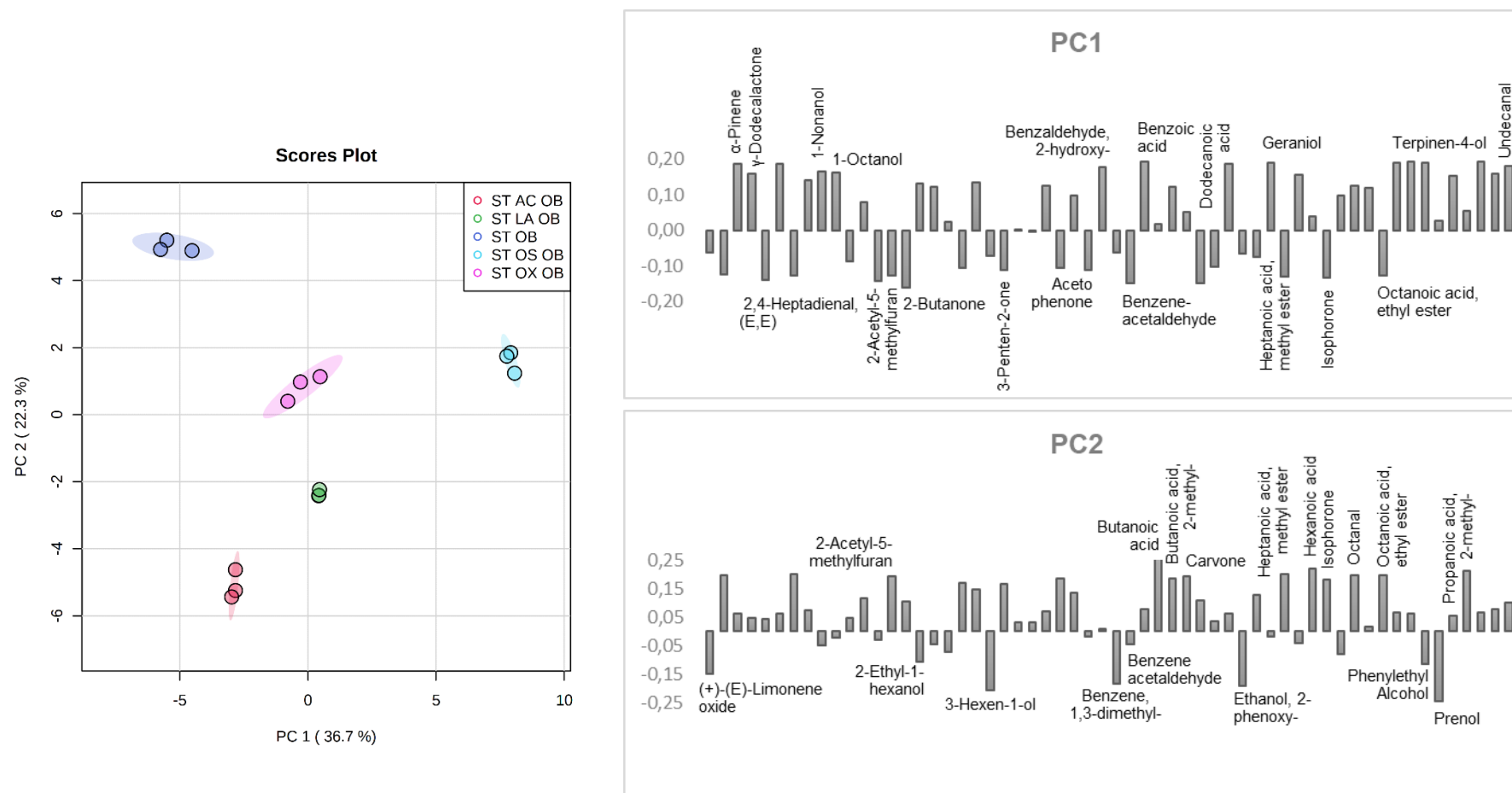


Figure 6. PCA of orange bagasse yogurt volatile compounds in the ending of fermentation.

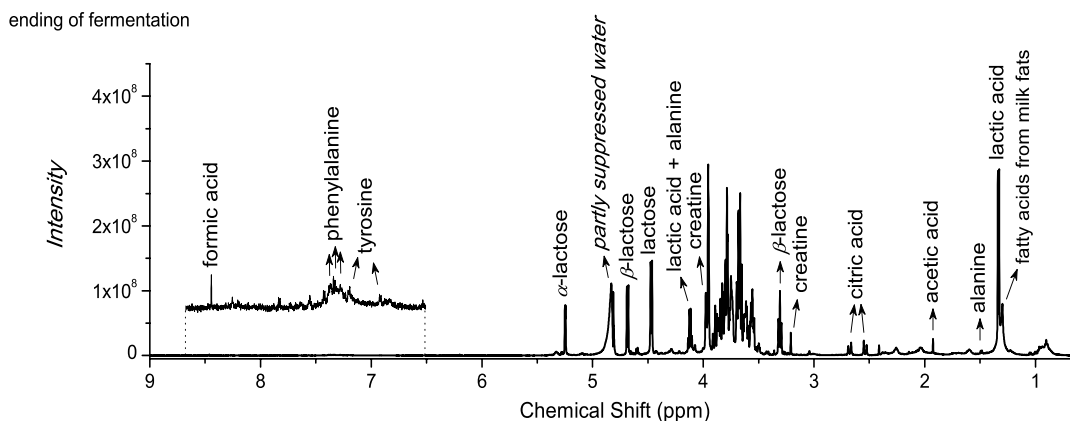


Figure 7. Representatives ^1H NMR spectra of an aqueous extract from yogurt in the ending of a general fermentation process.

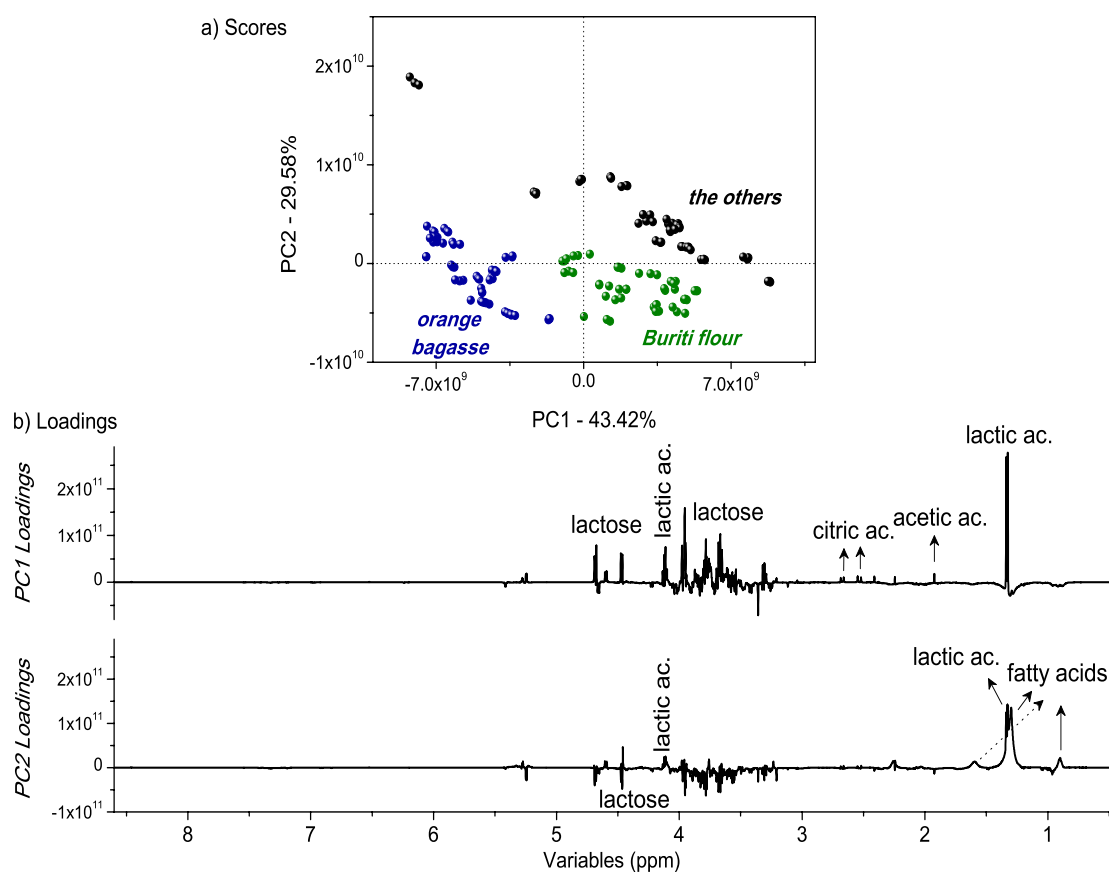


Figure 8. PCA of yogurts under different fermentation processing in the ending of treatment: a) $\text{PC1} \times \text{PC2}$ scores coordinate system; b) relevant loadings plotted in lines form in the same intensity. The yogurts with insertion of orange bagasse are illustrated in blue, insertion of buriti pulp in green, and the others samples with no relevant separation are illustrated in black color.

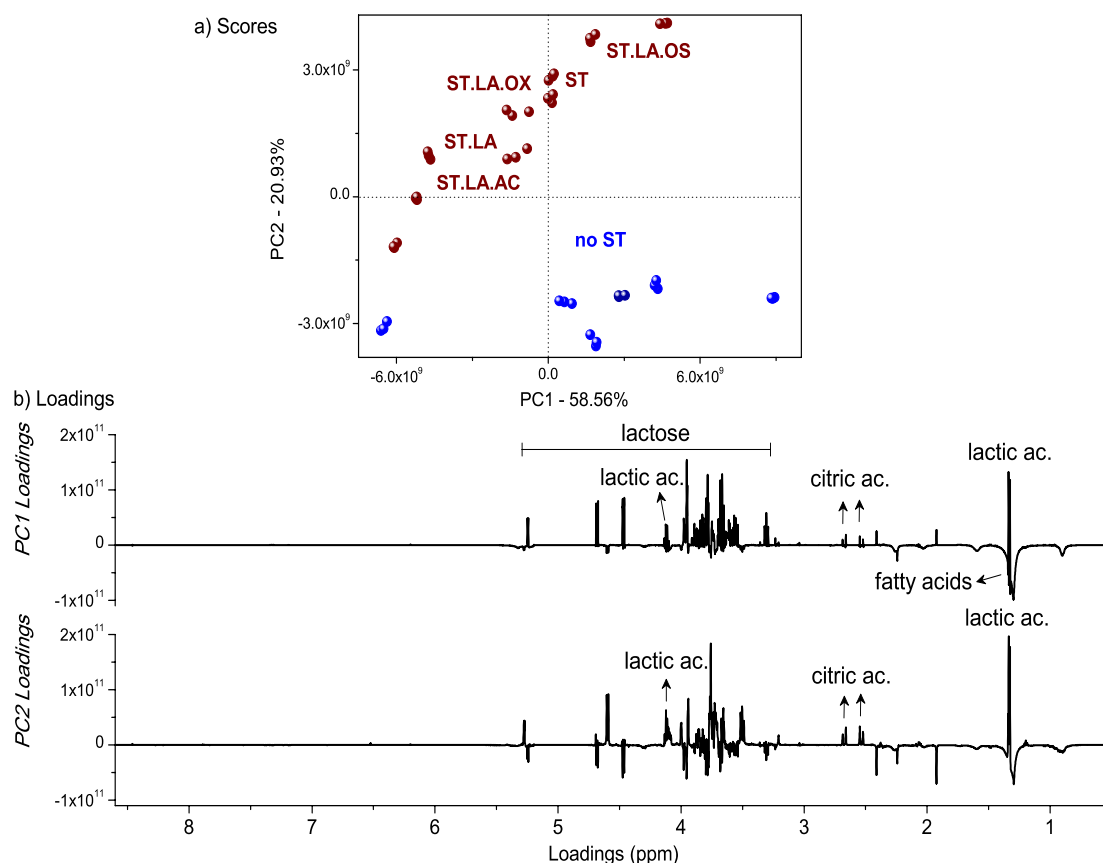


Figure 9. PCA of the remaining yogurts in the ending of different fermentation processing: a) PC1 × PC2 scores coordinate system; b) relevant loadings plotted in lines form in the same intensity. Legend: LA – use of the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus*; AC – under acid stress (pH 4.5 for 3 h); OX – under oxidative stress (3.5% of H₂O₂ for 30 min); OS – produced under osmotic stress (3.5% of NaCl for 8 h); ST – production with use of *starter* culture (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii*) to accelerate the fermentation processes.

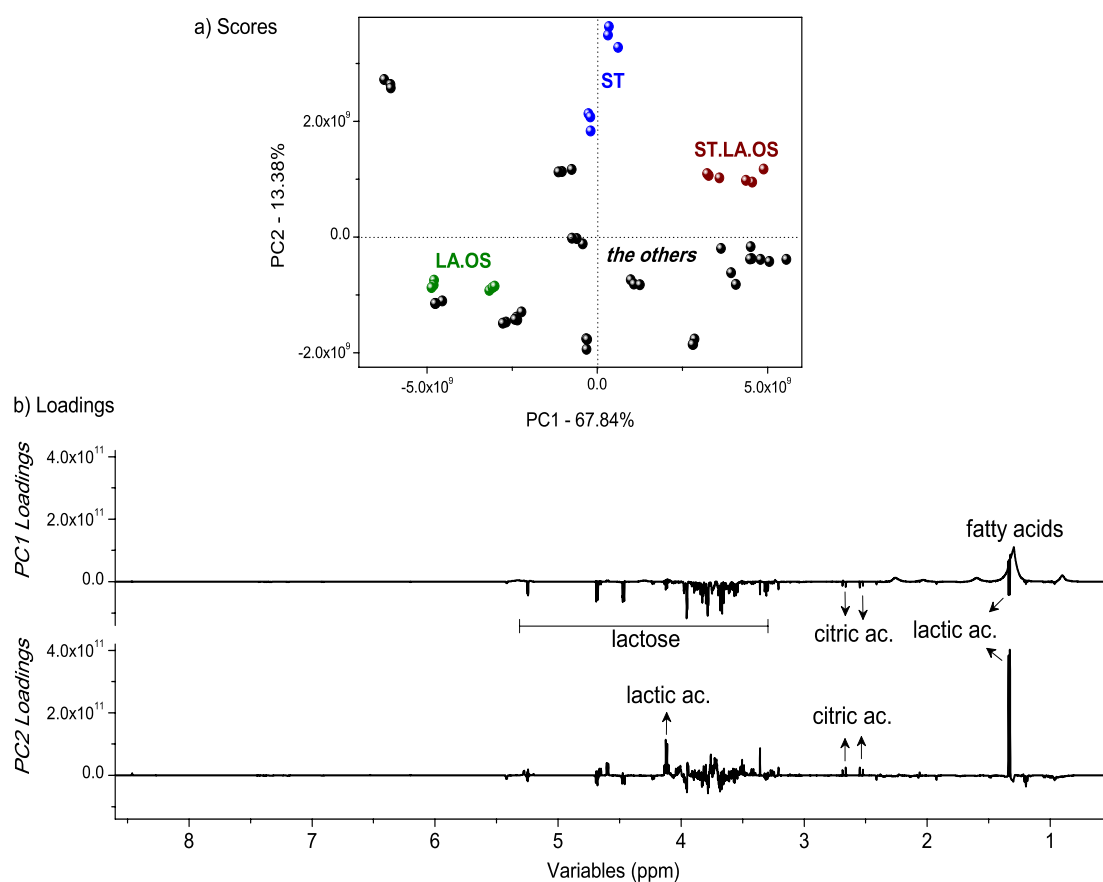


Figure 10. PCA of yogurts with insertion of orange bagasse under different fermentation processing in the ending of treatment: a) PC1 $\times$ PC2 scores coordinate system; b) relevant loadings plotted in lines form in the same intensity. Legend: LA – use of the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus*; OS – produced under osmotic stress (3.5% of NaCl for 8 h); ST – production with use of *starter culture* (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii*) to accelerate the fermentation processes.

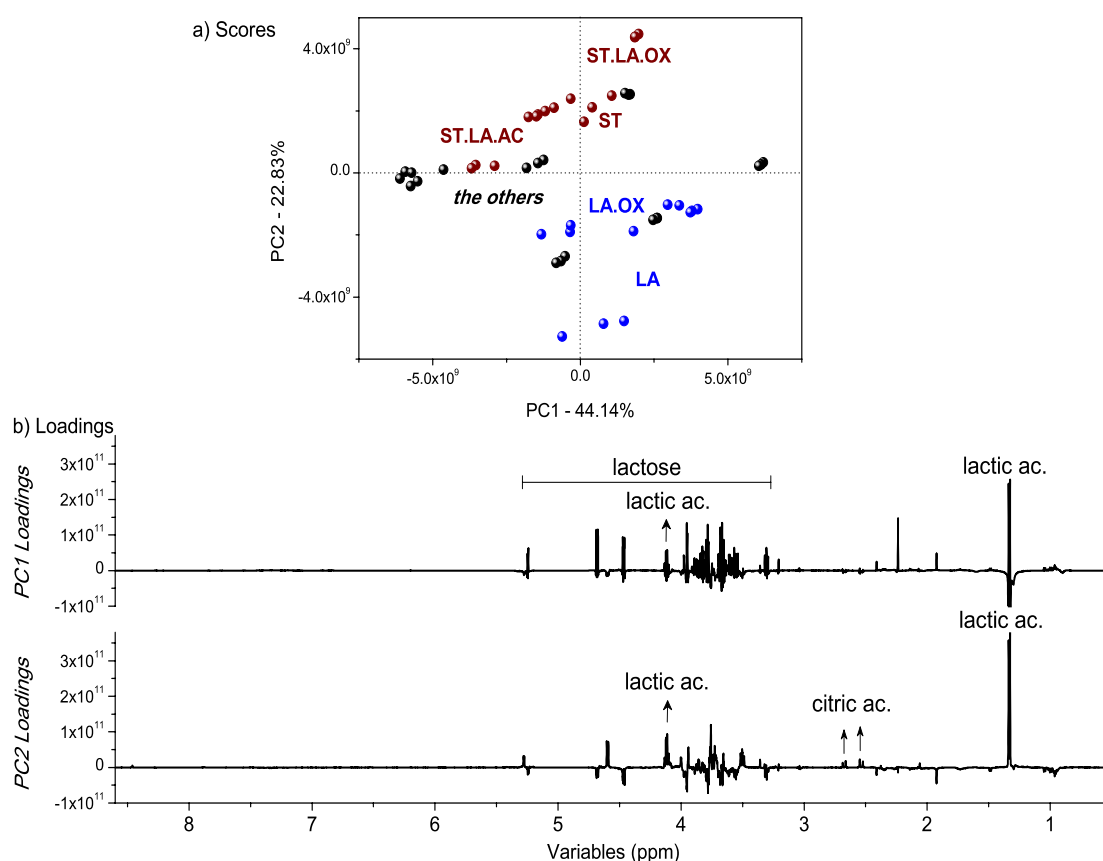


Figure 11. PCA of yogurts with insertion of dry buriti pulp under different fermentation processing in the ending of treatment: a) PC1 × PC2 scores coordinate system; b) relevant loadings plotted in lines form in the same intensity. Legend: LA – use of the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus*; AC – under acid stress (pH 4.5 for 3 h); OX – under oxidative stress (3.5% of H₂O₂ for 30 min); ST – production with use of starter culture (*Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii*) to accelerate the fermentation processes.

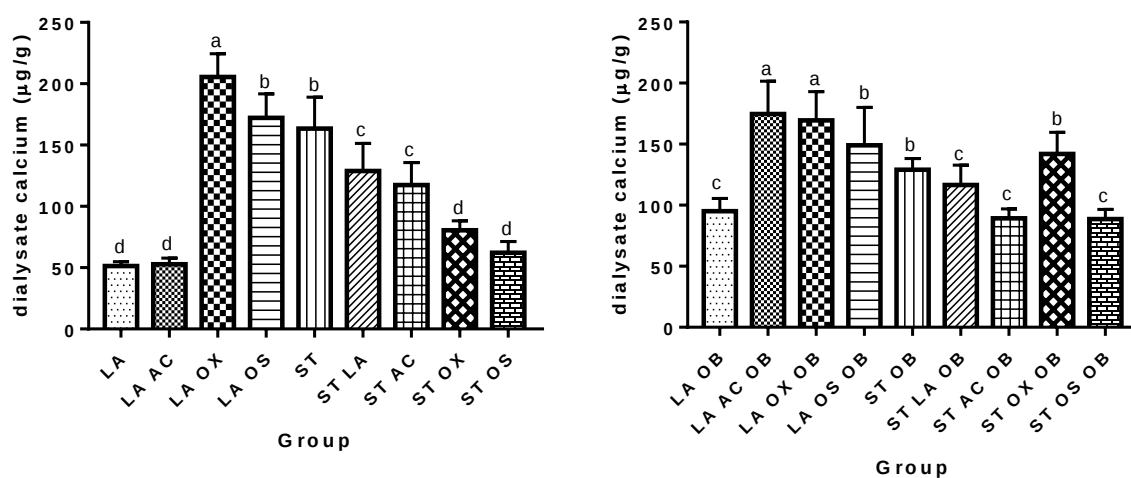


Figure 12. Dialysate calcium in natural and orange bagasse yogurt/fermented milk.

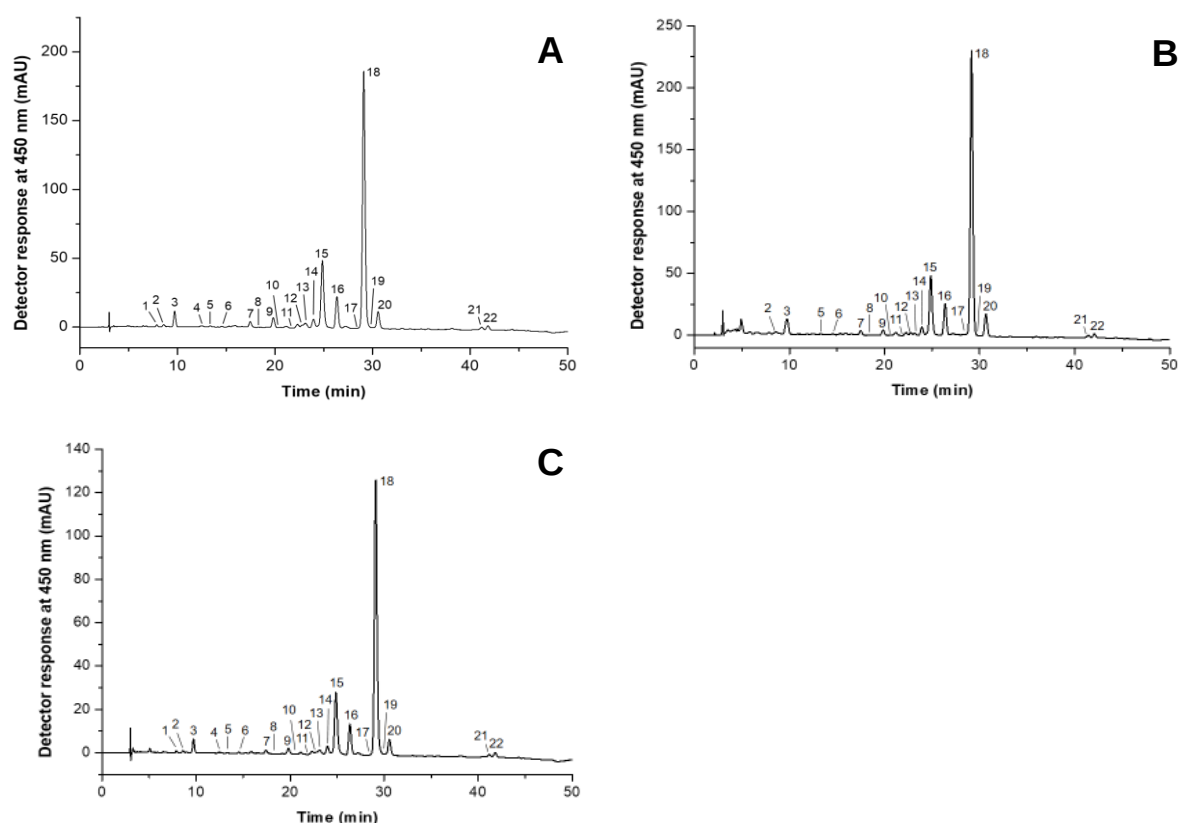


Figure 13. Chromatograms representing the identification analysis of the carotenoids present in lyophilized buriti pulp (A), yogurts/fermented milks containing lyophilized buriti pulp (B) and, micellar fraction after the simulated digestion process of yogurts/fermented milks containing lyophilized buriti pulp (C).

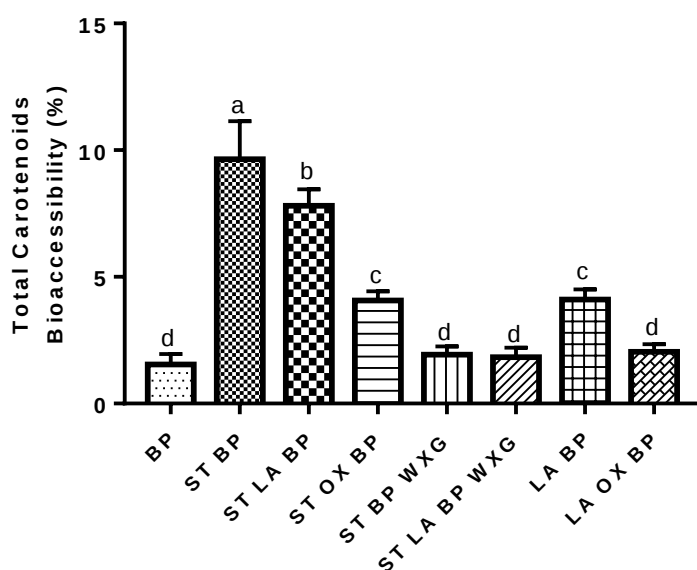


Figure 14. Total carotenoids bioaccessibility (%) in buriti pulp milk, yogurt and fermented milk containing buriti pulp.

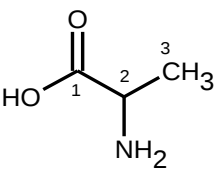
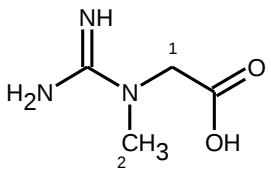
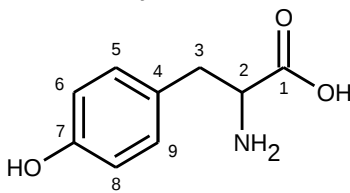
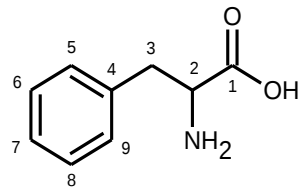
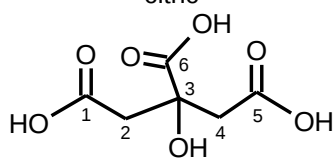
9 TABELAS

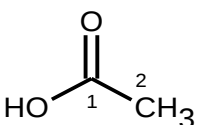
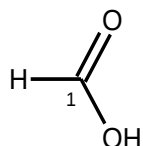
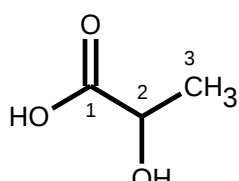
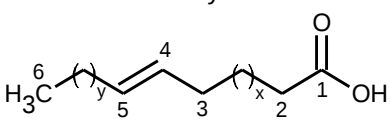
Table 1. Selected *L. acidophilus* sublethal stress conditions.

Type of stress	Sublethal condition
Osmotic	3,5 % NaCl for 8 h
Acidic (adjusted with HCl)	pH 4,5 for 3 h
Oxidative	10,54 mM of H ₂ O ₂ for 0,5 h

Source: (GRAÇA; FURTADO; *et al.*, 2021).

Table 2. Organic compounds identified in the yogurts composition independent of the fermentation process.

Structures	$\delta^1\text{H}$ (multip.* J in Hz)	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$ ref.	$\delta^{13}\text{C}$ ref.
AMINO ACIDS				
alanine 	2 – 3.94 (o) 3 – 1.48 (d 7.2)	56.7 19.2	3.90 (q 7.3) 1.52 (d 7.3)	53.4 19.1
creatine 	1 – 4.07 (o) 2 – 3.04 (s)	58.5 42.8	3.92 (s) 3.03 (s)	56.4 39.5
tyrosine 	6,8 – 6.84 (o) 5,9 – 7.20 (o) 3 – o 2 – o	119.1 133.1 o o	6.84 (d 8.5) 7.17 (d 8.5) 3.17 (n) 3.93 (n)	118.9 133.5 38.3 59.0
phenylalanine 	5,9 - 7.28 (m) 6,8 - 7.32-7.39 (m) 7 - 7.32-7.39 (m)	132.0 131.8 131.7	7.32 (d 6.98) 7.42 (m) 7.37 (m)	132.1 131.8 130.4
ORGANIC ACIDS				
citric 	2 – 2.53 (d 15.0) 4 – 2.68 (d 15.0)	48.8 48.8	2.52 (d 15.8) 3.66 (d 15.8)	48.6 48.6

acetic				
	1 - 2 - 1.92 (s)	181.2 25.1	2.08 (s)	184.1 26.0
formic				
	1 - 8.47 (s)	no	8.39 (s)	172.4
lactic				
	3 - 1.33 (d 7.2) 2 - 4.12 (d 7.2)	23.0 71.4	1.37 (d 7.2) 4.42 (q 7.2)	22.9 71.4
fatty				
	1 - 2 - 2.26 (m) 3 - 2.04 (m) 4,5 - 5.35 (m) 6 - 0.93 (m)	175.8 36.7 30.1 132.5 17.8	- 2.35 (t 7.3) 2.02 (m) 5.35 (m) 0.89 (t 6.8)	173.5 34.0 27.1 129.9 14.1

SUGARS

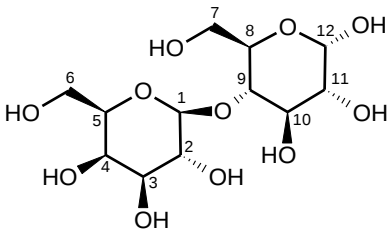
				
1 - 4.48 (d 7.2)	106.0	4.45 (d 7.7)	106.1	
2 - o	o	3.56 (m)	74.5	
3 - o	o	3.68 (m)	75.5	
4 - o	o	3.93 (m)	72.1	
5 - o	o	3.73 (m)	78.3	
6 - o	o	3.80 (d 3.6)	64.1	
7 - o	o	3.97 (m)	63.4	
8 - o	o	3.83 (m)	74.5	
9 - o	o	3.66 (t 3.6)	80.9	
10 - o	o	3.55 (m)	77.7	
11 - o	o	3.93 (m)	72.1	
12 - 5.25 (d 3.8)	95.0	5.23 (d 3.8)	94.9	
1 - 4.48 (d 7.2)	106.0	4.45 (d 7.7)	106.1	
2 - o	o	3.56 (m)	74.5	
3 - o	o	3.68 (m)	75.5	
4 - o	o	3.93 (m)	72.1	
5 - o	o	3.73 (m)	78.3	
6 - o	o	3.80 (d 3.6)	64.1	
7 - o	o	3.87 (m)	63.3	
8 - o	o	3.61 (m)	77.8	
9 - o	o	3.66 (t 3.6)	80.9	
10 - o	o	3.65 (m)	77.4	
11 - 3.31 (t 8.4)	77.1	3.28 (t 8.6)	77.0	
12 - 4.68 (d 8.4)	98.9	4.67 (d 7.9)	98.1	

Table 3. Concentration of total and bioaccessible calcium in natural yogurts and fermented milks.

Sample	Total (µg/g)	Dialysate (µg/g)	Dialysate (%)
LA	1261,67 ± 48,42 ^b	51,33 ± 3,55 ^d	4,07
LA AC	1308,33 ± 41,02 ^b	52,82 ± 5,05 ^d	4,04
LA OX	1327,67 ± 51,07 ^b	205,52 ± 18,89 ^a	15,48
LA OS	1294,67 ± 03,79 ^b	172,19 ± 19,52 ^b	13,30
ST	1338,10 ± 42,73 ^b	163,44 ± 25,65 ^b	12,21
ST LA	1420,37 ± 44,51 ^a	128,78 ± 22,59 ^c	9,07
ST AC	1476,85 ± 66,18 ^a	117,49 ± 18,25 ^c	7,96
ST OX	1525,46 ± 33,46 ^a	80,54 ± 7,73 ^d	5,28
ST OS	1449,07 ± 73,83 ^a	62,26 ± 9,02 ^d	4,30

Different letters in the same column indicate significantly different means (p < 0.05).

Table 4. Concentration of total and bioaccessible calcium in yogurts and fermented milks containing orange bagasse.

Sample	Total (µg/g)	Dialysate (µg/g)	Dialysate (%)
OB	5,58 ± 0,27	-	-
LA OB	1796,30 ± 23,09 ^a	95,07 ± 10,44 ^c	5,29
LA AC OB	1535,00 ± 75,76 ^b	174,72 ± 26,90 ^a	11,38
LA OX OB	1562,33 ± 61,16 ^b	169,53 ± 23,45 ^a	10,85
LA OS OB	1597,00 ± 46,51 ^b	149,09 ± 31,09 ^b	9,34
ST OB	1759,72 ± 103,90 ^a	129,16 ± 9,11 ^b	7,34
ST LA OB	1825,46 ± 11,56 ^a	116,63 ± 16,21 ^c	6,39
ST AC OB	1837,96 ± 120,36 ^a	89,34 ± 7,68 ^c	4,86
ST OX OB	1737,50 ± 42,51 ^a	141,95 ± 17,70 ^b	8,17
ST OS OB	1705,55 ± 19,29 ^a	88,59 ± 7,96 ^c	5,19

Different letters in the same column indicate significantly different means (p < 0.05).

Table 5. Carotenoids peak identification in: lyophilized buriti pulp, yogurts and fermented milks containing lyophilized buriti pulp and micellar fraction of these digested samples.

Peak	Carotenoid	t _R (min)	λ _{max} (nm)	%III/II	%A _B /A _{II}	[M + H] ⁺ (m/z)	MS/MS fragment ions (m/z)
1	(13Z)-lutein	7.8- 7.9	441	n.c.	n.c.	n.d.	551.5 [M+H-18]⁺→ 533.5 [M+H-18-18] ⁺ , 495.3 [M+H-18-56] ⁺ , 459.3 [M+H-18-92] ⁺ , 429.2
2	(13'Z)-lutein + not identified	8.4- 8.7	441, 470	n.c.	n.c.	n.d. 601.0	551.5 [M+H-18]⁺→ 533.5 [M+H-18-18] ⁺ , 495.3 [M+H-18-56] ⁺ , 459.3 [M+H-18-92] ⁺ , 429.2 583.5 [M+H-18] ⁺ , 565.8 [M+H-18-18] ⁺

3	(all- <i>E</i>)-lutein	9.5-9.8	420, 445, 472	62	0	569.5	551.5 [M+H-18] ⁺ , 533.5 [M+H-18-18] ⁺ , 495.4 [M+H-18-56] ⁺ , 476.3 [M+H-92] ⁺ , 445.2 [M+H-18-106] ⁺ , 429.4
4	(9 <i>Z</i>)-lutein + not identified	12.3-12.5	439, 469	n.c.	n.c.	569.3 553.5	551.6 [M+H-18] ⁺ , 533.5 [M+H-18-18] ⁺ , 475.3 [M+H-92] ⁺ , 535.5 [M+H-18] ⁺
5	(9' <i>Z</i>)-lutein	13.1-13.4	439, 469	n.c.	n.c.	n.d.	551.5 [M+H-18]⁺→ 533.5 [M+H-18-18] ⁺ , 495.3 [M+H-18-56] ⁺ , 459.3 [M+H-18-92] ⁺
6	zeinoxanthin	14.3-14.7	445, 471	n.c.	n.c.	553.5	535.5 [M+H-18] ⁺ , 495.4, 429.2
7	Not identified	17.1-17.5	449, 471	n.c.	n.c.	n.d.	551.5 [M+H-18]⁺→ 533.5 [M+H-18-18] ⁺
8	Phytoene	18.5-18.9	275, 286, 300	0	0	545.5	503.4, 489.3, 475.3, 463.4
9	(all- <i>E</i>)-α-cryptoxanthin	19.5-20.0	447, 473	71	0	553.5	535.5 [M+H-18] ⁺
10	Phytofluene 1	20.1-20.6	331, 348, 366	68	0	543.5	461.4 [M+H-82] ⁺ , 393.2, 337.1
11	Phytofluene 2	22.3-22.9	331, 348, 367	89	0	543.5	461.4 [M+H-82] ⁺ , 393.2, 337.1
12	(di- <i>Z</i>)-α-carotene	22.6-23.1	331, 439, 468	33	39	537.5	481.4 [M+H-56] ⁺ , 444.3 [M-92], 413.1
13	5,8-epoxy-β-carotene	22.9-23.5	445, 469			553.5	535.5 [M+H-18] ⁺
14	(15 <i>Z</i>)-β-carotene + (<i>Z</i>)-ζ-carotene	23.7-24.2	337, 420, 448, 470	11	54	537.5 541.5	444.4 [M-92] 472.3 [M+H-69] ⁺ , 403.2 [M-137]
15	(13 <i>Z</i>)-β-carotene	24.6-25.1	339, 418, 445, 470	20	44	537.5	444.4 [M-92]
16	(all- <i>E</i>)-α-carotene	26.1-26.7	420, 446, 474	71	0	537.5	481.4 [M-56], 444.4 [M-92]
17	(all- <i>E</i>)-ζ-carotene	27.8-28.6	379, 400, 425	100	0	541.5	471.4 [M-69], 403.2 [M-137]

18	(all- <i>E</i>)- β -carotene	28.8-29.5	452, 478	28	0	537.5	444.4 [M-92]
19	(<i>Z</i>)- ζ -carotene	29.5-30.1	403, 427	n.c.	n.c.	541.5	471.4 [M-69], 403.2 [M-137]
20	(9 <i>Z</i>)- β -carotene	30.2-30.7	340, 419, 447, 473	47	7	537.5	444.4 [M-92]
21	(<i>Z</i>)- γ -carotene	40.8-41.4	438, 462, 492	65	n.c.	537.6	467.3 [M-69]; 444.4 [M-92]
22	(all- <i>E</i>)- γ -carotene	41.4-42.0	438, 462, 492	65	0	537.5	467.3 [M-69]; 444.4 [M-92]

Table 6. Total and bioaccessible content ($\mu\text{g/g}$) of total carotenoids in lyophilized buriti pulp, yogurts and fermented milks containing lyophilized buriti pulp.

Sample	Total Carotenoids Crude Extract ($\mu\text{g/g}$)	%Cis/Trans β -carotene	Total Carotenoids Micellar Fraction ($\mu\text{g/g}$)	Bioaccessibility (%)
BP	12,77	40,98 $\pm$ 0,35 ^a	0,20 $\pm$ 0,05 ^d	1,53 $\pm$ 0,40 ^d
ST BP	15,52 $\pm$ 0,69 ^a	36,99 $\pm$ 0,77 ^b	1,50 $\pm$ 0,23 ^a	9,65 $\pm$ 1,50 ^a
ST LA BP	14,20 $\pm$ 0,51 ^b	36,65 $\pm$ 0,29 ^b	1,11 $\pm$ 0,09 ^b	7,80 $\pm$ 0,66 ^b
ST OX BP	13,84 $\pm$ 0,31 ^b	39,68 $\pm$ 0,36 ^b	0,56 $\pm$ 0,05 ^c	4,07 $\pm$ 0,36 ^c
ST BP WXG*	12,29 $\pm$ 0,20 ^c	41,57 $\pm$ 1,47 ^a	0,24 $\pm$ 0,04 ^d	1,93 $\pm$ 0,32 ^d
ST LA BP WXG*	11,85 $\pm$ 0,23 ^c	42,89 $\pm$ 1,28 ^a	0,22 $\pm$ 0,04 ^d	1,83 $\pm$ 0,38 ^d
LA BP	16,00 $\pm$ 0,37 ^a	43,01 $\pm$ 2,97 ^a	0,66 $\pm$ 0,06 ^c	4,10 $\pm$ 0,41 ^c
LA OX BP	15,66 $\pm$ 0,71 ^a	37,80 $\pm$ 1,16 ^b	0,32 $\pm$ 0,05 ^d	2,05 $\pm$ 0,30 ^d

* Buriti pulp yogurt modified formulation (without xanthan gum). Different letters in the same column indicate significantly different means ($p < 0.05$).

10 MATERIAL SUPPLEMENTAR

Table 1. Significantly different volatile compounds identified in natural fermented milk fermented by *L. acidophilus* and its cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

Compounds	LA	LA AC	LA OS	LA OX
1,4-Butanediol	4,27 ± 0,02	ND	ND	ND
1-Butanol	5,61 ± 0,06	4,8 ± 0,01	4,78 ± 0,11	4,61 ± 0,11
1-Butanol, 3-methyl-	4,45 ± 0,07	4,71 ± 0,04	ND	ND
1-Butanol, 4-butoxy-	4,27 ± 0,05	ND	ND	ND
1-Nonanol	4,73 ± 0,12	4,85 ± 0,11	5,33 ± 0,05	5,33 ± 0,04
2,5-Hexanedione	ND	ND	ND	3,75 ± 0,01
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	ND	ND	4,26 ± 0,02	4,23 ± 0,03
2(5H)-Furanone	ND	3,88 ± 0,07	ND	ND
2-Butenoic acid, butyl ester	ND	ND	ND	4,34 ± 0,11
2-Heptanol, 4-methyl-	ND	ND	4,42 ± 0,07	ND
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-propyl-	3,8 ± 0,01	3,6 ± 0,12	ND	ND
2-Nonanol	3,97 ± 0,05	4,09 ± 0,08	5,02 ± 0,09	4,89 ± 0,04
2-Nonanone	5,67 ± 0,06	5,6 ± 0,02	5,81 ± 0,02	6,04 ± 0,01
2-Pentanone	ND	ND	6,18 ± 0,06	ND
2-Phenylpropenal	ND	ND	4,77 ± 0,04	4,46 ± 0,16
2-Propenoic acid, butyl ester	4,36 ± 0,06	ND	ND	ND
2-Undecanone	4,91 ± 0,08	4,84 ± 0,05	5,48 ± 0,04	5,78 ± 0,03
3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl-	ND	ND	4,3 ± 0,06	4,26 ± 0,01
Benzaldehyde, 3-methyl-	ND	ND	4,55 ± 0,02	ND
Benzene, 1,2,3,5-tetramethyl-	5,2 ± 0,05	4,79 ± 0,02	5,17 ± 0,07	5,21 ± 0,1
Benzene, 1,2,4,5-tetramethyl-	5,37 ± 0,16	ND	ND	5,92 ± 0,16
Benzene, 1-methyl-4-propyl-	ND	ND	ND	4,61 ± 0,1
Benzene, pentamethyl-	ND	ND	5,06 ± 0,06	5,35 ± 0,03
Benzyl alcohol	4,5 ± 0,19	4,36 ± 0,13	4,91 ± 0,05	4,66 ± 0,03
Butanoic acid, 2-methyl-	ND	ND	4,96 ± 0,05	ND
Butanoic acid, butyl ester	4,72 ± 0,16	ND	ND	ND
Cyclohexane, hexyl-	ND	ND	ND	4,2 ± 0,02
Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	ND	4,34 ± 0,14	4,49 ± 0,12	4,67 ± 0,05
Decanal	4,33 ± 0,03	4,46 ± 0,04	5,02 ± 0,03	5,13 ± 0,02
Diethyl Phthalate	5,63 ± 0,01	5,61 ± 0,04	5,17 ± 0,09	5,12 ± 0,03
Dimethyl sulfone	ND	ND	4,22 ± 0,04	4,26 ± 0,04
Dimethyl Sulfoxide	3,83 ± 0,03	3,71 ± 0,02	3,88 ± 0,05	3,92 ± 0,07
Dimethyl trisulfide	4,12 ± 0,05	4,84 ± 0,11	5,32 ± 0,18	5,19 ± 0,11
Diphenyl ether	4,09 ± 0,09	ND	ND	4,43 ± 0,25
Ethanol, 2-phenoxy-	ND	ND	ND	4,03 ± 0,07
Furan, 2-pentyl-	ND	ND	ND	4,1 ± 0,08
Furan, 3-phenyl-	ND	ND	3,43 ± 0	ND
Furfural	ND	ND	ND	4,63 ± 0
Heptanal	ND	ND	5,4 ± 0,19	ND
Heptanoic acid	4,72 ± 0,08	4,57 ± 0,04	5,23 ± 0,02	5,41 ± 0,09

Hexanoic acid	6,43 ± 0,09	6,23 ± 0,04	6,73 ± 0,03	6,7 ± 0,07
Isophorone	6,09 ± 0,08	5,66 ± 0,03	6,65 ± 0,03	6,41 ± 0,03
Methanesulfonyl chloride	4,57 ± 0,05	4,58 ± 0,12	4,93 ± 0,04	4,6 ± 0,08
Methyl thiolacetate	ND	4,79 ± 0,03	ND	ND
Naphthalene	4,7 ± 0,01	4,5 ± 0,02	5,85 ± 0,02	5,61 ± 0,02
Naphthalene, 1,2-dimethyl-	ND	ND	ND	4,31 ± 0,15
Naphthalene, 2-methyl-	4,56 ± 0,13	4,34 ± 0,13	5,33 ± 0,02	5,02 ± 0,05
n-Decanoic acid	5,26 ± 0,09	5,29 ± 0,09	6,17 ± 0,12	6,12 ± 0,09
Nonanal	5,05 ± 0,04	5,17 ± 0,07	5,47 ± 0,07	5,53 ± 0,01
Nonanoic acid	ND	4,7 ± 0,04	5,34 ± 0,04	5,64 ± 0,09
Octane, 1,1'-oxybis-	3,56 ± 0,17	4,87 ± 0,09	5,17 ± 0,14	5,31 ± 0,12
Octanoic acid	5,97 ± 0,08	5,77 ± 0,14	6,52 ± 0,11	6,74 ± 0,07
p-Cresol	ND	ND	4,07 ± 0,04	3,92 ± 0,04
Prenol	4,45 ± 0,04	4,34 ± 0,05	4,14 ± 0,05	4,32 ± 0,08
Styrene	4,66 ± 0,08	4,51 ± 0,26	5,46 ± 0,17	5,07 ± 0,08
Undecanoic acid	ND	4,35 ± 0,11	4,05 ± 0,16	4,38 ± 0,00

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as $\log_{10}$ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

Table 2. Significantly different volatile compounds identified in natural yoghurts fermented by co-culture of yogurt *starters* with standard *L. acidophilus* and their cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

Compound	ST	ST LA	ST AC	ST OS	ST OX
.alpha.-Methylstyrene	3,97 ± 0,15	ND	ND	ND	ND
.delta.-Dodecalactone	ND	ND	ND	4,5 ± 0,04	ND
.gamma.-Dodecalactone	ND	ND	ND	4,46 ± 0,1	ND
1,4-Butanediol	4,2 ± 0,08	ND	ND	ND	ND
1-Butanol, 3-methyl-	4,5 ± 0,04	ND	ND	ND	ND
1-Butanol, 4-butoxy-	4,24 ± 0,09	ND	ND	ND	ND
1-Decanol	4,24 ± 0,04	ND	ND	ND	ND
1-Dodecanol	4,29 ± 0,25	ND	ND	ND	ND
1-Hexadecanol	4,3 ± 0,12	ND	ND	ND	ND
1-Nonanol	5,25 ± 0,01	5,03 ± 0,11	4,8 ± 0,07	5,06 ± 0,1	4,83 ± 0,08
1-Octen-3-ol	4,58 ± 0,16	ND	ND	4,84 ± 0,06	4,57 ± 0,06
1-Penten-3-ol	5,14 ± 0,28	ND	ND	ND	ND
2,3-Pentanedione	6,55 ± 0,1	6,97 ± 0,04	6,61 ± 0,01	6,85 ± 0,01	6,48 ± 0,03
2,4-Heptadienal, (E,E)-	5,79 ± 0,11	ND	ND	ND	ND
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	ND	4,43 ± 0,06	ND	ND	ND
2,6-Dimethyldecane	5,27 ± 0	ND	ND	ND	ND
2-Decanone	ND	4,11 ± 0,13	3,96 ± 0,1	ND	ND
2-Decenal, (E)-	ND	ND	4,79 ± 0,1	ND	ND

2-Ethyl-1-hexanol	5,16 ± 0,03	5,59 ± 0,12	6,31 ± 0,09	6,62 ± 0,05	6,32 ± 0,03
2-Furanmethanol	4,59 ± 0,02	ND	ND	ND	ND
2-Heptanone	6,36 ± 0,13	6,85 ± 0,02	6,49 ± 0,05	6,81 ± 0,01	6,44 ± 0,09
2-Heptenal, (E)-	ND	5,45 ± 0,12	4,91 ± 0,02	5,5 ± 0,15	5,36 ± 0
2-Heptenal, (Z)-	5,82 ± 0,1	ND	ND	ND	ND
2-Hydroxy-3-pentanone	5,39 ± 0,13	ND	ND	ND	ND
2-Nonanone	5,51 ± 0,18	6,15 ± 0,18	5,96 ± 0,02	6,17 ± 0,15	5,92 ± 0,02
2-Nonenal, (Z)-	4,28 ± 0,01	ND	ND	ND	ND
2-Octenal, (E)-	4,15 ± 0,09	5,41 ± 0,08	ND	ND	ND
2-Penten-1-ol, (Z)-	4,99 ± 0,25	ND	ND	ND	ND
2-Pentenal, (E)-	4,85 ± 0,23	ND	ND	ND	ND
3,5-Octadien-2-one	6,23 ± 0,05	ND	ND	ND	ND
3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl-	ND	4,3 ± 0,12	ND	ND	ND
3-Octanol, 3,7-dimethyl-	ND	ND	4,59 ± 0,02	ND	4,54 ± 0
3-Pentanol, 3-methyl-	5,25 ± 0,29	ND	ND	5,1 ± 0,05	ND
3-Penten-2-one, (E)-	ND	ND	5,49 ± 0,01	ND	ND
4-Hepten-1-ol	6,47 ± 0,15	ND	ND	ND	ND
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	5,09 ± 0,13	ND	ND	ND	ND
Acetyl valeryl	4,77 ± 0,14	5,29 ± 0,32	ND	ND	ND
Benzaldehyde	5,52 ± 0,09	6,04 ± 0,03	5,62 ± 0,2	6,2 ± 0,15	5,94 ± 0,11
Benzaldehyde, 2,4,5-trimethyl-	ND	ND	4,92 ± 0,04	ND	ND
Benzaldehyde, 3-methyl-	5,66 ± 0,33	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	6,45 ± 0,04	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	ND	ND	ND	4,62 ± 0	ND
Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-	ND	ND	ND	ND	4,61 ± 0,09
Benzene, propyl-	ND	5,12 ± 0,2	ND	ND	4,86 ± 0,09
Benzofuran	ND	ND	ND	ND	3,81 ± 0,03
Benzophenone	3,75 ± 0,27	ND	ND	ND	ND
Benzothiazole	ND	ND	ND	ND	3,98 ± 0,02
Butanoic acid	6,16 ± 0,02	6,68 ± 0,06	6,09 ± 0,04	6,52 ± 0,2	6,15 ± 0,05
Butanoic acid, 2-methyl-	4,41 ± 0,19	5,05 ± 0,07	ND	ND	ND
Cyclopentaneacetic acid, 3-oxo-2-pentyl-, methyl ester	4,46 ± 0,16	ND	ND	ND	ND
Dibutyl phthalate	4,67 ± 0,08	ND	4,85 ± 0,1	ND	ND
Dimethyl Sulfoxide	5,76 ± 0,07	4,15 ± 0,03	ND	4,11 ± 0,2	ND
Dodecanoic acid	5,25 ± 0,07	ND	ND	ND	ND
Ethanol, 2-ethoxy-	4,76 ± 0,16	ND	ND	ND	ND
Formamide, N,N-diethyl-	5,78 ± 0,11	ND	3,94 ± 0,07	ND	ND
Furan, 3-phenyl-	4,35 ± 0,11	ND	ND	ND	ND
Hexadecanoic acid, methyl ester	4,96 ± 0,17	4,56 ± 0,03	ND	4,37 ± 0,25	4,49 ± 0,24
Hexanal	6,27 ± 0,11	5,96 ± 0,02	ND	5,79 ± 0,08	5,21 ± 0,03
Hexanoic acid	6,75 ± 0,01	6,97 ± 0,02	6,53 ± 0,11	6,91 ± 0,23	6,49 ± 0,03
Isophorone	5,57 ± 0,05	6,65 ± 0,02	5,36 ± 0,02	4,41 ± 0,01	5,12 ± 0,02
Methanesulfonyl chloride	5,79 ± 0,08	5,15 ± 0,07	ND	ND	ND
Octanal	4,86 ± 0,06	5,82 ± 0,02	4,88 ± 0,1	5,4 ± 0,18	ND
o-Cymene	3,61 ± 0,22	ND	ND	ND	ND

Propanoic acid	5,04 ± 0,07	4,79 ± 0,1	4,64 ± 0,04	4,89 ± 0,1	4,54 ± 0,18
Propanoic acid, 2-methyl-	4,11 ± 0,01	5,05 ± 0,06	4,69 ± 0,02	4,97 ± 0,02	ND
Toluene	5,66 ± 0,02	5,33 ± 0	5,52 ± 0,02	5,89 ± 0,03	5,56 ± 0,01
trans-.beta.-Ionone	4,95 ± 0,2	ND	ND	ND	ND
Trichloromethane	5,76 ± 0,03	ND	ND	ND	5,24 ± 0,01

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as $\log_{10}$ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

Table 3. Significantly different volatile compounds identified in buriti pulp fermented milk fermented by *L. acidophilus* and its cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

Compounds	LA BP	LA AC BP	LA OS BP	LA OX BP
1,4-Butanediol	ND	4,51 ± 0,13	ND	ND
1-Decanol	ND	4,22 ± 0,01	ND	4,21 ± 0,05
1-Penten-3-ol	5,58 ± 0,02	5,56 ± 0,02	5,56 ± 0,02	5,49 ± 0,04
2(5H)-Furanone	ND	3,68 ± 0,05	ND	ND
2,3-Butanediol	ND	ND	5,59 ± 0,06	ND
2,4-Heptadienal, (E,E)-	4,57 ± 0,06	5,07 ± 0	5,09 ± 0,03	4,88 ± 0,02
2,5-cyclohexadien-1-one, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-4-methyl-	4,11 ± 0,13	ND	ND	ND
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	ND	ND	4,38 ± 0,07	ND
2-Butanone	ND	6,11 ± 0,05	ND	ND
2-Heptenal, (E)-	5,02 ± 0,03	ND	ND	ND
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-	ND	3,79 ± 0,1	ND	ND
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-pentyl-	4,25 ± 0,08	4,2 ± 0,01	4,61 ± 0,09	4,26 ± 0,06
2-Pentenal, (E)-	5,57 ± 0,02	ND	5,59 ± 0	ND
2-Propanol, 1-methoxy-	ND	4,43 ± 0,04	ND	ND
3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl-	3,71 ± 0,06	ND	4,25 ± 0,06	4,17 ± 0,02
3-Furaldehyde	ND	4,17 ± 0,01	ND	4,34 ± 0,13
3-Hexen-1-ol	ND	ND	ND	4,36 ± 0,02
5-Ethylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	4 ± 0,05	3,88 ± 0,02	ND	ND
6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	4,11 ± 0,22	ND	4,25 ± 0,07	ND
Acetoin	5,28 ± 0,01	5,33 ± 0,01	6,93 ± 0,03	5,43 ± 0
Acetyl valeryl	5,59 ± 0,12	5,88 ± 0,01	4,9 ± 0,5	4,92 ± 0,19
Alloaromadendrene	ND	4,2 ± 0,07	ND	4,01 ± 0,05
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	ND	4,29 ± 0,06	ND	4,12 ± 0,05
Benzyl alcohol	5,1 ± 0,05	4,98 ± 0,01	5,14 ± 0,06	4,87 ± 0,09
Butanoic acid, 2-methyl-	ND	4,82 ± 0,07	ND	4,59 ± 0,18
Butanoic acid, methyl ester	ND	5,32 ± 0,01	5,81 ± 0,22	ND
Butylated Hydroxytoluene	ND	ND	3,5 ± 0,12	ND
Cyclopentanol	ND	3,96 ± 0	ND	ND
Decanal	4,77 ± 0,04	4,24 ± 0,1	4,69 ± 0,02	4,19 ± 0,11
Decanoic acid, methyl ester	ND	ND	4,65 ± 0,1	ND

Diethyl Phthalate	5,23 ± 0,07	5,56 ± 0,03	5,14 ± 0,01	5,48 ± 0,07
Ethanol, 2-butoxy-	ND	ND	ND	4,56 ± 0,02
Ethanol, 2-ethoxy-	ND	ND	ND	4,5 ± 0,13
Heptanal	ND	5,19 ± 0,19	ND	ND
Heptanoic acid	4,87 ± 0,24	4,6 ± 0,22	5,15 ± 0,12	4,45 ± 0,11
Hexanoic acid	6,41 ± 0,14	6,33 ± 0,09	6,98 ± 0,06	6,25 ± 0,02
Isophorone	ND	ND	ND	6,35 ± 0,04
n-Decanoic acid	5,59 ± 0,07	5,06 ± 0,08	5,88 ± 0,04	5,12 ± 0,12
Nonane, 5-methyl-5-propyl-	ND	4,69 ± 0,03	ND	ND
Octane, 1,1'-oxybis-	4,94 ± 0,14	4,6 ± 0,17	ND	4,6 ± 0,26
Octanoic acid	6,06 ± 0,22	5,76 ± 0,2	6,53 ± 0,02	5,67 ± 0,11
Octanoic acid, methyl ester	4,41 ± 0,01	4,34 ± 0,1	5,13 ± 0,05	ND
Pentanoic acid	ND	4,61 ± 0,1	5,13 ± 0,02	4,56 ± 0,02
Phenol, 2-methoxy-	3,8 ± 0,02	3,59 ± 0,04	5,16 ± 0,03	3,52 ± 0,04
Propanoic acid	ND	4,17 ± 0,22	ND	ND
Propanoic acid, 2-methyl-	ND	4,88 ± 0,02	5,29 ± 0,06	ND
Toluene	5,36 ± 0,04	5,64 ± 0,02	5,46 ± 0,04	5,48 ± 0,04
Trichloromethane	5,34 ± 0,03	5,59 ± 0,1	ND	5,65 ± 0,03

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as $\log_{10}$ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

Table 4. Significantly different volatile compounds identified in buriti pulp yoghurts fermented by co-culture of yogurt *starters* with standard *L. acidophilus* and their cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

Compounds	ST BP	ST LA BP	ST AC BP	ST OS BP	ST OX BP
(R)-(-)-2-Pentanol	ND	ND	5,01 ± 0,03	ND	ND
.delta.-Dodecalactone	ND	ND	4,5 ± 0,16	ND	4,4 ± 0,12
.gamma.-Dodecalactone	ND	ND	4,3 ± 0,01	ND	ND
1-Butanol	5,04 ± 0,32	4,26 ± 0,17	ND	ND	4,55 ± 0,08
1-Butanol, 3-methyl-	6,4 ± 0,09	5,51 ± 0,02	6,2 ± 0,05	6,3 ± 0,08	6,04 ± 0,01
1-Hexanol	6,2 ± 0,21	5,6 ± 0,19	5,79 ± 0,06	5,66 ± 0,09	6,04 ± 0,03
1-Hexanol, 2-ethyl-	5,44 ± 0,14	ND	ND	ND	ND
1-Octanol	5,69 ± 0,09	5,08 ± 0	5,53 ± 0,05	5,47 ± 0,03	5,37 ± 0,09
1-Octen-3-ol	4,92 ± 0,1	4,58 ± 0,16	ND	4,8 ± 0,09	ND
1-Pentanol	6 ± 0,03	4,61 ± 0,02	5,73 ± 0,03	5,46 ± 0,09	5,61 ± 0,07
1-Penten-3-one	5,76 ± 0,03	ND	ND	ND	ND
1-Propanol, 2-methyl-	ND	5,15 ± 0,03	5,51 ± 0,37	5,53 ± 0,22	4,94 ± 0,09
1-Tetradecanol	ND	ND	ND	ND	5 ± 0,17
2,3-Pentanedione	7,38 ± 0,01	7,16 ± 0,01	ND	ND	7,14 ± 0
2,4-Heptadienal, (E,E)-	5,66 ± 0,09	5,79 ± 0,11	4,83 ± 0,06	5,43 ± 0,03	5,49 ± 0,05
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	ND	ND	4,14 ± 0,15	4,72 ± 0,04	ND
2-Decenal, (E)-	ND	ND	4,81 ± 0,07	ND	ND

2-Heptanone, 6-methyl-	5,11 ± 0,06	ND	ND	ND	4,95 ± 0,06
2-Heptenal, (E)-	ND	ND	5,36 ± 0	5,15 ± 0,05	5,32 ± 0,03
2-Heptenal, (Z)-	5,57 ± 0,05	5,82 ± 0,1	ND	ND	ND
2-Nonanone	6,2 ± 0	3,82 ± 0,01	5,83 ± 0,18	5,63 ± 0,16	5,79 ± 0,17
2-Penten-1-ol, (Z)-	5,92 ± 0,06	4,99 ± 0,25	ND	ND	5,64 ± 0,05
2-Pentenal, (E)-	5,88 ± 0,04	4,85 ± 0,23	ND	ND	5,62 ± 0,06
2-Undecenal	5,56 ± 0,07	5,51 ± 0,03	ND	ND	4,99 ± 0,03
3,5-Octadien-2-one	ND	6,23 ± 0,05	ND	ND	4,64 ± 0,05
3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-	ND	ND	ND	ND	4,72 ± 0,02
3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl-	ND	ND	4,15 ± 0,02	4,57 ± 0,05	ND
3-Pentanol, 3-methyl-	ND	5,25 ± 0,29	ND	ND	ND
4-Hepten-1-ol	5,5 ± 0,03	6,47 ± 0,15	4,86 ± 0,04	5,03 ± 0,03	5,3 ± 0,13
4-Heptenal, (Z)-	ND	ND	5,26 ± 0,02	5,13 ± 0,12	ND
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-	ND	ND	ND	ND	5,05 ± 0,02
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	ND	5,09 ± 0,13	ND	5,2 ± 0,01	ND
5-Ethylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	4,53 ± 0,04	ND	ND	ND	ND
6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	ND	ND	4,49 ± 0,06	4,41 ± 0,23	ND
Acetic acid	6,55 ± 0,01	4,09 ± 0,08	7,07 ± 0,03	7,07 ± 0,05	6,1 ± 0,14
Acetoin	7,36 ± 0	5,9 ± 0,04	5,67 ± 0,02	6,74 ± 0,02	7,14 ± 0,02
Benzaldehyde	6,05 ± 0,05	5,26 ± 0,04	6,69 ± 0,07	6,66 ± 0,07	5,8 ± 0,09
Benzaldehyde, 3-methyl-	ND	5,66 ± 0,33	ND	ND	ND
Benzene, (1-methylethyl)-	4,7 ± 0,07	ND	ND	ND	ND
Benzene, 1,2,4-trimethyl-	ND	ND	4,73 ± 0,02	4,68 ± 0	4,43 ± 0,02
Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	ND	6,45 ± 0,04	3,94 ± 0,05	ND	3,93 ± 0,06
Benzene, 1-ethyl-2-methyl-	4,65 ± 0,03	ND	ND	ND	ND
Benzeneacetaldehyde	ND	ND	5,07 ± 0,02	5,21 ± 0,01	ND
Benzonitrile	4,27 ± 0,14	3,66 ± 0,06	3,95 ± 0,13	4,01 ± 0,14	4,04 ± 0,09
Benzophenone	ND	3,75 ± 0,27	ND	ND	ND
Benzyl alcohol	4,91 ± 0,06	4,86 ± 0,04	5,44 ± 0,03	5,39 ± 0,04	4,49 ± 0,14
Butanoic acid	6,76 ± 0,05	4,82 ± 0,01	6,8 ± 0,07	6,72 ± 0,14	6,26 ± 0,06
Butanoic acid, 2-methyl-	5,23 ± 0,08	4,41 ± 0,19	ND	ND	5,01 ± 0,06
Dimethyl Sulfoxide	4,02 ± 0,05	5,76 ± 0,07	ND	3,67 ± 0,08	ND
Formamide, N,N-dibutyl-	ND	ND	ND	5,03 ± 0,22	ND
Formamide, N,N-diethyl-	4 ± 0,08	5,78 ± 0,11	3,9 ± 0,05	4,02 ± 0,18	4,04 ± 0,1
Formamide, N-methyl-	ND	ND	4,45 ± 0,13	ND	ND
Furan, 3-phenyl-	ND	4,35 ± 0,11	ND	3,26 ± 0,14	ND
Hexanal	6,46 ± 0,15	6,27 ± 0,11	6,34 ± 0,08	6,12 ± 0,02	5,49 ± 0,22
Hexanoic acid, ethyl ester	ND	ND	4,75 ± 0,02	ND	ND
Nonanal	6,01 ± 0,08	4,57 ± 0,03	5,69 ± 0,05	5,62 ± 0,1	5,49 ± 0,08
Octanal	5,7 ± 0,04	4,5 ± 0,13	5,37 ± 0,01	5,05 ± 0,04	5,08 ± 0,04
Octanoic acid, methyl ester	ND	ND	5,46 ± 0,1	4,99 ± 0,04	ND
Phenol, 2-methoxy-	4,09 ± 0,05	4,14 ± 0,03	3,97 ± 0,03	4,87 ± 0,09	3,98 ± 0,06
Phenol, 4-ethyl-2-methoxy-	3,81 ± 0,03	ND	ND	ND	ND
Phenylethyl Alcohol	5,15 ± 0,02	5,2 ± 0,03	5,48 ± 0,02	5,48 ± 0,01	4,97 ± 0,05
Prenol	ND	ND	5,8 ± 0,09	5,79 ± 0,05	ND

Propanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester, (+/-)-	ND	ND	4,51 ± 0,02	ND	ND
Propanoic acid, 2-methyl-	5,15 ± 0,03	4,11 ± 0,01	4,96 ± 0,09	5,52 ± 0,01	4,9 ± 0,05
p-Xylene	ND	ND	ND	4,45 ± 0,01	ND
Styrene	5,24 ± 0,25	ND	4,94 ± 0,13	4,94 ± 0,12	5,14 ± 0,09
Triacetin	ND	4,52 ± 0,03	ND	ND	ND

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as log₁₀ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean ± standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

Table 5. Significantly different volatile compounds identified in orange bagasse fermented milk fermented by *L. acidophilus* and its cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

COMPOSTOS	LA OB	LA AC OB	LA OS OB	LA OX OB
(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	6,01 ± 0,18	6,05 ± 0,12	6,35 ± 0,07	6,14 ± 0,05
(1S,4S,4aS)-1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalene	3,66 ± 0,09	3,69 ± 0,12	ND	ND
(R)-(-)-2-Pentanol	ND	4,68 ± 0	ND	ND
1,2-Benzisothiazole	ND	ND	ND	3,76 ± 0,07
1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	ND	ND	4,45 ± 0,1	ND
1-Decanol	6,18 ± 0,05	6,25 ± 0,09	5,91 ± 0,04	ND
1-Heptanol	5 ± 0,09	5,06 ± 0,1	ND	5,17 ± 0,07
1-Octen-3-ol	ND	ND	4,27 ± 0,06	ND
1-Octen-3-one	ND	4,75 ± 0,06	ND	4,98 ± 0,02
1-Pentanol	5,32 ± 0,05	5,37 ± 0,01	5,47 ± 0,07	5,51 ± 0,06
1-Pentanol, 4-methyl-	ND	4,56 ± 0,07	ND	ND
1-Tetradecanol	ND	4,68 ± 0,05	ND	4,48 ± 0,1
2,3-Octanedione	ND	ND	5,03 ± 0,01	ND
2,4-Heptadienal, (E,E)-	ND	4,23 ± 0,03	ND	4,31 ± 0,06
2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	4,71 ± 0,02	4,74 ± 0,04	4,52 ± 0,08	4,74 ± 0,07
2-Decenal, (Z)-	5,01 ± 0,01	ND	ND	ND
2-Heptenal, (Z)-	ND	ND	ND	5,56 ± 0,08
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-propyl-	ND	ND	3,85 ± 0,18	ND
2-Nonanone	5,81 ± 0,21	5,87 ± 0,08	5,4 ± 0,19	5,94 ± 0,02
2-Nonenal, (E)-	4,57 ± 0,07	4,5 ± 0,11	4,33 ± 0,06	4,65 ± 0,06
2-Octenal, (E)-	4,85 ± 0,07	4,82 ± 0,14	4,71 ± 0,04	5,16 ± 0,04
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	5,46 ± 0,09	5,23 ± 0,11	ND	ND
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	5,19 ± 0,17	5,18 ± 0,13	4,87 ± 0,15	5,41 ± 0,18
5-Isopropenyl-2-methylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	ND	ND	4,32 ± 0,08	ND
6-Hepten-1-ol, 2-methyl-	4,21 ± 0,13	4,26 ± 0,08	4,04 ± 0,16	4,42 ± 0,06
Acetoin	5,38 ± 0,05	4,92 ± 0,08	5,39 ± 0,1	6,9 ± 0,02
Acetyl valeryl	ND	ND	ND	4,44 ± 0,07
Benzaldehyde, 2-hydroxy-	ND	ND	ND	4,18 ± 0,08
Benzaldehyde, 4-ethyl-	4,88 ± 0,25	ND	ND	ND

Benzene, 1,3-dimethyl-	ND	4,29 ± 0,08	ND	ND
Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-	ND	ND	3,79 ± 0,25	ND
Butanoic acid	6,23 ± 0,01	6,25 ± 0,08	6,01 ± 0,06	6,27 ± 0,05
Butanoic acid, methyl ester	ND	5,53 ± 0,16	5,11 ± 0,32	6,12 ± 0,05
Decanal	5,79 ± 0,03	5,68 ± 0,1	5,33 ± 0,1	5,71 ± 0,04
Dibutyl phthalate	ND	ND	4,25 ± 0,24	ND
Diethyl Phthalate	5,19 ± 0,02	5,21 ± 0,08	5,54 ± 0,06	5,23 ± 0
Dimethyl sulfone	4,38 ± 0,06	4,28 ± 0,03	ND	ND
Dodecanoic acid	4,59 ± 0,09	4,68 ± 0,2	4,03 ± 0,32	4,77 ± 0,08
Ethanone, 1-(2-furanyl)-	5,01 ± 0	4,98 ± 0,02	4,69 ± 0	4,7 ± 0,03
Geranic acid	ND	4,92 ± 0,06	ND	ND
Hexanal	5,91 ± 0,17	6,06 ± 0,05	6,34 ± 0,03	6,17 ± 0,07
Isophorone	6,36 ± 0,05	5,99 ± 0,03	6,14 ± 0,01	6,15 ± 0,03
Lilac aldehyde B	4,14 ± 0,01	ND	3,77 ± 0,02	4,03 ± 0,04
Methyl salicylate	4,85 ± 0,05	4,64 ± 0,34	ND	4,39 ± 0,3
n-Decanoic acid	5,72 ± 0,22	5,87 ± 0,12	5,21 ± 0,11	5,86 ± 0,12
Nonanal	5,44 ± 0,16	5,44 ± 0,14	ND	ND
Octane, 1,1'-oxybis-	ND	ND	ND	4,69 ± 0,02
Pentanoic acid	ND	ND	4,78 ± 0,02	ND
Phenol, 2-methoxy-	3,71 ± 0,01	ND	3,69 ± 0,03	5,22 ± 0,04
Terpinen-4-ol	ND	ND	4,9 ± 0,03	ND
Undecanoic acid	4,22 ± 0,04	4,21 ± 0,1	ND	ND

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as $\log_{10}$ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

Table 6. Significantly different volatile compounds identified in orange bagasse yoghurts fermented by co-culture of yogurt *starters* with standard *L. acidophilus* and their cells pre-subjected to stress (acid, oxidative and osmotic).

COMPOSTOS	ST OB	ST LA OB	ST AC OB	ST OS OB	ST OX OB
(+)-(E)-Limonene oxide	ND	ND	4,82 ± 0,14	ND	4,76 ± 0,11
(1S,4S,4aS)-1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalene	3,75 ± 0,07	ND	ND	ND	ND
.alpha.-Pinene	ND	ND	ND	6,29 ± 0,08	ND
.gamma.-Dodecalactone	ND	ND	ND	4,6 ± 0,05	ND
1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	5,09 ± 0,15	ND	5,04 ± 0,13	ND	5,16 ± 0,14
1,5-Dimethyl-2-pyrrolicarbonitrile	ND	ND	ND	4,45 ± 0,09	ND
1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 4-(1-methylethenyl)-	5,4 ± 0,02	ND	ND	ND	ND
1-Decyne	ND	ND	ND	5,65 ± 0,13	5,7 ± 0,18
1-Nonanol	5,93 ± 0,04	6,22 ± 0,01	5,94 ± 0,07	6,29 ± 0,02	6 ± 0,24
1-Octanol	7,03 ± 0,03	7,33 ± 0	7,1 ± 0,04	7,4 ± 0,04	7,2 ± 0,1
1-Octen-3-one	5,44 ± 0,04	5,32 ± 0,02	4,97 ± 0,02	ND	5,46 ± 0,08

2,3-Pentanedione	6,82 ± 0,1	6,8 ± 0	6,22 ± 0,01	6,87 ± 0,02	7,04 ± 0,03
2,4-Heptadienal, (E,E)-	4,77 ± 0,05	ND	4,69 ± 0,04	ND	ND
2-Acetyl-5-methylfuran	4,55 ± 0,11	ND	ND	ND	ND
2-Butanone	6,04 ± 0,02	ND	5,75 ± 0,01	ND	ND
2-Ethyl-1-hexanol	5,32 ± 0,25	6,48 ± 0,08	6,07 ± 0,07	6,33 ± 0,16	6,28 ± 0,12
2-Furanmethanol, 5-ethenyltetrahydro-.alpha.,.alpha.,5-trimethyl-, cis-	3,8 ± 0,24	4,9 ± 0,06	3,83 ± 0,2	4,7 ± 0,08	4,73 ± 0,14
2H-Pyran-2-one, tetrahydro-6-pentyl-	4,75 ± 0,09	5,25 ± 0,01	5,15 ± 0,15	5,22 ± 0,11	5,31 ± 0,18
3-Cyclohexen-1-one, 3,5,5-trimethyl-	3,9 ± 0,17	ND	ND	ND	ND
3-Cyclohexene-1-ethanol, .beta.,4-dimethyl-	4,92 ± 0,1	ND	ND	5,24 ± 0,12	ND
3-Hexen-1-ol	ND	ND	4,77 ± 0,01	ND	ND
3-Penten-2-one	5,07 ± 0,05	ND	ND	ND	ND
4-Heptanol, 2,6-dimethyl-	ND	ND	ND	ND	4,72 ± 0,03
5-Hepten-2-one, 6-methyl-	ND	ND	ND	ND	5,82 ± 0,09
6-Methyl-3,5-heptadiene-2-one	ND	ND	ND	4,66 ± 0,07	4,46 ± 0,17
7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-	4,96 ± 0,03	ND	ND	ND	4,94 ± 0,12
Acetoin	6,9 ± 0,1	7,02 ± 0,12	6,49 ± 0,03	7,12 ± 0,02	7,21 ± 0,03
Acetophenone	6,12 ± 0,1	ND	6,17 ± 0,04	ND	6,3 ± 0,08
Benzaldehyde, 2-hydroxy-	ND	ND	3,99 ± 0,08	4,51 ± 0,05	ND
Benzene, 1,3-dimethyl-	ND	ND	4,45 ± 0,26	ND	ND
Benzeneacetaldehyde	4,79 ± 0,01	ND	4,95 ± 0,04	ND	4,93 ± 0,08
Benzoic acid	ND	ND	ND	5,65 ± 0,09	5,25 ± 0,07
Butanoic acid	6,57 ± 0,05	6,4 ± 0,04	6,21 ± 0,03	6,5 ± 0,01	6,49 ± 0,04
Butanoic acid, 2-methyl-	4,99 ± 0,03	ND	ND	5,28 ± 0,01	5,16 ± 0,06
Carvone	5,37 ± 0,04	ND	ND	5,58 ± 0,01	5,51 ± 0,09
Cyclohexanone, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, trans-	4,86 ± 0,12	ND	4,72 ± 0,17	ND	ND
Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	5,98 ± 0	ND	5,96 ± 0,13	ND	6,28 ± 0,05
Dodecanoic acid	ND	ND	ND	5,26 ± 0,09	ND
Ethanol, 2-phenoxy-	ND	ND	4,23 ± 0,2	ND	ND
Formamide, N-methyl-	4,26 ± 0,03	ND	ND	ND	4,39 ± 0,33
Geraniol	5,62 ± 0,05	5,85 ± 0,05	5,66 ± 0,04	5,9 ± 0,05	5,79 ± 0,02
Heptanoic acid, methyl ester	4,3 ± 0,01	ND	ND	ND	ND
Hexadecanoic acid, methyl ester	ND	ND	4,74 ± 0,06	4,99 ± 0,04	ND
Hexanoic acid	6,94 ± 0,1	6,8 ± 0,02	6,59 ± 0,13	6,92 ± 0	6,95 ± 0,08
Isophorone	6,3 ± 0,06	5,64 ± 0,06	5,27 ± 0,01	5,09 ± 0,1	5,35 ± 0,05
Methyl salicylate	ND	ND	4,98 ± 0,07	4,89 ± 0,08	4,49 ± 0,19
Octanal	6,3 ± 0,04	6,21 ± 0,1	6,01 ± 0,05	6,4 ± 0,02	6,28 ± 0,08
Octane, 1,1'-oxybis-	5,56 ± 0,13	5,41 ± 0,24	5,55 ± 0,43	5,94 ± 0,04	ND
Octanoic acid, ethyl ester	4,33 ± 0,05	ND	ND	ND	ND
p-Cresol	ND	ND	ND	4,93 ± 0,05	ND
Phenol	ND	ND	ND	5,22 ± 0	ND
Phenylethyl Alcohol	5,02 ± 0,06	5,33 ± 0,02	5,28 ± 0,01	5,45 ± 0	5,28 ± 0,02
Prenol	5,28 ± 0,06	5,67 ± 0,14	5,91 ± 0,04	5,65 ± 0,03	5,43 ± 0,05
Propanoic acid	ND	4,6 ± 0,07	ND	4,99 ± 0,03	4,96 ± 0,27
Propanoic acid, 2-methyl-	5,02 ± 0,05	ND	ND	5,03 ± 0,05	ND

Terpinen-4-ol	ND	ND	ND	5,52 ± 0,02	ND
trans-Linalool oxide (furanoid)	ND	ND	ND	4,68 ± 0,11	4,62 ± 0,12
Undecanal	4,87 ± 0,04	5,09 ± 0,19	ND	5,43 ± 0,11	5,26 ± 0,05

The table represents the selection of compounds based on Pearson's correlation coefficient ($p < 0.05$) after ANOVA analysis.

The relative concentration of volatile compounds is expressed as $\log_{10}$ [peak area of the respective compound in arbitrary units]. Values are presented as mean $\pm$ standard deviation.

* ND indicates undetected compound.

CAPÍTULO 3: O consumo de iogurtes contendo polpa de buriti e leites fermentados contendo bagaço de laranja aumenta a resposta do sistema endógeno antioxidante e a expressão de proteínas de choque térmico de ratos saudáveis

O consumo de iogurtes contendo polpa de buriti e leites fermentados contendo bagaço de laranja aumenta a resposta do sistema endógeno antioxidante e a expressão de proteínas de choque térmico de ratos saudáveis

Juliana Silva da Graça^a, Bruna Godoi de Castro^a, Caroline Heckler^a, Patrícia Berilli Batista^a, Rafael Ludemann Camargo^c, Marianna Miranda Furtado^a, Luísa Freire^a, Mayra Ferreira de Melo^a, Maria Paula Mendonça de Barros Barbosa Gonçalves^a, Amanda Maria Tomazini Munhoz Moya^b, Cínthia Baú Betim Cazarin^b, Mário José Abdalla Saad^c, Anderson de Souza Sant'Ana^a

^a Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^b Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^c Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

*Autor correspondente: Prof. Anderson de Souza Sant'Ana: and@unicamp.br

Rua Monteiro Lobato, 80. Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP: 13083-862. Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

Polpas de frutos como o buriti (*Mauritia flexuosa*) e subprodutos originários da indústria cítrica como o bagaço de laranja (*Citrus sinensis*) são consideradas fontes de compostos antioxidantes e provitamina A. Além disso, a fermentação de frutas e seus subprodutos vem sendo cada vez mais associada com o aumento da atividade antioxidante, e liberação ou produção de compostos bioativos. Neste sentido, objetivou-se avaliar o impacto *in vivo* do consumo de produtos fermentados acrescidos de frutos e subprodutos (iogurte de buriti e leite fermentado contendo bagaço de laranja) no conteúdo de retinol sérico, no sistema endógeno antioxidante e na expressão de proteínas endógenas de resposta ao estresse (HSPs). Ratos Wistar machos (n=6) receberam durante 60 dias as variações dos produtos fermentados contendo polpa de buriti e bagaço de laranja. O conteúdo de retinol sérico foi analisado por HPLC-DAD. O status antioxidante foi avaliado no soro e fígado pelo conteúdo de GSH e atividade das enzimas GR, GPX, SOD e CAT. E a resposta ao estresse foi avaliada pela expressão das proteínas de choque térmico HSP 25, 60, 70 e 90 no fígado e músculo. No geral, o consumo dos iogurtes contendo polpa de buriti ou leites fermentados contendo bagaço de laranja aumentaram ($p<0,05$) a atividade do sistema antioxidante endógeno (GSH, GR, GPX e CAT) no fígado, a expressão das proteínas de choque térmico HSP 70 e 90 no músculo, e o conteúdo de vitamina A no soro dos animais estudados. Além disso, expressão da HSP 70 foi reduzida no fígado após o consumo das formulações contendo bagaço de laranja. Desta maneira, conclui-se que o consumo de iogurtes e leites fermentados contendo frutos e subprodutos impactaram na resposta antioxidante do organismo de animais saudáveis, indicando uma possível resposta citoprotetora e antioxidante.

Palavras-chave: produtos lácteos, probióticos, subprodutos, resposta antioxidante, carotenoides.

1 INTRODUÇÃO

Frutas são alimentos ricos em nutrientes e substâncias bioativas como fibras, compostos fenólicos, carotenoides, fito esteróis, vitaminas e outros. Devido ao seu conteúdo significativo de compostos bioativos, as frutas podem ser classificadas como alimentos funcionais e seu consumo pode estar associado com a redução do risco de desenvolvimento de doenças (RODRÍGUEZ *et al.*, 2020; SERAFINI; PELUSO, 2016). Além disso, a utilização de resíduos provenientes destes alimentos como cascas, bagaço e sementes tem sido amplamente aplicada na geração de novos produtos, principalmente devido à presença de quantidades significativas de nutrientes essenciais e compostos nutracêuticos e bioativos (FAUSTINO *et al.*, 2019; HELKAR; SAHOO; PATIL, 2016; IRIONDO-DEHOND; MIGUEL; DEL CASTILLO, 2018).

Subprodutos provenientes da produção de suco de laranja contem alto valor nutricional e elevados níveis de compostos bioativos. Além disso, cerca de 45 a 60% da matéria-prima fresca utilizada na produção de sucos cítricos como laranja é transformada em subproduto, o que torna o seu reaproveitamento sustentável, reduzindo a geração de resíduos e aumentando o seu valor agregado (CASTRO *et al.*, 2020; IRIONDO-DEHOND; MIGUEL; DEL CASTILLO, 2018).

Frutos como o buriti e subprodutos como o bagaço de laranja são alimentos ricos em vitaminas, carotenoides e polifenóis (CASTRO *et al.*, 2020; LAGE *et al.*, 2018; M'HIRI; IOANNOU; GHOU; MIHOUBI BOUDHRIQUA, 2017; ROMERO *et al.*, 2015). Estes compostos são reconhecidos principalmente pelo seu potencial antioxidante e por serem capazes de influenciar em processos de estresse oxidativo, reduzindo os danos causados pelo aumento de radicais livres e espécies reativas ao oxigênio (ROS) (JIMENEZ-ESCRIG, 2006; PIZZINO *et al.*, 2017).

O aumento destes radicais livres ou espécies reativas no organismo está relacionado com a incidência e desenvolvimento de diversas doenças como diabetes, doenças cardiovasculares, aterosclerose, câncer, doenças neurológicas degenerativas e outros problemas crônicos de saúde (BARNHAM; MASTERS; BUSH, 2004; DASARI; MADU; LU, 2020; LIGUORI *et al.*, 2018; SENONER; DICHTL, 2019; ULLAH; KHAN; KHAN, 2016).

As espécies reativas ao oxigênio (ROS) são também subprodutos gerados naturalmente pelo metabolismo, principalmente através da via de produção de energia mitocondrial (MEPP) (IGHODARO; AKINLOYE, 2018; ZHANG *et al.*, 2016). Para combater o excesso da produção destes radicais livres o organismo possui um sistema antioxidante endógeno composto por enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) e glutathione redutase (GR). E, também por compostos antioxidantes como a glutathione reduzida (GSH), os quais atuam conjuntamente com os antioxidantes exógenos no combate a estas espécies reativas (COUTO; WOOD; BARBER, 2016; IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

Além do seu poder antioxidante, o conteúdo de carotenoides presentes na polpa de buriti e bagaço de laranja podem ser considerados fontes de provitamina A (CHEDEA; KEFALAS; SOCACIU, 2010; FREIRE *et al.*, 2016; LUX *et al.*, 2019; NASCIMENTO-SILVA; SILVA; SILVA, 2020; TOTI *et al.*, 2018). O buriti (*Mauritia flexuosa*), por exemplo, é um dos frutos brasileiros com a maior concentração de β -caroteno conhecida (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Além disso, sabe-se que deficiência em vitamina A é uma das formas de desnutrição por micronutrientes mais relevantes e prevalentes no mundo. A baixa concentração sérica de retinol chega a atingir 190 milhões de crianças em idade pré-escolar e 19,1 milhões de grávidas no mundo. Sendo ainda, responsável por ocasionar diversos problemas

de saúde como cegueira, xeroftalmia, cegueira noturna, manchas de Bitot's, anemia, comprometimento do sistema imunológico e outros (DARNTON-HILL, 2018; ROSS; HARRISON, 2007; WHO, 2009).

Neste sentido, a aplicação de frutas e seus resíduos em produtos mundialmente consumidos, como os produtos lácteos fermentados (KHORSHIDIAN; YOUSEFI; MORTAZAVIAN, 2020), pode trazer uma nova possibilidade à fortificação de micronutrientes tendo em vista a redução do aparecimento de doenças. Além disso, a fermentação de frutas e seus subprodutos já foi associada ao aumento da atividade antioxidante e liberação ou produção de alguns compostos bioativos (como polifenóis) em produtos derivados como sucos e bebidas (AYED; M'HIR; HAMD, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2020; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020). Adicionalmente, a utilização de *Lactobacillus acidophilus* em produtos fermentados já foi relatada por sua capacidade antioxidante e de produção de compostos bioativos, como peptídeos com atividade antimicrobiana e anti-hipertensiva, além de seu consumo estar atrelado à benefícios a saúde (GANDHI; SHAH, 2014; GOPAL, 2011; HAYES *et al.*, 2006; LIM, 2013; PIHLANTO; VIRTANEN; KORHONEN, 2010).

Durante os últimos anos, pesquisas com a utilização de probióticos do gênero *Lactobacillus* pré-submetidos à condições de estresse sugerem uma melhora na sobrevivência destes micro-organismos em produtos lácteos fermentados (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016). Apesar disso, os impactos *in vivo* do consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido à condições de estresse (como o estresse oxidativo) ainda não foi elucidado pela literatura. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto do consumo de dois tipos de produtos lácteos fermentados contendo polpa de buriti (iogurte) e bagaço de laranja (leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ou não ao estresse oxidativo) no

conteúdo de retinol sérico, no sistema endógeno antioxidante e na expressão de proteínas endógenas de resposta ao estresse (proteínas de choque térmico) em ratos Wistar saudáveis.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e dieta

Sessenta ratos machos da linhagem HanUnib: WH (Wistar) (21 dias de vida, livre de patógenos) criados pelo Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica (Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil) foram utilizados neste estudo, seguindo todas as diretrizes éticas recomendadas. A metodologia utilizada foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo #5131-1/2019, CEUA, UNICAMP, Brasil). Os animais foram alojados em gaiolas de crescimento individual em condições controladas (22 ± 2 °C, 50 a 60 % de umidade relativa do ar, ciclo claro escuro de 12/12h), com livre acesso a água e dieta comercial (Nuvilab®, Quimtia, Canguiri, Brasil). Após completarem 30 dias de idade os ratos foram randomicamente distribuídos em 10 diferentes grupos ($n = 6$) dependendo do tipo de suplementação introduzida na dieta: controle (C); leite fermentado por *L. acidophilus* (LA); solução contendo 5% de bagaço de laranja (OB); leite fermentado por *L. acidophilus* contendo 5% de bagaço de laranja (LAOB); leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo 5% de bagaço de laranja (LAOXOB); iogurte (Y); iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA); solução contendo 2,75% de polpa de buriti (BP); iogurte contendo 2,75% de polpa de buriti (YBP); e, iogurte contendo *L. acidophilus* e 2,75% de polpa de buriti (YLABP) (GRAÇA; FURTADO; *et al.*, 2021) (Figura 1). As soluções utilizadas eram compostas de água filtrada estéril e das concentrações indicadas de farinha de bagaço de laranja ou da polpa de buriti

liofilizada (m/v). Todos os dias durante um período de 60 dias consecutivos os animais receberam gavagem de 3 mL dos produtos testados, exceto o grupo controle que recebia 3 mL de água. O monitoramento do consumo da dieta ocorreu 3 vezes por semana e o ganho de peso ponderal 1 vez por semana.

2.2 Produção de iogurtes e leites fermentados

A pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo (10.54 mM peróxido de hidrogênio/0.5 h) e a produção dos iogurtes e leites fermentados (item 2.1) foram realizados de acordo com o descrito por Graça e colaboradores (2021a). Para a fabricação dos iogurtes e leites fermentados utilizaram-se a cultura probiótica *L. acidophilus* DSM 13241 (Nu-trish® LA-5®) e a cultura *starter* liofilizada YF-L812 (Chr. Hansen, Hoersholm, Dinamarca). As formulações avaliadas foram produzidas em banho-maria (Tecnal TE-057, Piracicaba, Brasil) a 42 °C até que a mistura atingisse o pH 4,6. Finalizado o processo de fermentação, os iogurtes e leites fermentados foram resfriados em banho de gelo e armazenados a – 80 °C até serem utilizados como suplementação da dieta comercial utilizada no estudo in vivo.

A vida útil dos produtos foi determinada pela viabilidade da bactéria probiótica *L. acidophilus* nas formulações através da enumeração de células viáveis. Para isto, as amostras foram descongeladas, diluídas serialmente em água peptonada 0,1% (Accumedia, Michigan, USA), inoculadas pela técnica *pour plate* em MRS ágar (Merck, Darmstadt, Alemanha) adicionado de clindamicina (10 µL/mL) (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) com incubação à 37 °C/24-48 h em aerobiose. O crescimento foi avaliado através da contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) e o resultado foi expresso log₁₀UFC/mL (ISO:20128, 2006; SACCARO *et al.*, 2011). Este experimento foi realizado em duplicata e em duas repetições independentes (dados suplementares,

tabela 1). A verificação da viabilidade ocorreu por um período de 21 dias (a cada 7 dias), o qual foi determinado como prazo de validade dos produtos. Portanto, as formulações foram produzidas a cada 21 dias e utilizadas respeitando este período.

2.3 Amostras biológicas

Após 60 dias do período experimental, os animais foram eutanasiados por exsanguinação por punção cardíaca pós anestesia (300 mg/kg quetamina e 30 mg/kg xilazina). As amostras de sangue foram coletadas em tubos de polietileno com gel separador (Vacuette® 455071, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Áustria) e centrifugadas a 2000 g por 15 min. para obtenção do soro. O soro foi separado e armazenado em microtubos de polipropileno à – 80 °C até a sua utilização. O fígado, coração, diafragma e músculo sóleo foram removidos e pesados. Amostras do músculo gastrocnêmico e do fígado foram removidas, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, armazenadas a – 80 °C para realização de análises posteriores.

2.4 Análise das defesas antioxidantes dos tecidos

Todas as análises tiveram as suas leituras espectrofotométricas realizadas em leitor de microplaca Synergy HT (Biotek, Winooski, USA) acoplado ao software analítico Gen5™ 2.0 e foram realizadas em triplicata.

2.4.1 Sistemas antioxidantes endógenos enzimático e não enzimático (marcadores antioxidantes)

Os níveis de glutathiona reduzida (GSH), bem como a atividade das enzimas glutathiona redutase (GR), glutathiona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) foram determinados diretamente em soro e homogenato de fígado.

O homogenato de fígado (100 mg do tecido úmido) foi preparado em tampão fosfato (PB) 50 mmol/L (pH 7,4) utilizando o homogeneizador Polytron (POLYTRON® System PT 2100, Kinematica AG, Littau-Lucerne, Suíça) e foi armazenado a – 80 °C até o momento das análises. O teor proteico (mg ou g) do homogenato foi mensurado através do método de Bradford (BRADFORD, 1976), sendo utilizado posteriormente no cálculo do nível de glutathiona reduzida (GSH) e atividade das enzimas antioxidantes no fígado. Já as metodologias utilizadas para determinação da atividade das enzimas glutathiona redutase (GR) (CARLBERG; MANNERVIK, 1985), glutathiona peroxidase (GPx) (FLOHÉ; GÜNZLER, 1984) e superóxido dismutase (SOD) (WINTERBOURN *et al.*, 1975); e, do conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) (ELLMAN, 1959) foram realizadas conforme as modificações informadas por Da Silva *et al.* (2013). Já a determinação da atividade da enzima catalase (CAT) foi realizada de acordo com o descrito por Aebi (1984).

2.4.1.1 *Glutathiona redutase (GR)*

A atividade da enzima GR foi determinada pelo decréscimo na absorbância (340 nm) induzido por 1 mmol de glutathiona oxidada na presença de 0,1 mmol de NADPH em tampão fosfato, acompanhado por 10 minutos. Os resultados para este ensaio foram expressos em nmol NADPH consumido/min ou em nmol NADPH consumido/min/mg de proteína para soro e fígado, respectivamente (CARLBERG; MANNERVIK, 1985).

2.4.1.2 *Glutathiona peroxidase (GPx)*

A atividade da enzima GPx foi determinada baseada na oxidação de 10 mmol de GSH pela ação da GPx em conjunto com a oxidação de 4 mmol NADPH por 1 U

enzimática de GR na presença de 0,25 mmol de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A taxa de oxidação de NADPH foi monitorada por 10 minutos através do decréscimo de sua absorbância a 365 nm e os resultados foram expressos em nmol NADPH consumidos/min. e nmol NADPH consumidos/min/mg de proteína para soro e fígado, respectivamente (FLOHÉ; GÜNZLER, 1984).

2.4.1.3 *Glutathiona reduzida (GSH)*

Para redução dos compostos sulfidrilas possivelmente presentes, as amostras de soro e fígado (homogenato) foram inicialmente tratadas com ácido metafosfórico 0,13 M e centrifugadas a 12.000 rpm x 10 min. x 4 °C. Os níveis de GSH foram determinados através da utilização do reagente de Ellman (DTNB), usando como padrão a solução de GSH (2,5-500 nmol GSH/mL). A absorbância foi lida em 412 nm e o conteúdo de GSH foi expresso em nmol GSH/mL ou nmol GSH/mg de proteína para soro e fígado, respectivamente (ELLMAN, 1959).

2.4.1.4 *Superóxido dismutase (SOD)*

A atividade da enzima SOD foi monitorada por 10 minutos em uma reação cinética a 560 nm adicionando as amostras à 150 µL de uma solução de trabalho (contendo 0,1 mmol de hipoxantina, 0,07 U de xantina oxidase e 0,6 mmol NBT em tampão fosfato na proporção de 1:1:1). Os resultados foram expressos em U/mL ou U/mg de proteína para soro e fígado, respectivamente, após cálculo da área sobre a curva (AUC) (WINTERBOURN *et al.*, 1975).

2.4.1.5 Catalase (CAT)

A atividade da enzima CAT foi determinada através da decomposição pela amostra de uma solução de 25 mmol de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em tampão fosfato 50 mmol/L (pH 7,0), observada através do decréscimo nos valores de absorbância a 240 nm (37 °C). Os resultados foram expressos em U CAT/mL ou U CAT/g de proteína para soro e fígado, respectivamente (AEBI, 1984).

2.5 Western blot

A concentração das proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins: HSP 25, 60, 70 e 90) foi determinada nos homogenatos de músculo gastrocnêmico e fígado. O homogenato de 100 mg destes tecidos congelados foi realizado em tampão de extração (1% Triton X-100; 100 mM Tris pH 7,4; 100 mM de pirofosfato de sódio; 100 mM de fluoreto de sódio; 10 mM EDTA, 10 mM ortovanadato de sódio; 2 mM de fluoreto de fenil metilsufonil e 0,1 mg/mL de aprotinina) por intermédio dos equipamentos Polytron (POLYTRON® System PT 2100, Kinematica AG, Littau-Lucerne, Suíça) (músculo gastrocnêmico) e TissueLyser II (Qiagen, Hilden, Alemanha) em conjunto com beads de aço inox (3 mm) (fígado). Após um período de 40 min. de incubação com a solução anti-protease, as amostras foram centrifugadas a 11.000 rpm x 40 min. x 4 °C (5910 R, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha), e o sobrenadante foi coletado e utilizado nas próximas etapas. A concentração de proteínas nos homogenatos foi determinada pelo kit Proteínas totais (Ref. 99-250, LabTeste, Lagoa Santa, MG) em 545 nm à 37 °C no espectrofotômetro Epoch (Biotek, Vermont, USA). As amostras foram então incubadas à 100 °C por 5 min em 25% do volume de tampão de Laemmli 5x (Azul de bromofenol 0.1%, fosfato de sódio 1M, glicerol 50%, SDS 10%) contendo DTT. Para corrida de eletroforese foi utilizado gel

bifásico: gel de empilhamento (EDTA 4 mM, SDS 2%, Trisma base 750 mM, pH 6.7) e gel de resolução (EDTA 4 mM, SDS 2%, Trisma base 50 mM, pH 8.9). A corrida foi realizada à 90 V por aproximadamente 180 min. com tampão de corrida (Trisma base 200 mM, glicina 1,52 M, EDTA 7,18 mM e SDS 0,4%), diluído 1:4. As amostras foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose 0,45 µm (Bio-rad, California, USA). A transferência foi realizada durante 120 min. a 120 V em gelo, banhada com tampão de transferência (Trisma base 25mM, glicina 192mM). Após transferência, as membranas foram bloqueadas com solução de 5% de albumina bovina (BSA) em solução TBS por 2 h a temperatura ambiente. Logo após, as membranas foram incubadas overnight com anticorpo policlonal específico. Os anticorpos primários utilizados foram: HSP 25 1:1000 (Enzo Life Sciences, Farmingdale, N.Y., USA; Ref. ADI-SPA 801), HSP 60 1:1000 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Califórnia, Santa Cruz, USA; Ref. sc-376240), HSP 70 1:1000 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Ref. sc-66048), HSP 90 1:1000 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Ref. sc-7947) e Gapdh 1:10000 (Sigma-Aldrich, G9545). Em seguida, as membranas foram incubadas por 2 h com o anticorpo secundário conjugado com peroxidase (diluição 1:10000 em TBS com 2% de BSA). Passado este período, as membranas foram lavadas com TBS, incubadas por 5 min. com reagentes de quimiluminescência (SuperSignal™, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA), e reveladas utilizando o aparelho ImageQuant (LAS 4000, GE Healthcare, Chicago, USA). As intensidades das bandas foram quantificadas por densitometria óptica usando o software Image Tool J (<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/itdesc.html>). Os valores obtidos a partir da densitometria das bandas relacionadas com as respectivas proteínas foram normalizadas pela expressão da proteína controle interno Gapdh.

2.6 Retinol e β -caroteno

A quantificação de retinol (vitamina A) e β -caroteno sérico foi determinada pela empresa Vitae cromatografia líquida em análises clínicas Ltda. (São Paulo, Brasil) utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD). Estes compostos foram extraídos do soro utilizando os kits Chromsystems (ordem nº 32000 e 34000) e quantificados segundo o método padrão validado pelo fabricante (Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH, Alemanha). Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol/L}$. E, segundo as informações técnicas do fabricante, a reprodutibilidade do método para a quantificação de vitamina A e β -caroteno em termos do coeficiente de variação (CV) intra-ensaio era de 2,5% e 2,0% e, inter-ensaio de 5,0% e 3,1%, respectivamente. A recuperação da vitamina A e β -caroteno era de respectivamente 106% e 107%. A linearidade da análise era de 0,02–5,0 mg/L para vitamina A e de 3000 ng/mL para β -caroteno. O limite de quantificação para vitamina A era de 0,02 mg/L e para o β -caroteno 5 ng/mL.

2.7 Análises estatísticas

As replicatas analíticas de cada uma das análises presentes neste estudo foram submetidas a Análise de Variância (ANOVA) com posterior comparação de médias pelo teste Tukey considerando um valor $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Peso corporal e ingestão de alimentos

Não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) com relação ao ganho de peso e ingestão da dieta entre os grupos analisados. Entretanto pode-se observar que a eficiência na ingestão de alimentos (ganho de peso/ingestão de alimentos) foi

diferente entre os grupos que receberam iogurte (Y), polpa de buriti (BP), leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB) e leite fermentado por *L. acidophilus* submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB). Onde, os grupos que receberam iogurte (Y) ($0.24 \pm 0.02\%$) e leite fermentado por *L. acidophilus* submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) ($0.20 \pm 0.01\%$) apresentaram a maior e a menor eficiência na ingestão de alimentos, respectivamente (Tabela 1).

Com relação aos tecidos extraídos (coração, músculo sóleo, fígado e diafragma) observou-se diferença estatística entre grupos ($p < 0,05$) apenas no peso do diafragma e fígado. O grupo que recebeu iogurte (Y) apresentou valores de peso do fígado maiores (18.91 ± 1.84 g) do que o grupo suplementado com bagaço de laranja (OB) (15.50 ± 1.75 g). Além disso, o grupo suplementado com bagaço de laranja (OB) também apresentou valores de peso do diafragma menores que os demais grupos (0.68 ± 0.15 g) (Tabela 2).

3.2 Status antioxidante do plasma e fígado

Os marcadores antioxidantes GR, GPX e SOD no soro apresentaram aumento ($p < 0,05$) em sua atividade no grupo suplementado com polpa de buriti (BP) quando em comparação com o grupo controle (C). No entanto, não foram observadas diferenças significativas ($p > 0,05$) no conteúdo de GSH e na atividade de CAT entre estes dois grupos analisados (C e BP). A atividade de GR no soro também foi aumentada após a suplementação de bagaço de laranja (OB) quando comparada com a dieta controle (C). Além disso, a suplementação da dieta comercial com iogurte (Y) aumentou ($p < 0,05$) o conteúdo sérico de GSH e a atividade de SOD com relação ao grupo controle (C). Já em relação a atividade de CAT, houve aumento significativo

($p < 0,05$) no grupo suplementado com leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB) quando comparado ao grupo controle (C). Além disto, a fermentação do bagaço de laranja por *L. acidophilus* (LAOB) reduziu a atividade sérica das enzimas GR e SOD quando comparada ao grupo que recebeu bagaço de laranja (OB). Entretanto, a atividade de GR aumentou ($p < 0,1$) no grupo suplementado com leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) quando comparado com LAOB, demonstrando um impacto positivo do consumo de produtos contendo probióticos pré-submetidos à condição de estresse. O mesmo ocorreu nas formulações contendo polpa de buriti (BP), notando-se que a fermentação da polpa de buriti (YBP) pela cultura *starter* teve um impacto negativo ($p < 0,05$), reduzindo a atividade de GR, GPX e SOD quando comparados com o grupo suplementado apenas com buriti (BP). Apesar disso, observou-se que a inclusão do probiótico *L. acidophilus* nestas formulações contendo polpa de buriti (YLABP) aumentou significativamente a atividade destas enzimas (GR $p < 0,1$, GPX e SOD $p < 0,05$) quando comparados com a formulação fermentada apenas pela cultura *starter* (YBP) (Figura 2).

No fígado, o conteúdo de GSH e a atividade das enzimas GR e GPX apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) no grupo suplementado com leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) com relação ao grupo controle (C). Além disso, pode-se observar uma maior atividade ($p < 0,05$) das enzimas GR e GPX nos grupos que receberam leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) em comparação a versão não submetida ao estresse (LAOB). De forma similar, o grupo suplementado com iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) apresentou aumento significativo ($p < 0,05$) no

conteúdo de GSH e na atividade das enzimas GR e CAT (quando comparadas ao grupo C). O conteúdo de GSH deste grupo (YLABP) foi também significativamente maior ($p < 0,05$) do que o grupo suplementado apenas com iogurte contendo polpa de buriti (YBP) sem a adição do micro-organismo probiótico. A atividade de GR foi significativamente aumentada ($p < 0,05$) nos grupos suplementados com bagaço de laranja (OB), leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB), polpa de buriti (BP) e iogurte com polpa de buriti (YBP) em relação ao controle (C). Da mesma maneira, comparado a este grupo (C), o conteúdo de GSH e a atividade da enzima CAT aumentaram ($p < 0,05$) respectivamente no grupo que consumiu bagaço de laranja (OB) ou leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB). Já a atividade de SOD aumentou significativamente ($p < 0,05$) nos grupos suplementados com leite fermentado por *L. acidophilus* (LA), bagaço de laranja (OB), leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB), iogurte (Y) e polpa de buriti (BP) em relação ao grupo controle (C).

3.3 Proteínas de choque térmico (HSPS)

No fígado, a expressão da proteína de choque térmico HSP 25 reduziu significativamente ($p < 0,05$) após o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* (LA) em comparação aos demais grupos estudados (com exceção ao grupo LAOXOB). Além disso, o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB) e leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a expressão da proteína HSP 70 em relação ao grupo controle (C) e demais grupos estudados. O consumo de bagaço de laranja (OB) no entanto, aumentou ($p < 0,05$) a expressão de HSP 60 quando em comparação aos demais grupos, exceto

ao grupo suplementado com leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB) que apresentou valores similares. Já a expressão da proteína HSP 90 não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos suplementados e controle (C). Apesar disso, o grupo que consumiu leite fermentado por *L. acidophilus* (LA) apresentou maior expressão ($p<0,05$) de HSP 90 em comparação ao grupo que recebeu leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB). Ainda, o grupo suplementado com iogurte (Y) também apresentou maior expressão ($p<0,05$) de HSP 90 em relação ao grupo que consumiu iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) (Figura 4).

A expressão das proteínas de choque térmico (HSP) no músculo gastrocnêmico demonstraram resultados diferentes do observado nos homogenatos de fígado. Observou-se que a expressão da proteína HSP 60 reduziu significativamente ($p<0,05$) nos grupos que consumiram bagaço de laranja (OB) em comparação com o grupo controle (C). Já a expressão da proteína HSP 25 foi significativamente aumentada ($p<0,05$) nos grupos suplementados com polpa de buriti (BP) em relação ao grupo controle (C). Da mesma maneira, os grupos que receberam leite fermentado por *L. acidophilus* (LA), iogurte (Y) e iogurte com polpa de buriti (YBP) apresentaram aumento significativo ($p<0,05$) na expressão da proteína HSP 70 (quando comparado ao grupo controle - C). Além disso, o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB), leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB), bagaço de laranja (OB), iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA), polpa de buriti (BP) e iogurte com polpa de buriti (YBP) aumentou significativamente ($p<0,05$) a expressão da proteína HSP 90 quando comparado ao controle (C). Observou-se também que a expressão das proteínas HSP 25, 60, 70 e 90 foram menores nos

grupos que receberam iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) em comparação com os suplementados apenas com iogurte contendo polpa de buriti (YBP). Portanto, observa-se um impacto diferente na expressão destas proteínas após a adição do probiótico *L. acidophilus*. Ainda, os dados apresentados demonstram que o grupo que consumiu leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) apresentou aumento e redução ($p<0,05$) na expressão da proteína HSP 70 e 25 em comparação ao grupo suplementado com leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB), respectivamente (Figura 5).

3.4 Retinol e β -caroteno

O conteúdo de retinol no soro apresentou aumento significativo ($p<0,05$) nos grupos que receberam leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB), leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB), polpa de buriti (BP), iogurte com polpa de buriti (YBP) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) em relação ao grupo controle (C). Entretanto, o conteúdo de β -caroteno não diferiu significativamente ($p>0,05$) entre os grupos avaliados.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi observado um aumento significativo ($p<0,05$) na atividade antioxidante do sistema endógeno enzimático (GR, GPX, SOD e CAT) e não enzimático (GSH) após todas as suplementações aplicadas à dieta comercial, com exceção do grupo suplementado com iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA) que não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) em relação ao controle (C). A atividade dos

marcadores antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos possui papel fundamental e indispensável na proteção dos sistemas biológicos contra os danos ocasionados pelo aumento dos radicais livres. As enzimas SOD, CAT e GPX estão na linha de frente do sistema antioxidante de defesa denominados como defesa antioxidante de primeira linha. O SOD converte o radical superóxido (O_2^-) ou radical de oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular (O_2). O peróxido de hidrogênio ainda representa ação oxidante podendo ser nocivo para as células e por este motivo é decomposto pelas enzimas CAT e GPX gerando água e oxigênio molecular. Além disso, a glutathiona reduzida (GSH) possui também papel fundamental na eliminação de radicais livres de oxigênio e nitrogênio inibindo não apenas o início das reações em cadeia como também a subsequência dessas reações. A eliminação de radicais livres pela glutathiona ocorre através de sua própria oxidação, a qual pode voltar a sua forma reduzida através da ação da enzima GR que com o auxílio do NADPH transforma a glutathiona oxidada em glutathiona reduzida (COUTO; WOOD; BARBER, 2016; IGHODARO; AKINLOYE, 2018; SKRZYDLEWSKA *et al.*, 2002).

O consumo de fontes ricas em compostos antioxidantes já foi associado ao aumento na expressão/atividade dos marcadores antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos de animais saudáveis. O consumo de polpa de buriti por ratos machos saudáveis aumentou a expressão de grupos sulfidril não proteicos (NPSH) no fígado, os quais são representados no organismo principalmente pela glutathiona (MCGOWAN; DONALDSON, 1986; ROMERO *et al.*, 2015). Da mesma maneira, o consumo de extrato aquoso de jaboticaba (*Plinia jaboticaba*), rico em polifenóis, flavonoides e carotenoides, aumentou a expressão dos marcadores antioxidantes enzimáticos SOD e CAT respectivamente, no soro e cólon de animais saudáveis (SILVA-MAIA *et al.*, 2019). O consumo de extrato aquoso de folhas de maracujá

(*Passiflora edulis*) por animais saudáveis durante um período de 15 dias também foi capaz de aumentar em 40% a expressão de GSH nos rins e em 2x a atividade da enzima GR no fígado de animais que consumiram o extrato aquoso em comparação ao grupo controle (DA SILVA *et al.*, 2013).

O consumo de probióticos e produtos fermentados também já foi relacionado à aumentos na atividade de marcadores do sistema antioxidante endógeno no organismo de voluntários e animais saudáveis. O consumo de simbióticos contendo 4×10^8 UFC de *Lactocaseibacillus casei* e 400 mg de inulina durante 7 semanas aumentou significativamente a atividade de CAT no sangue de voluntários saudáveis (KLENIEWSKA *et al.*, 2016). Da mesma maneira, o consumo de sobremesa láctea probiótica contendo *L. acidophilus* La-5 por animais saudáveis durante um período de 2 semanas (5 g/dia) aumentou a expressão de SOD no músculo gastrocnêmico destes animais em comparação ao grupo controle (MOURA *et al.*, 2016). Ainda, Almada (2017) também relata que o consumo de 10^8 UFC/dia dos probióticos vivos *Lactocaseibacillus casei* subsp. *paracasei* 01 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 por um período de 15 dias aumentou a expressão de SOD e CAT no músculo gastrocnêmico de animais saudáveis em comparação ao grupo controle.

Algumas bactérias ácido lácticas e probióticas possuem atividade antioxidante podendo eliminar ou reduzir o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS) no organismo e durante a alimentação, influenciando na atividade do sistema antioxidante endógeno e reduzindo os danos por ele causados (ITO *et al.*, 2003; KAPILA *et al.*, 2014; MISHRA *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2017). Além disso, alguns estudos apontam que a modulação do estresse oxidativo circulatório e o aumento na atividade do sistema antioxidante endógeno composto por GSH e pelas enzimas SOD,

CAT, GPX, GR e glutathione S-transferase (GSS) podem ocasionar em proteção celular contra os danos induzidos por carcinógenos (KUMAR *et al.*, 2010).

O mecanismo por trás da atuação dos probióticos como agentes antioxidantes ainda não é completamente compreendido. Sabe-se no entanto que os probióticos podem de alguma forma atuar: na eliminação ou na prevenção da geração de compostos oxidantes no intestino por meio de suas atividades metabólicas; na produção de peptídeos bioativos com ação antioxidante, os quais podem atuar protegendo o organismo contra a peroxidação lipídica; na biossíntese de glutathione no intestino através da indução da transcrição de genes envolvidos; na regulação da microbiota intestinal, influenciando nas atividades enzimáticas e no aumento da biodisponibilidade de antioxidantes provenientes da alimentação; na regulação de vias de sinalização como Nrf2-Keap1-ARE e NFκB; na redução da atividade das enzimas produtoras de ROS e na estimulação do sistema imunológico, sendo capaz de inibir micro-organismos patogênicos reduzindo assim, o dano oxidativo associado pela inflamação causada (DAVIS; MILNER, 2009; LUTGENDORFF *et al.*, 2009; MISHRA *et al.*, 2015; SAH *et al.*, 2014; TONOLO *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2017).

Estudos apontam que o aumento na atividade do sistema antioxidante endógeno se associa a uma melhora no estado antioxidante e possui a capacidade de proteger o organismo à danos futuros possivelmente ocasionados pelo aumento das espécies reativas ao oxigênio, prevenindo o aparecimento de doenças (BATISTA *et al.*, 2014; GHONEIM; MOSELHY, 2016; KLENIEWSKA *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2010; LEITE *et al.*, 2011; LOBO *et al.*, 2010). No entanto, o aumento da atividade ou expressão dos marcadores antioxidantes endógenos em organismos saudáveis após o consumo de fontes contendo antioxidantes (ou por sua superexpressão) ainda é considerada paradoxal (KURUTAS, 2016; LEI *et al.*, 2016). Alguns autores relatam

que as espécies reativas ao oxigênio são fisiologicamente importantes por estarem envolvidas em várias vias de sinalização celular do organismo, sendo responsáveis por ativar fatores de transcrição, apoptose celular, imunidade, diferenciação e fosforilação de proteínas. Consequentemente, quando mantidas em concentrações adequadas as espécies reativas de oxigênio possuem ação benéfica ao organismo, agindo na síntese de estruturas celulares e no sistema de defesa (JIMENEZ-ESCRIG, 2006; PIZZINO *et al.*, 2017; RAJENDRAN *et al.*, 2014; SARANGARAJAN *et al.*, 2017). Desta maneira, o desequilíbrio e por consequência a redução na concentração de espécies reativas ao oxigênio pode impactar negativamente no estado de saúde podendo, na realidade, aumentar o risco do aparecimento de doenças crônicas (KURUTAS, 2016). Portanto, o consumo de antioxidantes exógenos principalmente provenientes de suplementos alimentares deve ser utilizado com cautela devido ao seu potencial de atuação como agentes pró-oxidantes, sendo limitados a casos documentados de estresse oxidativo (SOTLER *et al.*, 2019). Apesar disso, o consumo de antioxidantes naturalmente presentes em frutas e vegetais por organismos saudáveis são ainda documentados como benéficos, atuando na redução da incidência e desenvolvimento de doenças, principalmente as correlacionadas ao estresse oxidativo como câncer e doenças cardiovasculares (AUNE *et al.*, 2017; RODRÍGUEZ *et al.*, 2020; SOTLER *et al.*, 2019; WCRF/AICR, 2018, 2007).

Os resultados referentes a expressão das proteínas de choque térmico (HSPs) no fígado nos levam a crer que o aumento da atividade do sistema antioxidantes endógeno após o consumo dos produtos utilizados não foi prejudicial à saúde dos animais estudados. Apesar da relação entre as proteínas de choque térmico (HSPs) e o sistema antioxidante endógeno ainda não ser muito bem compreendida. As proteínas de choque térmico (HSPs) são normalmente expressas em condições de

estresse e desempenham atividades citoprotetoras, mantendo a integridade celular, garantindo tolerância ao estresse, agindo contra a desnaturação por meio do reparo e dobramento de proteínas danificadas e atuando na degradação de proteínas irreparáveis (IKWEGBUE *et al.*, 2018; LANNEAU *et al.*, 2008; MOURA *et al.*, 2018). No presente estudo a expressão das proteínas de choque térmico HSP 25, 60, 70 e 90 no fígado, no geral, não diferiram significativamente ($p > 0,05$) do grupo controle (C) ou apresentaram reduções significativas ($p < 0,05$) a ele após o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* (LA; HSP 25), leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB; HSP 70) e leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB; HSP 70). Portanto, acreditamos que o aumento na resposta antioxidante não se deu por ação pró-oxidante, o que elevaria tanto os níveis de ROS como a atividade do sistema antioxidante endógeno e por consequência aumentaria a expressão das proteínas de estresse (HSPs) neste tecido, fato que não ocorreu.

Moura e colaboradores (2018) também relatam que diversos componentes presentes em alimentos funcionais (como aminoácidos, polifenóis, probióticos e outros) vêm sendo relacionados à proteção celular por intermédio de mecanismos que envolvem a indução da expressão de proteínas de choque térmico no organismo. Nossos resultados referentes ao músculo gastrocnêmico demonstraram principalmente um aumento ($p < 0,05$) na expressão das proteínas de choque térmico HSP 70 e 90 após o consumo da maioria das suplementações utilizadas quando em comparação ao grupo controle (C). O aumento na expressão de HSP 90 no músculo esquelético já foi relatado em animais “sedentários” (não estressados) após o consumo de hidrolisado proteico de soro de leite (WPH) por um período de 3 semanas quando em comparação à animais que consumiram caseína e proteína de soro de

leite (MOURA *et al.*, 2014). Almada (2017) também observou aumento na expressão das proteínas HSP 25, 60, 70 e 90 no músculo gastrocnêmico de animais saudáveis após o consumo de 10^8 UFC/dia dos probióticos vivos *L. casei* subsp. *paracasei* 01 e *B. animalis* subsp. *lactis* Bb-12 por um período de 15 dias em comparação com a condição controle. Além disso, neste estudo não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de saúde (glucose, triglicerídeos, colesterol, AST, ALT e outros) dos animais que consumiram a dieta suplementada com estes micro-organismos em relação ao grupo controle.

De acordo com a literatura, a HSP 90 é uma proteína naturalmente expressa em células eucarióticas mesmo em condições que não apresentem estresse celular. Esta proteína representa cerca de 1 a 2% das proteínas celulares e é essencial para a manutenção da viabilidade celular, prevenindo a agregação de proteínas e auxiliando no processo de dobramento, estabilização e ativação de proteínas sinalizadoras (CSERMELY *et al.*, 1998; GARRIDO *et al.*, 2001; MOURA *et al.*, 2014; PICARD, 2002). Além disso, o aumento de sua expressão está relacionado com um efeito citoprotetor, sendo capaz de proteger as células do acúmulo de espécies reativas ao oxigênio (LEE *et al.*, 2005; MAGLARA *et al.*, 2003). Já a HSP 70 é considerada uma das proteínas de choque térmico mais abundantes, sendo responsável por atuar em uma grande variedade de processos de dobramento e remodelamento de proteínas celulares (ROSENZWEIG *et al.*, 2019). Esta proteína pode ser altamente representada no músculo esquelético atuando fisiologicamente na manutenção da função muscular, prevenindo a agregação de proteínas durante o dobramento, facilitando o transporte de proteínas e auxiliando na proteção da desnaturação e dobramento incorreto de cadeias polipeptídicas (HECK *et al.*, 2012). Ainda, a importância da HSP 70 no músculo esquelético tem recentemente ganhado

bastante atenção, principalmente pelo seu potencial terapêutico especulado no tratamento de lesões e distúrbios de perda muscular. A regulação ascendente da HSP 70 no músculo esquelético vêm sendo cada vez mais associada com a facilitação da regeneração muscular e manutenção da integridade das fibras musculares (EDKINS *et al.*, 2017; SENF, 2013).

Deste modo, concluímos que o consumo de frutas (buriti) e subprodutos (bagaço de laranja), fermentados ou não, aumentaram a atividade do sistema antioxidante endógeno (no soro e fígado) e impactaram na expressão das proteínas de choque térmico (no fígado e músculo) em relação à condição controle. É importante destacar também que o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) aumentaram a resposta do sistema antioxidante endógeno em comparação aos produtos que utilizaram a cepa probiótica padrão (LAOB) ou apenas a cultura *starter* (YBP), respectivamente. Desta maneira, acreditamos que estes resultados estejam relacionados: (I) com a capacidade antioxidante dos produtos utilizados, devido ao alto teor de compostos antioxidantes presentes, conforme discutido acima; (II) com a utilização de micro-organismos probióticos e produtos fermentados, também discutido acima; e, (III) com o impacto da adição ou utilização da cultura probiótica *L. acidophilus* (estressada ou não) na capacidade antioxidante dos produtos fermentados. A utilização de micro-organismos probióticos como *L. acidophilus* em leites fermentados e iogurtes já foi associada ao aumento da capacidade antioxidante destes produtos (MADHU; AMRUTHA; PRAPULLA, 2012; MENKOVSKA; TOMOVSKA; GJORGIEVSKI, 2017). Diversos autores também já relataram que a fermentação de frutas e subprodutos de frutas por bactérias ácido lácticas são capazes de aumentar a capacidade antioxidante destas

matrizes (BUJNA *et al.*, 2018; KWAW *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020). Além disso, a tolerância das bactérias ácido lácticas ao estresse oxidativo e uma maior capacidade antioxidante vêm sendo correlacionadas. E dentre as maneiras de induzir a esse aumento da tolerância oxidativa são mencionados a adaptação e exposição destas culturas ao estresse oxidativo e a fermentação de produtos utilizando co-culturas com cepas *starters* (FENG; WANG, 2020). Assim, acreditamos que a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo e a utilização deste micro-organismo em produtos fermentados em co-cultura (como o iogurte) possa ter aumentado a sua tolerância ao estresse oxidativo elevando sua capacidade antioxidante.

O consumo da polpa de buriti (BP) e dos produtos fermentados contendo polpa de buriti e bagaço de laranja (LAOB; LAOXOB; YBP e YLABP) foram também responsáveis por aumentar significativamente ($p < 0,05$) a concentração sérica de retinol nos animais estudados quando em comparação ao grupo controle (C). É interessante mencionar que o consumo dos produtos fermentados contendo bagaço de laranja (LAOB e LAOXOB) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a concentração sérica de retinol em relação à suplementação que utilizava apenas bagaço de laranja (OB). Desta maneira, acreditamos que o impacto observado seja proveniente da fermentação do bagaço de laranja por *L. acidophilus* ou de sua adição em leites fermentados. Sabe-se que o bagaço de laranja apresenta quantidades consideráveis de carotenoides com potencial de serem convertidos em vitamina A no organismo (CHEDEA; KEFALAS; SOCACIU, 2010; GHOSH *et al.*, 2019; RUBASHVILI *et al.*, 2018). Além disso, o consumo de fontes ricas em carotenoides como frutas, vegetais e produtos derivados já foram mencionados por sua capacidade em aumentar o conteúdo sérico de retinol em crianças e animais (AQUINO *et al.*, 2015; AQUINO *et*

al., 2016; RIBAYA-MERCADO *et al.*, 2000). Por este motivo, acreditamos que a adição e fermentação do bagaço de laranja em leite possa ter impactado positivamente na posterior absorção e bioconversão dos carotenoides no organismo dos animais estudados.

Dentre os diversos fatores que podem influenciar na biodisponibilidade dos carotenoides em alimentos encontram-se principalmente a estrutura física da matriz alimentar, a presença de fibras, o teor de gordura, a interação com outros componentes e o tipo de processamento aplicado (HOF *et al.*, 2000b; PRIYADARSHANI, 2017; SAINI; NILE; PARK, 2015). Além disso, como os carotenoides são absorvidos através de sua inclusão em micelas mistas, a presença de lipídeos auxilia em sua absorção favorecendo a formação de micelas e estimulando a secreção de sais biliares (LEMMENS *et al.*, 2014; PRIYADARSHANI, 2017). Sabe-se também que a maioria das frutas e vegetais naturalmente não possuem muitos lipídeos em sua composição (LEMMENS *et al.*, 2014). Assim, o teor de gordura presente no leite pode ter favorecido o aumento da absorção dos carotenoides advindos do bagaço de laranja. O teor de gordura presente em leites e iogurtes (integral, semi-desnatado e desnatado) já foi citado por impactar na bioacessibilidade *in vitro* de luteína, onde as versões integrais e semi-desnatadas dos produtos apresentaram maior bioacessibilidade que a versão desnatada (XAVIER *et al.*, 2014). Da mesma maneira, Brow e colaboradores (2004) observaram aumento na biodisponibilidade dos carotenoides β -caroteno, α -caroteno e licopeno em quilomícrons após o consumo de saladas contendo molhos para saladas com teores altos (28 g) e reduzidos (6 g) de gorduras quando em comparação ao consumo de saladas adicionadas de molho para saladas fat-free.

Mapelli-Brahm e colaboradores (2020) relatam que até o momento os poucos estudos sobre o tema indicam que as fermentações ácido lácticas e alcoólicas não apresentam grandes perdas para o conteúdo de carotenoides, demonstrando em alguns casos aumentos aparentes na concentração destes compostos. A fermentação alcóolica do suco de laranja por 10 dias já foi citada por aumentar o conteúdo de carotenoides totais e provitamina A e a absorção de β -criptoxantina e luteína sérica em voluntários saudáveis quando em comparação com o suco não fermentado. Dentre os fatores atribuídos a este aumento menciona-se a capacidade da fermentação modificar a matriz alimentar auxiliando em uma maior extração dos carotenoides (ESCUADERO-LÓPEZ *et al.*, 2016; HORNERO-MÉNDEZ *et al.*, 2018). Além disso, outros estudos também apontam o impacto da fermentação ácido láctica ou da co-ingestão de produtos fermentados na retenção e biodisponibilidade de carotenoides. Oloo e colaboradores (2014) demonstraram que a fermentação ácido láctica da batata doce de polpa alaranjada por *Lactiplantibacillus plantarum* MTCC 1407 reteve em 93,97% o conteúdo de β -caroteno, apresentando assim, as vantagens na preservação deste composto quando em comparação à utilização de outros processamentos como aquecimento e secagem. Já Morifuji e colaboradores (2020) relataram que a co-ingestão de β -caroteno (puro ou em dietas) e leite fermentado (pelas bactérias ácido lácticas *L. bulgaricus* OLL1251 e *S. thermophilus* OLS3290) aumentou a biodisponibilidade de β -caroteno na dieta de humanos e ratos. Estes pesquisadores demonstraram também que o aumento desta biodisponibilidade estava atrelado com a presença de proteínas e metabólitos (como exopolissacarídeos, aminoácidos, ácido láctico e peptídeos) produzidos por *L. bulgaricus* OLL1251 e *S. thermophilus* OLS3290 durante a fermentação do leite. O aumento na concentração de exopolissacarídeos produzidos por estas culturas apresentaram uma correlação

positiva com o aumento da concentração sérica de β -caroteno em animais. Desta maneira, podemos levar em consideração o possível envolvimento da fermentação no aumento da biodisponibilidade dos carotenoides presentes no bagaço de laranja e a sua contribuição para o aumento do retinol sérico nos animais estudados.

Apesar do consumo dos leites fermentados contendo bagaço de laranja (LAOB e LAOXOB) aumentarem o conteúdo sérico de retinol com relação ao grupo controle (C), as duas formulações (contendo ou não *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse) não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre si. O consumo de alimentos contendo probióticos pré-submetidos às condições de estresse e seu impacto na absorção de micronutrientes ainda não foi relatado pela literatura. No entanto, sabe-se que a utilização de probióticos pré-submetidos ou pré-cultivados em condições de estresse em leites fermentados e iogurtes têm a capacidade de modificar o metabolismo microbiano, levando a produção de diferentes metabólitos (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016). Tendo conhecimento deste fato, o impacto destes metabólitos na absorção de micronutrientes ainda não é conhecida. Além disso, entende-se a importância da absorção de micronutrientes no estado de saúde humano, uma vez que a sua deficiência pode levar ao desenvolvimento de diversas doenças (DARNTON-HILL, 2018; WHO/FAO, 2006b). Portanto, concluímos que a fermentação do bagaço de laranja por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo não influenciou na absorção e posterior bioconversão dos carotenoides em retinol.

Até onde sabemos resultados similares aos apresentados nunca foram descritos pela literatura e por este motivo trazem novos pontos a serem abordados e debatidos. Portanto, novos estudos precisam ser realizados para que haja maior entendimento do real impacto do consumo de produtos fermentados contendo frutas

e subprodutos na absorção de micronutrientes e na atividade antioxidante *in vivo*. Para isto, análises relacionadas à peroxidação lipídica e resposta anti-inflamatória, além de outros parâmetros de saúde (como glicose, triglicerídeos, colesterol, AST e ALT) corroborariam com a discussão iniciada. Ainda, a aplicação destes produtos em modelos onde ocorre o estresse oxidativo (como modelos de obesidade e diabetes) nos auxiliariam a melhor compreender o impacto das fermentações na resposta antioxidante.

5 CONCLUSÃO

O consumo de produtos naturais ou fermentados a base de frutos ou resíduos de frutas apresentaram capacidade de aumentar a resposta do sistema antioxidante endógeno, podendo reduzir marcadores relacionados ao estresse como a proteína de choque térmico HSP70 no fígado de animais saudáveis. Além disso, o consumo destes produtos também foi responsável pelo aumento da expressão das proteínas de choque térmico HSP 70 e 90 no músculo gastrocnêmico e pelo aumento da concentração de retinol sérico nestes animais indicando possivelmente uma resposta citoprotetora e de antioxidante.

6 AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (Processo #2016/12001-0).

7 REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods of Enzymology**. [s.l.]: Academic Press. Inc, 1984. v. 105. p. 121–126.

ALMADA, C. N. de. **Paraprobiotics: impact of inactivation methods on their efficacy, stability in food and health benefits**. 2017. 1–168 f. (PhD thesis) Department of Food Science, Campinas State University, São Paulo - Brazil, 2017.

AQUINO, J. de S. *et al.* Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and Vitamin A and e status of rats. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 9054–9070, 2015. DOI 10.3390/molecules20059054.

AQUINO, J. De S. *et al.* Intake of cookies made with buriti oil (*Mauritia flexuosa*) improves vitamin A status and lipid profiles in young rats. **Food and Function**, v. 7, n. 10, p. 4442–4450, 2016. DOI 10.1039/c6fo00770h.

AUNE, D. *et al.* Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality — A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **International Journal of Epidemiology**, v. 46, n. 3, p. 1029–1056, 2017. DOI 10.1093/ije/dyw319.

AYED, L.; M'HIR, S.; HAMDY, M. Microbiological, biochemical, and functional aspects of fermented vegetable and fruit beverages. **Journal of Chemistry**, p. 1–12, 2020. DOI 10.1155/2020/5790432.

BARNHAM, K. J.; MASTERS, C. L.; BUSH, A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 205–214, 2004. DOI 10.1038/nrd1330.

BATISTA, A. G. *et al.* Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 450–461, 2014. DOI 10.1016/j.jff.2013.11.011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976. DOI 10.1016/j.cj.2017.04.003.

BROWN, M. J. *et al.* Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 2, p. 396–403, 2004. DOI 10.1093/ajcn/80.2.396.

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, n. 2, p. 547–554, 2018. DOI 10.1007/s10068-017-0269-x.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione Reductase. **Methods in Enzymology**. [s.l.]: Academic Press, Inc, 1985. v. 113. p. 484–499.

CASTRO, L. A. de *et al.* From orange juice by-product in the food industry to a functional ingredient: Application in the circular economy. **Foods**, v. 9, n. 593, p. 1–17, 2020. DOI 10.3390/foods9050593.

CHEDEA, V. S.; KEFALAS, P.; SOCACIU, C. Patterns of carotenoid pigments extracted from two orange peel wastes (*Valencia* and *Navel* var.). **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, n. 1, p. 101–110, 2010. DOI 10.1111/j.1745-4514.2009.00267.x.

COUTO, N.; WOOD, J.; BARBER, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 95, p. 27–42, 2016. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028.

CSERMELY, P. *et al.* The 90-kDa molecular chaperone family: Structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 79, n. 2, p. 129–168, 1998.

DA SILVA, J. K. *et al.* Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves: In vitro and in vivo study. **Food Research International**, v. 53, p. 882–890, 2013. DOI 10.1016/j.foodres.2012.12.043.

DARNTON-HILL, I. Chapter 2: Prevalence, causes, and consequences of micronutrient deficiencies. The gap between need and action. In: MANNAR, M.G. V.; HURRELL, R. F. (org.). **Food Fortification in a Globalized World**. London: Elsevier Inc., 2018. p. 13–28. DOI 10.1016/b978-0-12-802861-2.00002-x.

DASARI, K.; MADU, C. O.; LU, Y. The role of oxidative stress in cancer. **Novel Approaches in Cancer Study**, v. 4, n. 2, p. 350-, 2020. DOI 10.31031/nacs.2020.04.000585.

DAVIS, C. D.; MILNER, J. A. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, n. 10, p. 743–752, 2009. DOI 10.1016/j.jnutbio.2009.06.001.

EDKINS, A. L. *et al.* Heat shock proteins as modulators and therapeutic targets of chronic disease: An integrated perspective. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 373, n. 20160521, p. 1–7, 2017. DOI 10.1098/rstb.2016.0521.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959. DOI 10.1016/0003-9861(59)90090-6.

ESCUDERO-LÓPEZ, B. *et al.* Effect of thermal processing on the profile of bioactive compounds and antioxidant capacity of fermented orange juice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 67, n. 7, p. 779–788, 2016. DOI 10.1080/09637486.2016.1204428.

FAUSTINO, M. *et al.* Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. **Molecules**, v. 24, n. 1056, p. 1–23, 2019. DOI 10.3390/molecules24061056.

FENG, T.; WANG, J. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. **Gut Microbes**, v. 12, n. 1, p. 24 p, 2020. DOI 10.1080/19490976.2020.1801944.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods in Enzymology**. [s.l.]: Academic Press, Inc., 1984. v. 105. p. 114–120.

FREIRE, J. A. P. *et al.* Phytochemistry profile, nutritional properties and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 11, p. 2611–2622, 2016. DOI 10.1111/1750-3841.13529.

GANDHI, A.; SHAH, N. P. Cell growth and proteolytic activity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* in milk as affected by supplementation with peptide fractions. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 65, n. 8, p. 937–941, 2014. DOI 10.3109/09637486.2014.945154.

GARRIDO, C. *et al.* Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 286, n. 3, p. 433–442, 2001. DOI 10.1006/bbrc.2001.5427.

GHONEIM, M. A.; MOSELHY, S. S. Antioxidant status and hormonal profile reflected by experimental feeding of probiotics. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 4, p. 741–750, 2016. DOI 10.1177/0748233713506768.

GHOSH, S. *et al.* Estimation of beta carotene from fruit peel wastes by high performance thin layer chromatography. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 1, p. 2598–2600, 2019.

GRAÇA, J. S. da *et al.* Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk

products. **In submission process for International Journal of Food Microbiology**, 2021.

GOPAL, P.K. LACTOBACILLUS spp. | *Lactobacillus acidophilus*. In: FUQUAY, John W. (org.). **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2nd. ed. [s.l.]: Elsevier, 2011. p. 91–95. DOI 10.1016/b0-12-227235-8/00239-x.

HAYES, M. *et al.* Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 3, p. 2260–2264, 2006. DOI 10.1128/AEM.72.3.2260-2264.2006.

HECK, T. G. *et al.* Chapter 5: Role of heat shock proteins in skeletal muscle. **Skeletal Muscle - From Myogenesis to Clinical Relations**. [s.l.]: InTech, 2012. p. 105–122. DOI 10.5772/47815.

HELKAR, P. B.; SAHOO, A. K.; PATIL, N. J. Review: Food Industry By-Products used as a Functional Food Ingredients. **International Journal of Waste Resources**, v. 6, n. 3, p. 1–6, 2016. DOI 10.4172/2252-5211.1000248.

HOF, K. H. van het *et al.* Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 3, p. 503–506, 2000. DOI 10.1093/jn/130.3.503.

HORNERO-MÉNDEZ, D. *et al.* β -Cryptoxanthin is more bioavailable in humans from fermented orange juice than from orange juice. **Food Chemistry**, v. 262, p. 215–220, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.04.083.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287–293, 2018. DOI 10.1016/j.ajme.2017.09.001.

IKWEGBUE, P. C. *et al.* Roles of heat shock proteins in apoptosis, oxidative stress, human inflammatory diseases, and cancer. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 1, p. 1–18, 2018. DOI 10.3390/ph11010002.

IRIONDO-DEHOND, M.; MIGUEL, E.; DEL CASTILLO, M. D. Food byproducts as sustainable ingredients for innovative and healthy dairy foods. **Nutrients**, v. 10, n. 1358, p. 1–24, 2018. DOI 10.3390/nu10101358.

ISO:20128. Milk products — **Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium** — Colony-count technique at 37 °C. p. 12, 2006. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/35292.html>.

ITO, M. *et al.* Antioxidative effects of lactic acid bacteria on the colonic mucosa of iron-overloaded mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 15, p. 4456–4460, 2003. DOI 10.1021/jf0261957.

JIMENEZ-ESCRIG, A. Polyphenol and carotenoid protection in biological systems through the modulation of antioxidant enzymes. **Current Enzyme Inhibition**, v. 2, n. 3, p. 231–248, 2006. DOI 10.2174/157340806777934793.

KAPILA, S. *et al.* Oral administration of probiotic *Lactobacillus casei* spp. *casei* ameliorates oxidative stress in rats. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 3, n. 9, p. 670–684, 2014.

KHORSHIDIAN, N.; YOUSEFI, M.; MORTAZAVIAN, A. M. Fermented milk: The most popular probiotic food carrier. **Advances in Food and Nutrition Research**. 1st. ed. [s.l.]: Elsevier Inc., 2020. p. 91–114. DOI 10.1016/bs.afnr.2020.06.007.

KLENIEWSKA, P. *et al.* The influence of probiotic *Lactobacillus casei* in combination with prebiotic inulin on the antioxidant capacity of human plasma. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–10, 2016. DOI <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1340903>.

KUMAR, MANOJ *et al.* Cancer-preventing attributes of probiotics: An update. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 61, n. 5, p. 473–496, 2010. DOI 10.3109/09637480903455971.

KURUTAS, E. B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 71, p. 1–22, 2016. DOI 10.1186/s12937-016-0186-5.

KWAW, E. *et al.* Effect of *Lactobacillus* strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. **Food Chemistry**, v. 250, n. January, p. 148–154, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.01.009.

LAGE, N. N. *et al.* Antioxidant potential of Buriti (*Mauritia flexuosa*) pulp flour in diabetic rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 68, n. 1, p. 59–70, 2018.

LANNEAU, D. *et al.* Heat shock proteins: Essential proteins for apoptosis regulation. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 12, n. 3, p. 743–761, 2008. DOI 10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x.

LEE, M.-W. *et al.* Down-regulated reactive oxygen species by HSP90 in 3HK-induced SKN-SH cell death. **Journal of Thermal Biology**, v. 30, n. 1, p. 43–49, 2005. DOI 10.1016/j.jtherbio.2004.06.005.

LEI, X. G. *et al.* Paradoxical roles of antioxidant enzymes: Basic mechanisms and health implications. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 1, p. 307–364, 2016. DOI 10.1152/physrev.00010.2014.

LEITE, A. V. *et al.* Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba* Vell Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 2277–2283, 2011.

LEMMENS, L. *et al.* Carotenoid bioaccessibility in fruit- and vegetable-based food products as affected by product (micro)structural characteristics and the presence of lipids: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 125–135, 2014. DOI 10.1016/j.tifs.2014.05.005.

LIGUORI, I. *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, v. 13, p. 757–772, 2018. DOI 10.2147/CIA.S158513.

LIM, S. M. Microbiological, physicochemical, and antioxidant properties of plain yogurt and soy yogurt. **Korean Journal of Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 403–414, 2013. DOI 10.7845/kjm.2013.3074.

LIU, Y. *et al.* Fermentation by multiple bacterial strains improves the production of bioactive compounds and antioxidant activity of Goji juice. **Molecules**, v. 24, n. 19, 2019. DOI 10.3390/molecules24193519.

LOBO, V *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118–126, 2010. DOI 10.4103/0973-7847.70902.

LUTGENDORFF, F. *et al.* Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. **Plos One**, v. 4, n. 2, p. 1–13, 2009. DOI 10.1371/journal.pone.0004512.

LUX, P. E. *et al.* Genuine carotenoid profiles in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Navel] peel and pulp at different maturity stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 47, p. 13164–13175, 2019. DOI 10.1021/acs.jafc.9b06098.

M'HIRI, N. *et al.* Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review.

Food Reviews International, v. 33, n. 6, p. 587–619, 2017. DOI 10.1080/87559129.2016.1196489.

MADHU, A. N.; AMRUTHA, N.; PRAPULLA, S. G. Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 4, n. 2, p. 90–97, 2012. DOI 10.1007/s12602-012-9099-6.

MAGLARA, A. A. *et al.* Damage to developing mouse skeletal muscle myotubes in culture: Protective effect of heat shock proteins. **Journal of Physiology**, v. 548, n. 3, p. 837–846, 2003. DOI 10.1113/jphysiol.2002.034520.

MCGOWAN, C.; DONALDSON, W. E. Changes in organ nonprotein sulfhydryl and glutathione concentrations during acute and chronic administration of inorganic lead to chicks. **Biological Trace Element Research**, v. 10, n. 1, p. 37–46, 1986. DOI 10.1007/BF02795317.

MENKOVSKA, M.; TOMOVSKA, J.; GJORGIEVSKI, N. Fermentation of milk with a view of antioxidant activity. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering**, v. 3, n. 7, p. 254–257, 2017. DOI 10.25141/2475-3432-2017-7.0245.

MISHRA, V. *et al.* Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 14, p. 3615–3626, 2015. DOI 10.1021/jf506326t.

MORIFUJI, M. *et al.* Exopolysaccharides from milk fermented by lactic acid bacteria enhance dietary carotenoid bioavailability in humans in a randomized crossover trial and in rats. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 111, n. 4, p. 903–914, 2020. DOI 10.1093/ajcn/nqaa020.

MOURA, C. S. *et al.* Dietary nutrients and bioactive substances modulate heat shock protein (HSP) expression: A review. **Nutrients**, v. 10, n. 683, p. 1–13, 2018. DOI 10.3390/nu10060683.

MOURA, C. S. *et al.* Whey protein hydrolysate enhances HSP90 but does not alter HSP60 and HSP25 in skeletal muscle of rats. **Plos One**, v. 9, n. 1, p. 1–9, 2014. DOI 10.1371/journal.pone.0083437.

MOURA, C. S. *et al.* Assessment of antioxidant activity, lipid profile, general biochemical and immune system responses of Wistar rats fed with dairy dessert containing *Lactobacillus acidophilus* La-5. **Food Research International**, v. 90, p. 275–280, 2016. DOI 10.1016/j.foodres.2016.10.042.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R.; SILVA, F. A.; SILVA, M. R. Physicochemical composition and antioxidants of buriti (*Mauritia flexuosa* Linn. F.) – pulp and sweet. **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 07, p. 1–12, 2020. DOI 10.18067/jbfs.v7i1.279.

OLIVEIRA, S. D. de *et al.* Improvement in physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit by-products fermented with potentially probiotic lactobacilli. **LWT - Food Science and Technology**, v. 134, n. 110200, p. 1–9, 2020. DOI 10.1016/j.lwt.2020.110200.

OLOO, B. O. *et al.* Effects of lactic acid fermentation on the retention of beta-carotene content in orange fleshed sweet potatoes. **International Journal of Food Studies**, v. 3, n. 1, p. 13–33, 2014. DOI 10.7455/ijfs/3.1.2014.a2.

PICARD, D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. **Cellular and molecular life sciences**, v. 59, p. 1640–1648, 2002. DOI 10.1007/PL00012491.

PIHLANTO, A.; VIRTANEN, T.; KORHONEN, H. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk.

International Dairy Journal, v. 20, n. 1, p. 3–10, 2010. DOI 10.1016/j.idairyj.2009.07.003.

PIZZINO, G. *et al.* Oxidative stress: Harms and benefits for human health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–13, 2017. DOI 10.1155/2017/8416763.

PRIYADARSHANI, A. M.B. A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 8, p. 1710–1717, 2017. DOI 10.1080/10408398.2015.1023431.

RAJENDRAN, P. *et al.* Antioxidants and human diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 436, p. 332–347, 2014. DOI 10.1016/j.cca.2014.06.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.004>.

RIBAYA-MERCADO, J. D. *et al.* Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in filipino school-aged children varies inversely with vitamin A status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 72, n. 2, p. 455–465, 2000. DOI 10.1093/ajcn/72.2.455.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides**. Brasília: MMA/SBF, 2008. v. 53.

RODRÍGUEZ, L. G. R. *et al.* Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. **Food Research International**, 2020. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109854.

ROMERO, A. B. R. *et al.* In vitro and in vivo antioxidant activity of Buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.). **Nutricion Hospitalaria**, v. 32, n. 5, p. 2153–2161, 2015. DOI 10.3305/nh.2015.32.5.9603.

ROSENZWEIG, R. *et al.* The Hsp70 chaperone network. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 20, n. 11, p. 665–680, 2019. DOI 10.1038/s41580-019-0133-3.

ROSS, A. C.; HARRISON, E. H. Vitamin A: Nutrition aspects of retinoids and carotenoids. In: ZEMPLÉNI, Janos *et al.* (org.). **Handbook of Vitamins**. 4th. ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 1–39.

RUBASHVILI, I. *et al.* Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 1–14, 2018. DOI 10.29333/ejac/82931.

SACCARO, D. M. *et al.* Evaluation of different selective media for enumeration of probiotic micro-organisms in combination with yogurt starter cultures in fermented milk. **African Journal of Microbiology Research**, v. 5, n. 23, p. 3901–3906, 16 mar. 2011. DOI 10.5897/AJMR-11-117.

SAH, B. N. P. *et al.* Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. **Food Chemistry**, v. 156, p. 264–270, 2014. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.01.105.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, v. 76, p. 735–750, 2015. DOI 10.1016/j.foodres.2015.07.047.

SARANGARAJAN, R. *et al.* Antioxidants: Friend or foe? **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 10, n. 12, p. 1111–1116, 2017. DOI 10.1016/j.apjtm.2017.10.017.

SENF, S. M. Skeletal muscle heat shock protein 70: Diverse functions and therapeutic potential for wasting disorders. **Frontiers in Physiology**, v. 4, p. 1–6, 2013. DOI 10.3389/fphys.2013.00330.

SENONER, T.; DICHTL, W. Oxidative stress in cardiovascular diseases: Still a therapeutic target? **Nutrients**, v. 11, n. 9, p. 1–25, 2019. DOI 10.3390/nu11092090.

SERAFINI, M.; PELUSO, I. Functional foods for health: The interrelated antioxidant and anti-inflammatory role of fruits, vegetables, herbs, spices and cocoa in humans. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 44, p. 6701–6715, 2016. DOI 10.2174/1381612823666161123 094235.

SETTACHAIMONGKON, S. *et al.* Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. **Food Microbiology**, v. 49, p. 104–115, 2015. DOI 10.1016/j.fm.2015.01.011.

SETTACHAIMONGKON, S. *et al.* Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. **Food Microbiology**, v. 59, p. 14–22, 2016. DOI 10.1016/j.fm.2016.04.008.

SILVA-MAIA, J. K. da *et al.* Aqueous extract of berry (*Plinia jaboticaba*) byproduct modulates gut microbiota and maintains the balance on antioxidant defense system in rats. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, p. 1–11, 2019. DOI 10.1111/jfbc.12705.

SKRZYDLEWSKA, E. *et al.* Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. **Phytomedicine**, v. 9, n. 6, p. 232–238, 2002.

SOTLER, R. *et al.* Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. **Acta Clinica Croatica**, v. 58, n. 4, p. 726–736, 2019. DOI 10.20471/acc.2019.58.04.20.

TONOLO, F. *et al.* Milk-derived bioactive peptides exhibit antioxidant activity through the Keap1-Nrf2 signaling pathway. **Journal of Functional Foods**, v. 64, n. 103696, p. 1–8, 2020. DOI 10.1016/j.jff.2019.103696.

TOTI, E. *et al.* Non-provitamin A and provitamin A carotenoids as immunomodulators: Recommended dietary allowance, therapeutic index, or personalized nutrition? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–20, 2018. DOI 10.1155/2018/4637861.

ULLAH, A.; KHAN, A.; KHAN, I. Diabetes mellitus and oxidative stress — A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 547–553, 2016. DOI 10.1016/j.jsps.2015.03.013.

WANG, Y. *et al.* Antioxidant properties of probiotic bacteria. **Nutrients**, v. 9, n. 521, p. 1–15, 2017. DOI 10.3390/nu9050521.

WCRF/AICR. **World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective**. [s.l.: s.n.], 2018. Disponível em: <http://gco.iarc.fr/today%0Adietandcancerreport.org>.

WCRF/AICR. **World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective**. Washington: DC: AICR, 2007.

WHO/FAO. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: WHO Press, World Health Organization, 2006.

WHO. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005**. Geneva: World Health Organization, 2009.

WINTERBOURN, C. C. *et al.* The estimation of red cell superoxide dismutase activity. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 85, n. 2, p. 337–341, 1975.

XAVIER, A. A. O. *et al.* Fat content affects bioaccessibility and efficiency of enzymatic hydrolysis of lutein esters added to milk and yogurt. **Food Research International**, v. 65, p. 171–176, 2014. DOI 10.1016/j.foodres.2014.06.016.

ZHANG, J. *et al.* ROS and ROS-Mediated cellular signaling. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1–18, 2016. DOI 10.1155/2016/4350965.

8 FIGURAS

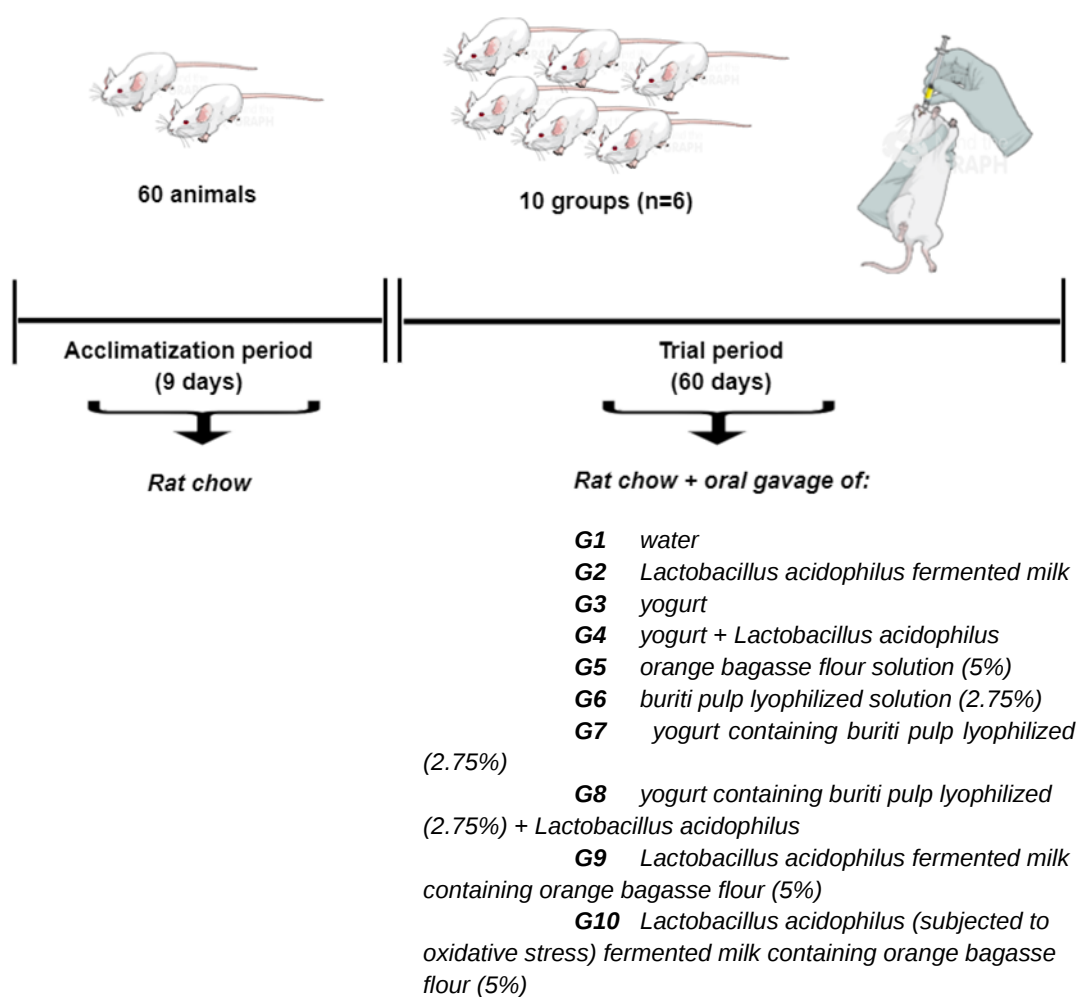


Figure 1: Illustrative representation of *in vivo* experiment, describing groups and diets.
 Source: <https://mindthegraph.com/workspace/user-creations/198752>.

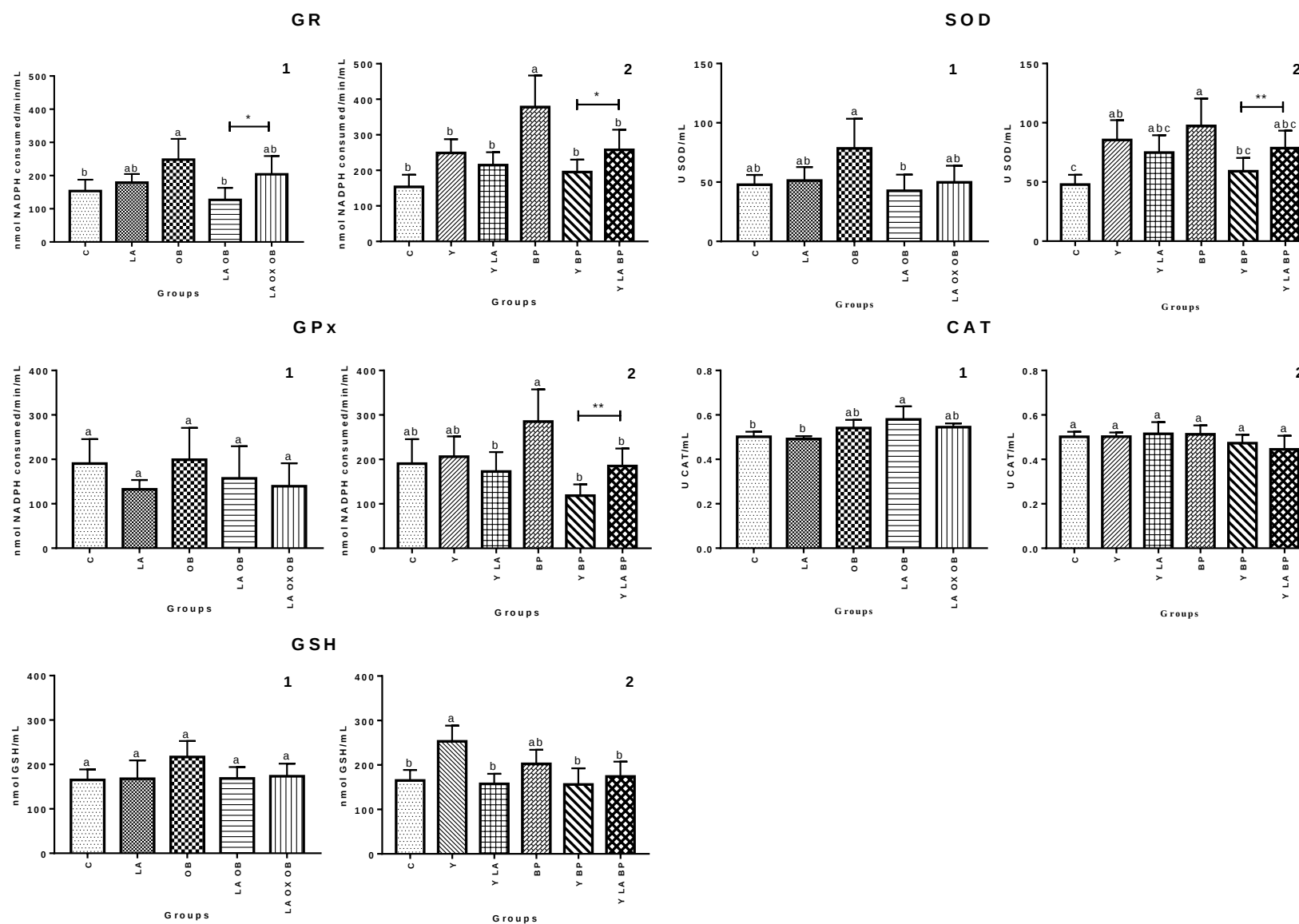


Figure 2: Serum antioxidant status of groups fed with fermented milk (1) or yogurt (2) formulations and their respective controls. Data are presented in mean and SD (N min. of 4 replicates). Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. ** Indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. * Indicate statistically significant difference at $p < 0.1$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

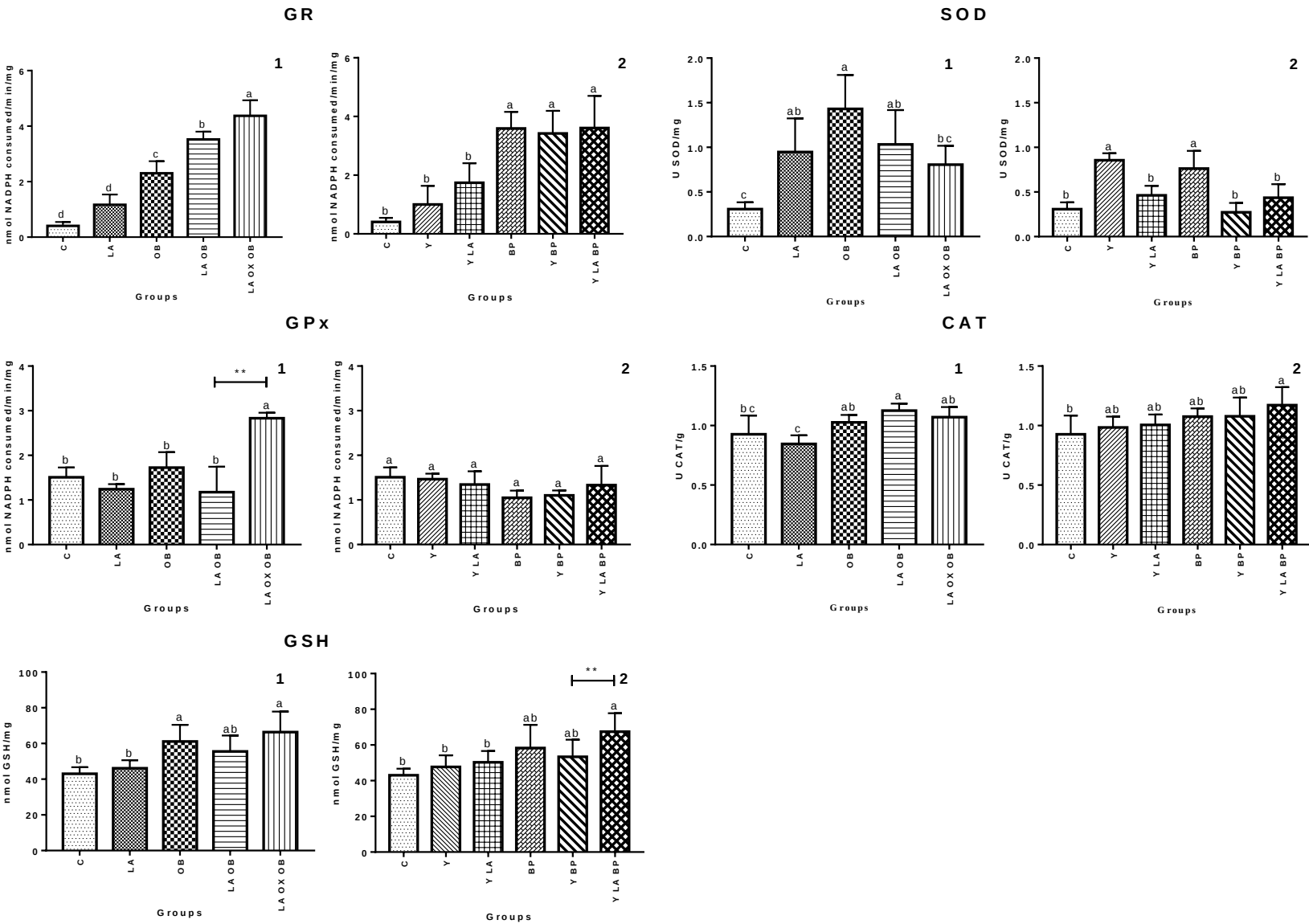
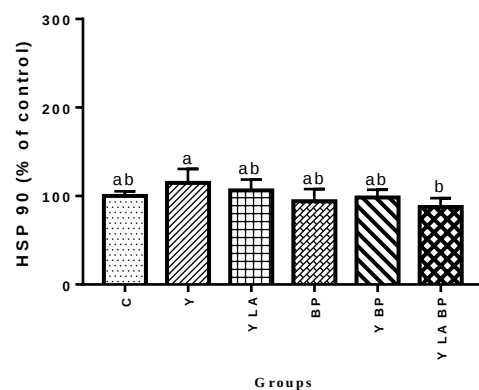
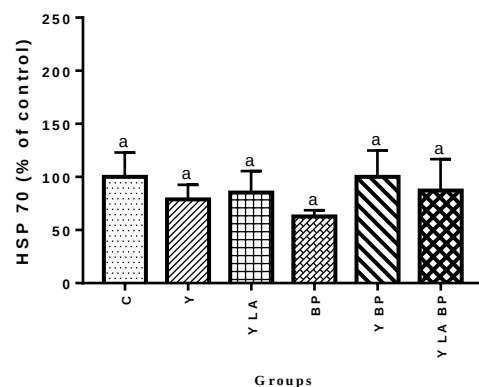
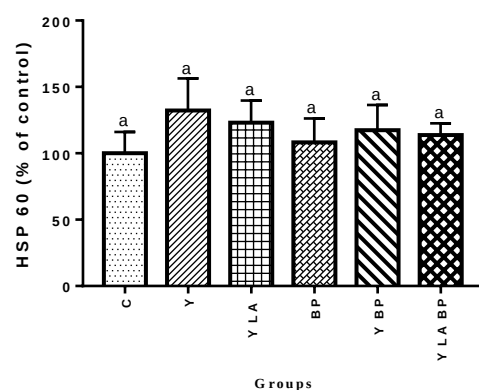
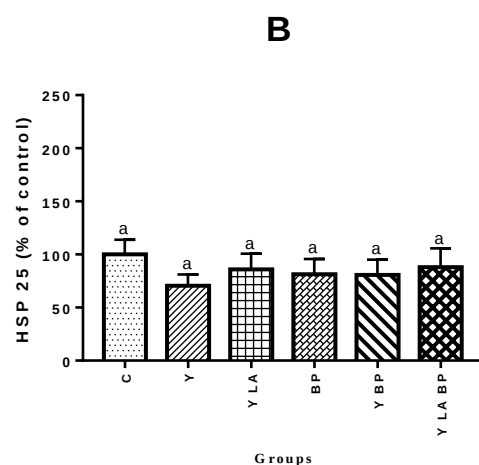
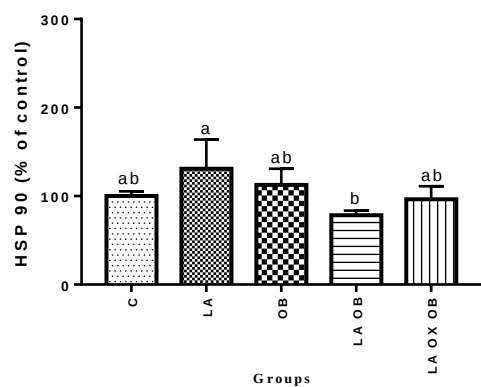
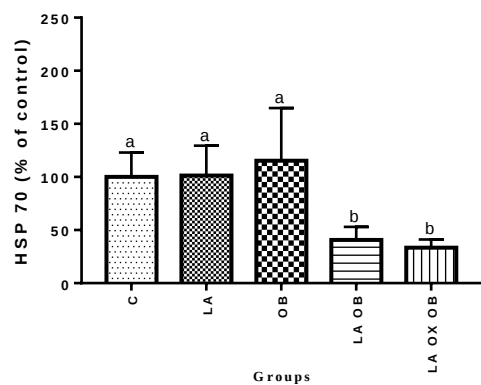
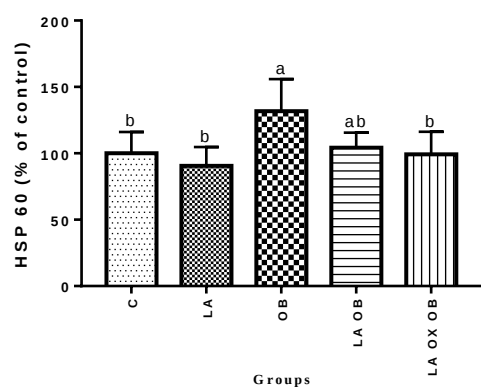
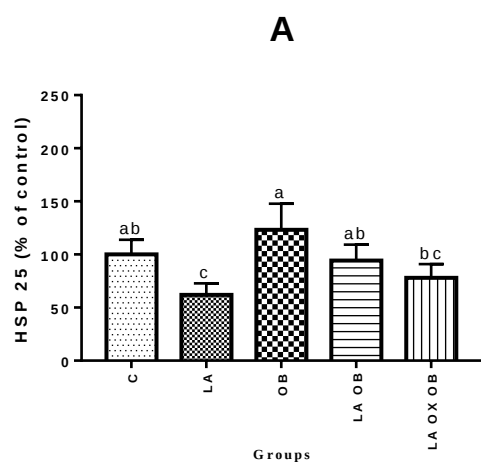


Figure 3: Liver antioxidant status of groups fed with fermented milk (1) or yogurt (2) formulations and their respective controls. Data are presented in mean and SD (N min. of 4 replicates). Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. ** Indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.



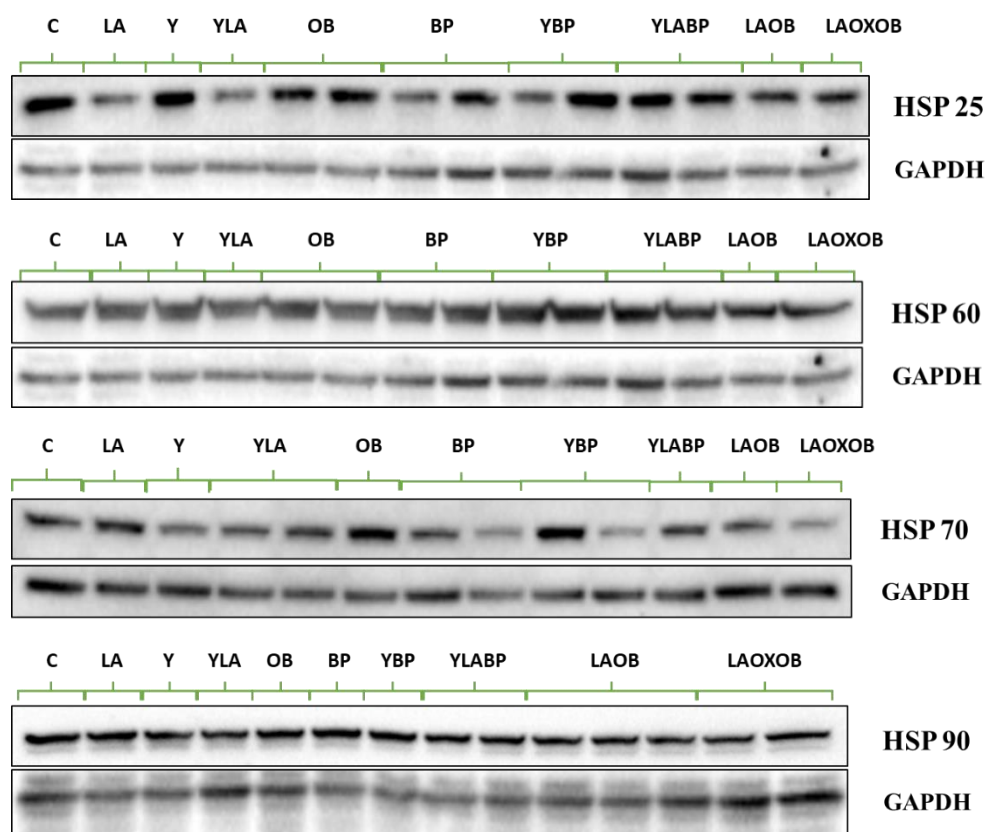
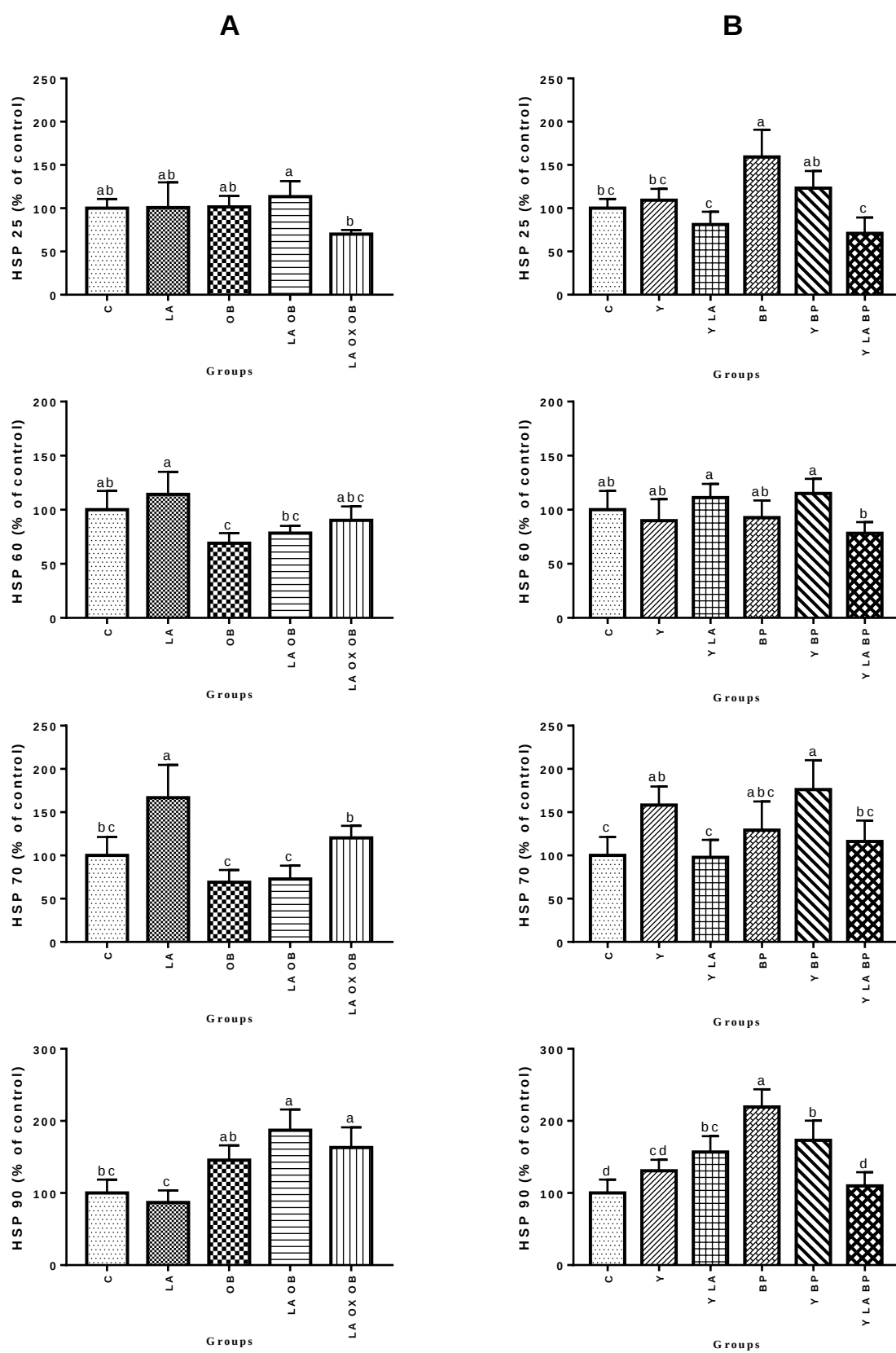


Figure 4: Expression of HSP 25, 60, 70 and 90 in liver homogenates after fermented milk (A) and yogurt (B) consumption. Western blot signals (C) were quantified, normalized to an internal standard (Gapdh) and the results expressed as percentage of control (100 %). Data are presented in mean and SE (N min. of 4 replicates). Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.



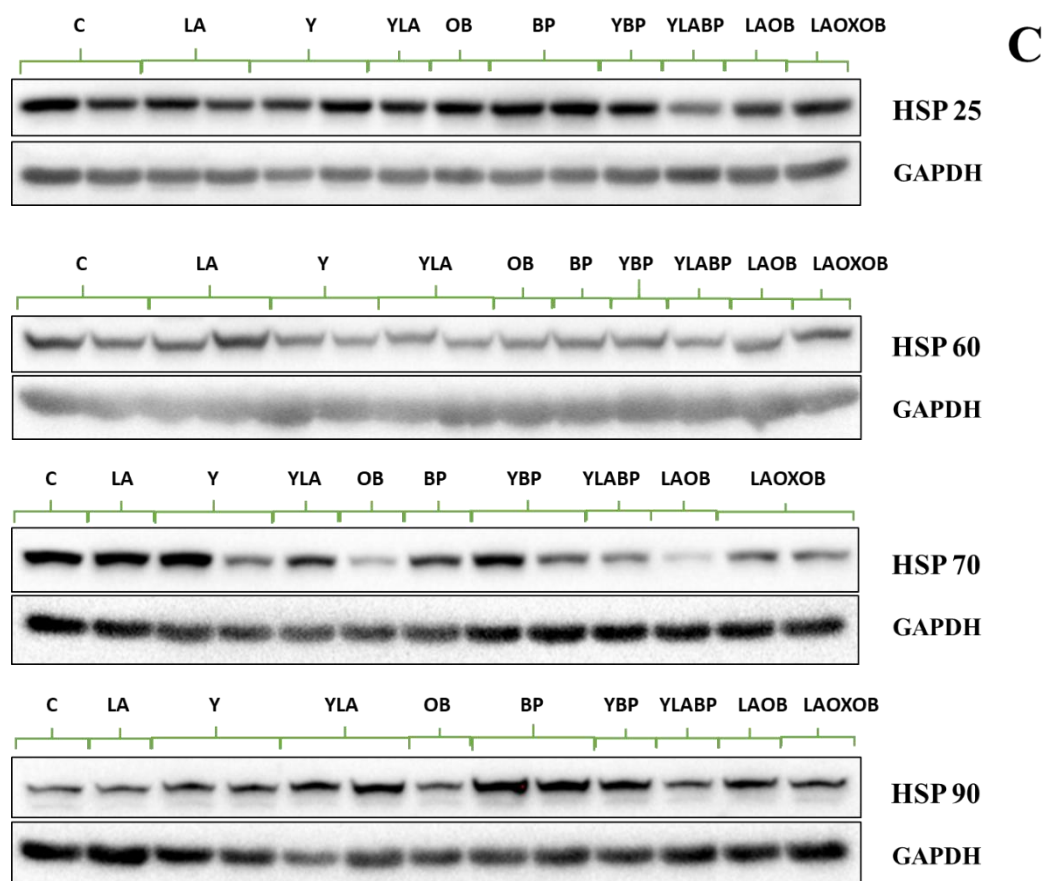


Figure 5: Expression of HSP 25, 60, 70 and 90 in gastrocnemius muscle homogenates after fermented milk (A) and yogurt (B) consumption. Western blot signals (C) were quantified, normalized to an internal standard (Gapdh) and the results expressed as percentage of control (100 %). Data are presented in mean and SE (N min. of 4 replicates). Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

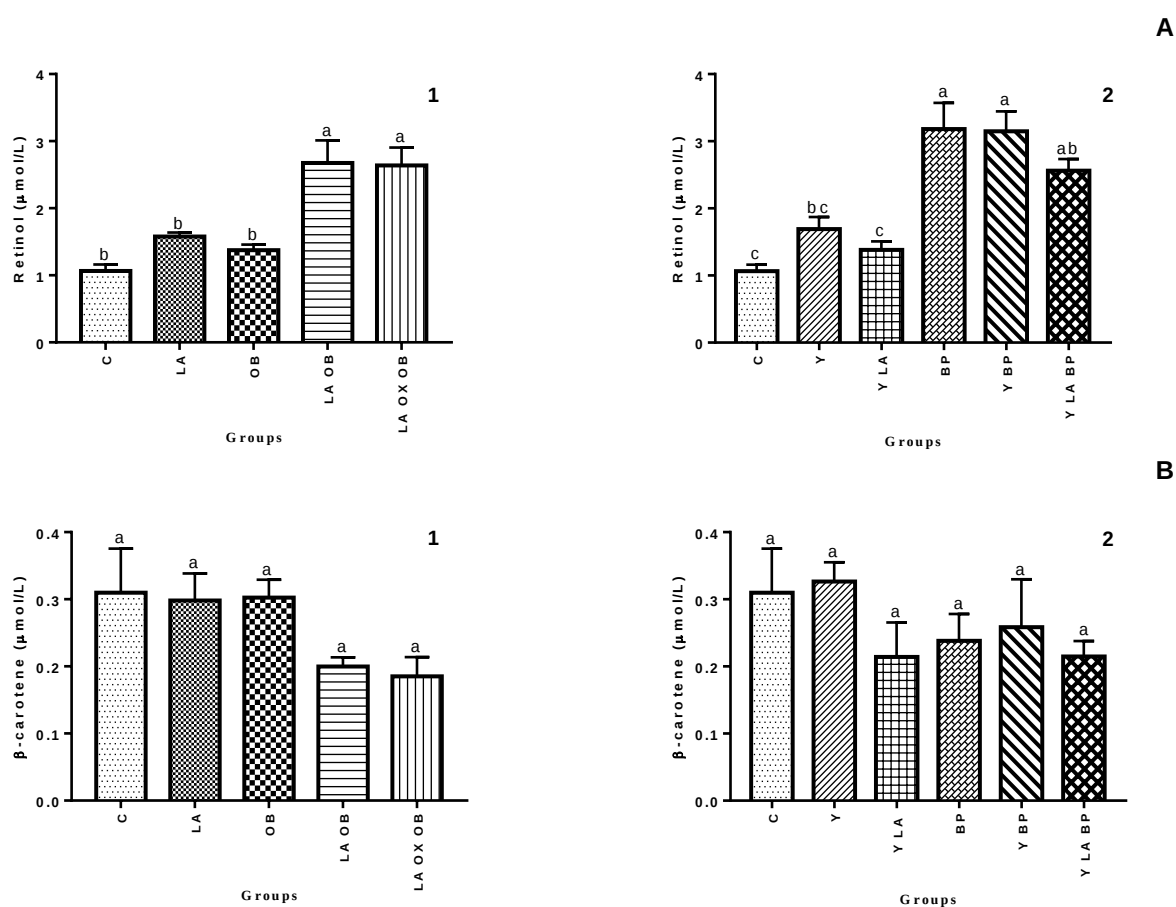


Figure 6: Retinol (**A**) and β -carotene (**B**) in serum after consumption of fermented milk (**1**), yogurt (**2**) and their respective controls. Data are presented in mean and SE (N min. of 5 replicates). Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

9 TABELAS

Table 1: Body weight gain, food intake and food efficiency experimental period.

Groups	Initial weight (g)	Final weight (g)	Body weight gain (g)	Food Intake (g)	Food Efficiency (%)**
C	116.0 ± 15.8 ^a	445.0 ± 52.5 ^a	329.0 ± 42.7 ^a	1537.8 ± 115.2 ^a	0.21 ± 0.01 ^{abc}
LA	119.2 ± 14.2 ^a	459.6 ± 21.5 ^a	340.3 ± 21.5 ^a	1565.3 ± 092.7 ^a	0.22 ± 0.01 ^{abc}
Y	118.6 ± 9.9 ^a	474.9 ± 25.5 ^a	356.3 ± 24.7 ^a	1501.2 ± 134.2 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
YLA	118.8 ± 9.1 ^a	481.0 ± 41.2 ^a	362.2 ± 46.4 ^a	1558.2 ± 091.7 ^a	0.23 ± 0.02 ^{ab}
OB	117.6 ± 11.8 ^a	441.8 ± 28.3 ^a	327.6 ± 28.4 ^a	1536.9 ± 064.1 ^a	0.21 ± 0.02 ^{abc}
BP	123.8 ± 12.9 ^a	444.3 ± 26.6 ^a	320.5 ± 30.1 ^a	1533.0 ± 049.5 ^a	0.21 ± 0.02 ^{bc}
YBP	123.1 ± 18.1 ^a	454.6 ± 39.1 ^a	331.5 ± 38.6 ^a	1546.6 ± 140.3 ^a	0.21 ± 0.01 ^{abc}
YLABP	125.8 ± 13.5 ^a	466.0 ± 18.3 ^a	340.2 ± 22.5 ^a	1622.9 ± 106.3 ^a	0.21 ± 0.02 ^{abc}
LAOB	125.8 ± 13.9 ^a	439.6 ± 21.9 ^a	313.8 ± 19.5 ^a	1534.2 ± 107.4 ^a	0.20 ± 0.01 ^{bc}
LAOXOB	125.4 ± 12.7 ^a	448.9 ± 36.5 ^a	323.5 ± 28.7 ^a	1598.3 ± 117.0 ^a	0.20 ± 0.01 ^c

** Food efficiency = weight gain/food intake (g).

Different letters in the same row indicate statistically significant difference at $p < 0.05$.

Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

Table 2: Tissue weights in rats.

Groups	Heart (g)*	Soleus muscle (g)*	Liver (g)*	Diaphragm (g)*
C	1.19 ± 0.10 ^a	0.14 ± 0.02 ^a	16.08 ± 2.17 ^{ab}	0.93 ± 0.13 ^a
LA	1.30 ± 0.12 ^a	0.14 ± 0.02 ^a	18.09 ± 1.53 ^{ab}	0.94 ± 0.09 ^a
Y	1.25 ± 0.10 ^a	0.16 ± 0.01 ^a	18.91 ± 1.84 ^a	0.87 ± 0.07 ^{ab}
Y LA	1.25 ± 0.09 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	18.49 ± 2.41 ^{ab}	0.83 ± 0.10 ^{ab}
OB	1.19 ± 0.06 ^a	0.13 ± 0.02 ^a	15.50 ± 1.75 ^b	0.68 ± 0.15 ^b
BP	1.26 ± 0.11 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	16.80 ± 1.41 ^{ab}	0.88 ± 0.14 ^{ab}
Y BP	1.23 ± 0.06 ^a	0.14 ± 0.02 ^a	16.64 ± 1.56 ^{ab}	0.95 ± 0.15 ^a
Y LA BP	1.25 ± 0.08 ^a	0.15 ± 0.01 ^a	16.81 ± 1.06 ^{ab}	0.92 ± 0.11 ^{ab}
LA OB	1.16 ± 0.06 ^a	0.15 ± 0.02 ^a	15.55 ± 1.35 ^{ab}	0.94 ± 0.08 ^a
LAOXOB	1.26 ± 0.12 ^a	0.16 ± 0.02 ^a	16.84 ± 2.00 ^{ab}	0.99 ± 0.09 ^a

* Mean ± SD. Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

10 DADOS SUPLEMENTARES

Table 1: Viable cells counts of *Lactobacillus acidophilus* (log₁₀CFU/mL) on shelf life of yogurts and fermented milks.

Product name	Period (days)			
	0	7	14	21
LA	8.36 ± 0.06 ^a	8.37 ± 0.11 ^a	8.13 ± 0.04 ^a	8.24 ± 0.17 ^a
LA OB	8.52 ± 0.18 ^a	8.37 ± 0.03 ^a	8.32 ± 0.21 ^a	8.34 ± 0.20 ^a
LA OX OB	8.44 ± 0.02 ^a	8.23 ± 0.03 ^b	8.26 ± 0.10 ^b	8.33 ± 0.05 ^{ab}
Y LA	7.56 ± 0.13 ^a	7.68 ± 0.07 ^a	7.65 ± 0.04 ^a	7.66 ± 0.08 ^a
Y LA BP	7.89 ± 0.12 ^a	7.84 ± 0.07 ^a	7.76 ± 0.05 ^a	7.89 ± 0.04 ^a

Different letters in the same row indicate statistically significant difference at p < 0.05.

Abbreviation's: LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt.

CAPÍTULO 4: Impacto do consumo de polpa de buriti, bagaço de laranja e produtos lácteos fermentados derivados na composição da comunidade bacteriana fecal e saúde óssea de ratos Wistar saudáveis.

Impacto do consumo de polpa de buriti, bagaço de laranja e produtos lácteos fermentados derivados na composição da comunidade bacteriana fecal e saúde óssea de ratos Wistar saudáveis

Juliana Silva da Graça^a, Lucas Daniel de Souza Sachinelli^b, Natália Tobar^b, Dioze Guadagnini^c, Lucélia Cabral^d, Melline Fontes Noronha^e, Luiz Lehmann Coutinho^f, Cíntia Baú Betim Cazarin^g, Stanislaw Bogusz Junior^h, William Dias Belangeroⁱ, Sergio Querino Brunetto^b, Mario J. A. Saad^c, Anderson de Souza Sant'Ana^a

^a Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^b Departamento de Radiologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^c Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^d Instituto de Biociências, Departamento de Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, Brasil

^e Research Informatics Core, Research Resource Center, University of Illinois at Chicago, Chicago, IL, USA

^f Departamento de Zootecnia, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil

^g Departamento de Alimentos e Nutrição, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil

^h Instituto de Química de São Carlos (IQSC), Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, Brasil

ⁱ Laboratório de Biomateriais em Ortopedia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas, Campinas, SP, Brasil

*Autor correspondente: Prof. Anderson de Souza Sant'Ana: and@unicamp.br

Rua Monteiro Lobato, 80. Cidade Universitária Zeferino Vaz. CEP: 13083-862. Campinas, SP, Brasil.

RESUMO

O consumo de frutas e produtos lácteos fermentados contendo probióticos são comumente associados à diversos benefícios à saúde, podendo contribuir com a melhora da saúde óssea e intestinal e, prevenir o aparecimento de doenças. Nesse sentido, o reaproveitamento de resíduos provenientes de frutas têm sido cada vez mais estudado e associado com a presença de compostos bioativos e nutrientes importantes para a alimentação humana. Desta maneira, o objetivo deste estudo foi avaliar o impacto do consumo de polpa de buriti, bagaço de laranja e produtos lácteos fermentados probióticos (*L. acidophilus*) acrescidos destas duas matrizes nos parâmetros relacionados à saúde óssea e intestinal de animais em crescimento. Ratos Wistar machos (n=6) foram alimentados com diferentes dietas suplementadas durante 60 dias. A quantificação de Ca, P e Mg nos produtos avaliados e fêmures foi realizada por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma (ICP-OES). Os parâmetros biomecânicos e densitométricos foram avaliados, respectivamente, pelo Ensaio de Flexão em três pontos e por Densitometria por Emissão de Raios X de Dupla Energia (DXA). A composição da microbiota fecal foi avaliada através da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA, enquanto que o conteúdo de AGCC foi determinado por Cromatografia Gasosa acoplada ao Detector de Ionização por Chama (CG-FID). Já a permeabilidade da barreira intestinal foi avaliada indiretamente pela quantificação sérica de LPS. No geral, os resultados demonstraram que o consumo de bagaço de laranja, polpa de buriti e produtos fermentados derivados podem influenciar na composição da comunidade bacteriana fecal, principalmente em gêneros ou famílias como *Lactobacillus*, *Lachnospiraceae* NK4A136 group e *Muribaculaceae*. E, que em alguns casos podem aumentar a produção de AGCC e melhorar a permeabilidade da barreira intestinal (reduzindo os níveis séricos de LPS).

Além disso, o consumo de polpa de buriti aumentou a força óssea e rigidez dos fêmures avaliados enquanto que o consumo de bagaço de laranja aumentou o conteúdo mineral de Mg e os valores séricos de Ca. Assim, concluímos que o consumo de frutas, subprodutos de frutas e produtos lácteos fermentados probióticos derivados podem impactar positivamente na saúde óssea e intestinal de animais em crescimento.

Palavras-chave: comunidade bacteriana fecal, minerais, iogurtes, leites fermentados, alimentos fortificados.

1 INTRODUÇÃO

Produtos lácteos como iogurtes e leites fermentados são reconhecidos como uma das principais fontes de nutrientes importantes para a saúde óssea como cálcio, fósforo e proteínas, sendo também matrizes comumente associadas por veicularem micro-organismos benéficos como probióticos (GRANATO *et al.*, 2010; OLIVEIRA, 2014; RIZZOLI, 2014; RIZZOLI; BIVER, 2017; ROZENBERG *et al.*, 2016). Os probióticos são “micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (HILL *et al.*, 2014). O consumo destes micro-organismos é conhecido por se relacionar a benefícios como a modulação do sistema imune e composição da microbiota intestinal (AZAD *et al.*, 2018; GALDEANO *et al.*, 2019), redução de níveis séricos de colesterol (SIVAMARUTHI; KESIKA; CHAIYASUT, 2019), prevenção/proteção contra doenças como o câncer e osteoporose (COLLINS *et al.*, 2018; GÓRSKA *et al.*, 2019), entre outros.

A microbiota intestinal é caracterizada como um fator de grande influência para a saúde pois relaciona-se à diversos processos importantes para o funcionamento do corpo humano, possuindo importante papel no desenvolvimento de processos metabólicos, fisiológicos e imunológicos do hospedeiro (GERRITSEN *et al.*, 2011; NICHOLSON *et al.*, 2012). É conhecido que diversos componentes presentes na alimentação humana podem ser responsáveis por modular a composição da microbiota intestinal levando à melhora de doenças relacionadas com a disbiose intestinal como a obesidade, diabetes, síndrome do intestino irritável (IBS), doença inflamatória intestinal, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (AHMADI *et al.*, 2017; CARDING *et al.*, 2015; DEGRUTTOLA *et al.*, 2016; NOCE *et al.*, 2019; RINNINELLA *et al.*, 2019; WAN *et al.*, 2019). Dentre os componentes presentes na dieta que possuem esta capacidade podem ser mencionados fibras, carboidratos não digeríveis (prebióticos), polifenóis, probióticos e simbióticos (SHTRIKER *et al.*, 2018; THIENNIMITR *et al.*, 2018; WAN *et al.*, 2019). Além disso, estudos relacionando a composição da microbiota intestinal com a saúde óssea e o desenvolvimento de doenças como a osteoporose tem sido cada vez mais relatados pela literatura (LI *et al.*, 2019; XU *et al.*, 2017).

A osteoporose é um problema de saúde relacionado ao envelhecimento humano, caracterizado pela redução de massa óssea, deterioração da microestrutura do tecido ósseo e aumento da suscetibilidade à fratura, que chega a atingir 200 milhões de pessoas no mundo (BRONDANI *et al.*, 2019; KANIS *et al.*, 2013; RACHNER; KHOSLA; HOFBAUER, 2011; RIZZOLI, 2018). Dentre as formas de prevenção desta doença e de suas consequências é conhecido que hábitos alimentares saudáveis como o consumo de quantidades adequadas de minerais (como cálcio, fósforo e magnésio), proteínas e vitaminas (como a D) são fatores

importantes na manutenção e melhoria da saúde óssea (ARJMANDI; JOHNSON, 2015; RIZZOLI, 2018). Além disso, diversos estudos têm relatado que o consumo de frutas e vegetais tem sido relacionados com efeitos protetores de melhora na saúde óssea e com a redução do risco de fraturas (ARJMANDI; JOHNSON, 2015; BERG; SEYEDSADJADI; GRANT, 2020; BRONDANI *et al.*, 2019).

O reaproveitamento de resíduos provenientes de frutas tem ganho grande importância devido a composição nutricional destes alimentos, principalmente pela presença de macro/micronutrientes e compostos funcionais e bioativos como prebióticos e polifenóis já conhecidos por sua capacidade de impactar na modulação da microbiota intestinal (BATISTA *et al.*, 2018; BIANCHI *et al.*, 2018; CASAROTTI *et al.*, 2020; UNNO; HISADA; TAKAHASHI, 2015). É conhecido que resíduos cítricos como o bagaço de laranja apresentam elevadas concentrações de minerais como Ca, Fe e Mg, além de grande quantidade de fibras solúveis e insolúveis, compostos fenólicos e carotenoides (PACHECO; MORENO; VILLAMIEL, 2019; SILVA; REBELLATO; *et al.*, 2017b). A polpa de buriti também é caracterizada por possuir quantidade considerável de minerais como K, Ca e Mg, além de apresentar alta concentração de lipídeos e fibras totais e solúveis quando comparadas com outras frutas da mesma região (Cerrado) (CÂNDIDO; SILVA, 2017; SCHIASSI *et al.*, 2018). Além disso, um estudo recentemente relatou que a digestão simulada (*in vitro*) de leites fermentados por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja aumentou a bioacessibilidade de minerais como o cálcio em relação aos mesmos produtos contendo a cepa probiótica padrão (GRAÇA; SILVA; *et al.*, 2021). Desta maneira, o objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto do consumo de frutas (buriti), subproduto de frutas (bagaço de laranja) e produtos lácteos fermentados probióticos (contendo *L. acidophilus* padrão ou submetido ao estresse

oxidativo) fortificados por estas duas matrizes nos parâmetros relacionados à saúde óssea e intestinal de animais em crescimento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e dieta

Sessenta ratos machos (Wistar, 21 dias de vida, livre de patógenos) foram submetidos à experimentação animal seguindo as diretrizes éticas recomendadas e aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (protocolo #5131-1/2019, CEUA, UNICAMP, Brasil). Os ratos utilizados neste estudo são os mesmos citados no estudo anterior, publicado pelo nosso grupo de pesquisa (GRAÇA; CASTRO; *et al.*, 2021). Após 9 dias em período de aclimatação, os animais alojados em gaiolas individuais foram divididos em 10 diferentes grupos (N=6): controle (C); leite fermentado por *L. acidophilus* (LA); iogurte (Y); iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA); solução contendo 5% de bagaço de laranja (OB); solução contendo 2,75% de polpa de buriti (BP); iogurte contendo 2,75% de polpa de buriti (YBP); iogurte contendo *L. acidophilus* e 2,75% de polpa de buriti (YLABP); leite fermentado por *L. acidophilus* contendo 5% de bagaço de laranja (LAOB); e, leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo 5% de bagaço de laranja (LAOXOB). É importante ressaltar que os animais foram mantidos em condições controladas (22 ± 2 °C, 50 a 60 % de umidade relativa do ar, ciclo claro escuro de 12/12h) e que as soluções descritas nos grupos foram produzidas utilizando água filtrada estéril e as concentrações mencionadas de polpa de buriti liofilizada e farinha de bagaço de laranja. Durante o período experimental de 60 dias, os animais tiveram livre acesso a água e dieta comercial (Nuvilab®, Quimtia, Canguiri, Brasil) e foram gavados uma vez por dia com 3 mL de água (grupo controle) ou dos produtos citados. O consumo da

dieta foi monitorado 3 vezes por semana e os ratos foram pesados 1 vez por semana para acompanhamento do ganho de peso. Após o período experimental, os animais foram eutanasiados por exsanguinação por punção cardíaca pós anestesia (300 mg/kg quetamina e 30 mg/kg xilazina).

2.2 Iogurtes e leites fermentados

Os iogurtes e leites fermentados produzidos utilizaram a cultura *starter* liofilizada YF-L812 e a cultura probiótica *L. acidophilus* DSM 13241 (Nu-trish® LA-5®) (Chr. Hansen, Hoersholm, Dinamarca). A fabricação e utilização destes produtos é descrita em detalhes por Graça e colaboradores (2020 a, b).

2.3 Amostras biológicas

Durante o ensaio *in vivo* foram realizadas duas coletas de fezes após 30 e 60 dias do consumo da dieta experimental. As fezes do cólon e do ceco (após eutanásia) foram coletadas em ambiente limpo (previamente higienizado), armazenadas em tubos de polipropileno de 5 mL estéreis, congeladas imediatamente em nitrogênio líquido e armazenadas à - 80 °C. Após a eutanásia dos animais, amostras de sangue foram coletadas (tubos Vacuette® 455071, Greiner Bio-One, Kremsmünster, Áustria) para obtenção do soro. O soro foi obtido após centrifugação do sangue à 2000 g por 15 min., sendo separado em microtubos de polipropileno e armazenado à - 80 °C. Os fêmures direito e esquerdo foram removidos e limpos de todo tipo de tecido mole e armazenados à - 80 °C até a sua utilização.

2.4 Minerais

O conteúdo de cálcio no soro foi determinado pelo kit Cálcio Liquiform 90 (Labtest Diagnóstica S.A., Lagoa Santa, MG, Brasil). A determinação dos minerais cálcio, magnésio e fósforo em amostras da dieta (dados suplementares) e fêmur foi realizada pela técnica ICP OES. O equipamento utilizado foi um iCAP 7000 (Thermo Fisher Scientific, EUA). Os parâmetros instrumentais definidos para as medições foram: a) potência da radiofrequência: 1,15 kW; b) fluxo de gás do plasma (Ar): 12,0 L/min; c) fluxo de gás auxiliar (Ar): 0,5 L/min; d) fluxo de gás nebulizador (Ar): 0,70 L/min. As linhas emissão utilizadas para cada elemento foram: a) Ca = 422,673 nm (visão Radial); Mg = 280,270 (visão Radial); P = 177,495 (visão Axial).

Para a realização das análises, as amostras de iogurte e leite fermentado foram liofilizadas (Enterprise, Terroni, Brasil). Os fêmures direitos foram retirados do freezer, limpos de qualquer presença de tecido mole com o auxílio de um alicate e imediatamente colocadas em um saco plástico e trituradas com o auxílio de um martelo. Em seguida as amostras de ração, fêmures, iogurtes e leites fermentados previamente preparadas foram digeridas em um sistema de digestão assistido por radiação micro-ondas equipado com tubos de politetrafluoretileno (modelo Mars Xpress, CEM, Estados Unidos) e diluídas para volume final de 50 mL com água ultrapura. A digestão ocorreu em 50 mg (ração, iogurtes e leites fermentados) ou massa total (fêmures) utilizando 5 mL de HNO₃, 5 mL de água ultra-pura e 2 mL de H₂O₂ em uma potência de 1600 W à 150 °C por 30 min. Durante a análise foram realizados 1, 3 e 5 brancos analíticos para as amostras de ração, iogurtes/leites fermentados e fêmures, respectivamente. É importante ressaltar que toda a massa disponível de cada um dos fêmures analisados foi digerida. Em média, cada fêmur apresentou uma massa de aproximadamente 1,10 g.

A ingestão diária dos minerais Ca, Mg e P foram calculadas considerando o consumo da dieta comercial + suplementação ministrada através dos produtos adicionados à dieta padrão (item 2.1) (equação 1). A quantidade diária média de ração foi calculada (total feed intake/60 days of experimental period) e a quantidade da suplementação ministrada através da gavagem dos produtos foi de 3 g (item 2.1).

$$\text{Daily mineral intake (mg)} = (MRF \times DI1) + (MGP \times DI2) \quad \text{Equação 1}$$

Where: *MRF* = Mineral content in commercial rat feed (mg/kg) (supplementary data); *MGP* = Mineral content in oral gavage products (food supplementation) (mg/kg) (supplementary data); *DI1* = average daily feed rats intake per group (supplementary data); *DI2* = daily oral gavage products intake (fixed value of 0,003 kg).

2.5 Densitometria óssea

O conteúdo mineral ósseo (bone mineral content, BMC) e densidade mineral óssea (bone mineral density, BMD) foram determinados através da análise dos fêmures direito dos animais por microtomografia de raio-x utilizando o equipamento Hologic Discovery Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA) (Hologic Inc., Waltham, MA, USA). Este equipamento tem como base mensurar a diferença de atenuação entre dois feixes de radiação de 100 kV e 140 kV após a pesagem dos tecidos. Primeiramente, os fêmures foram individualmente submersos e imobilizadas em gel de poliacrilamida a 6,5% (3,32 mL de água destilada; 1,8 mL de glicerol; 2,8 mL de acrilamida a 40%; 25 µL de TEMED e 9 mL de tampão resolving - EDTA 4 mM; SDS 2%; Trisma base 750 mM; água deionizada; e, pH ajustado para 8,9 com HCl) em tubos falcon de 50 mL. Após esta etapa, as amostras foram submetidas a leitura

utilizando um protocolo de alta definição para pequenos animais (software QDR). Antes de todas as medidas analisadas, foram realizados testes de controle de qualidade para verificar se o equipamento estava em condições normais de operação. Além disso, foram também obtidos os valores de HU utilizando um VOI (Volume Of Interest), no qual variava-se os valores de threshold até que visualmente todo o fêmur fosse ajustado e que nenhuma região fora da região de interesse fosse considerada. Desta medida, obtivemos os valores de volume. Com o auxílio de uma ferramenta para medir a distância na imagem de tomografia, o comprimento da diáfise, metáfise proximal e metáfise distal foi medido.

2.6 Propriedades biomecânicas

Os fêmures esquerdos dos ratos foram submetidos ao ensaio de flexão em três pontos para determinação de propriedades mecânicas de suas regiões diafisárias médias. Os ensaios foram executados em uma máquina universal de ensaios EMIC DL-3000 (INSTRON, São José dos Pinhais-PR, Brasil) com utilização de uma célula de carga de 500 N e de um dispositivo especial de ajuste milimétrico para aplicação de carga e apoio dos ossos. Os fêmures foram armazenados a -20°C (no mínimo 24 h antes da análise) e posteriormente descongelados para a realização deste ensaio, executado a temperatura ambiente. A carga foi aplicada verticalmente no centro do fêmur, perpendicularmente ao seu eixo longitudinal (figura 1), a uma velocidade de deformação de 5,0 mm/min. A distância entre os dois pontos de apoio foi de 12 mm. Durante os ensaios, curvas de força (N) x deslocamento do ponto de aplicação de carga (mm) foram geradas em tempo real pelo software TESC 3.04 a uma taxa de amostragem de 60 Hz e salvas para posterior processamento. A partir dessas curvas obteve-se a força máxima (N) necessária para romper o osso, a rigidez

aparente do osso (N/mm), calculada isolando-se a região linear das curvas e determinando-se a sua inclinação e a energia absorvida até a ruptura (mJ), obtida a partir da área sob a curva. A partir da rigidez aparente e das dimensões da seção transversal do fêmur na região central, medidas após a ruptura, calculou-se o módulo de elasticidade de cada amostra.

2.7 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Os ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) foram determinados em fezes do ceco. As amostras, coletadas imediatamente após a eutanásia dos animais, foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a sua utilização. A extração e análise destes compostos seguiu conforme o descrito por Zhao, Nyman, & Jonsson (2006), com modificações. Os ácidos graxos foram extraídos a partir de 300 mg de fezes ressuspensas em 1400 μL de água miliQ e homogeneizadas por 3 min. em vórtex. O pH desta solução foi ajustado para 2-3 com HCL (3 M). As amostras foram então centrifugadas a 981 g por 30 min. e 1000 μL do sobrenadante foi transferido para vials 1,5 mL acrescidos de 3,17 mM do padrão interno (2-etilbutírico). Em seguida, com o auxílio do auto-injetor Shimadzu Ai20, 1 μL de cada amostra foi injetado no cromatógrafo acoplado ao detector de ionização por chama GC-FID Shimadzu GC-2010, dotado de uma coluna capilar de sílica fundida Nukol™ (30 m $\times$ 0,25 mm i.d. $\times$ 0,25 μm , Superlco, Bellefonte, PA, USA). As condições cromatográficas utilizadas foram: temperatura do detector e injetor à $200\text{ }^{\circ}\text{C}$; volume de injeção de 1 μL com taxa de divisão de 1:5; gás de arraste hélio, utilizado em fluxo de 1,0 mL/min. A programação de temperatura da coluna foi iniciada a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ seguida de aquecimento a $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$. até $190\text{ }^{\circ}\text{C}$ permanecendo por 3,25 min.

A identificação dos analitos foi realizada pela co-injeção de padrões autênticos. Todas as análises cromatográficas foram realizadas em triplicata.

A quantificação da área dos analitos de interesse, expressas em termos de concentração, foi realizada pelo método do padrão interno conforme descrito por Zhao, Nyman, & Jonsson (2006). Para isso, foi utilizado o fator de resposta relativo do detector (RRF), que foi calculado usando a equação 2:

$$RRF = AA - 1 / AIS - 1 \quad \textbf{Equação 2}$$

Onde: AA – 1 e AIS-1 representam a área de pico de 1,0 mM de cada SCFA e do padrão interno, respectivamente. Com base no RRF, na concentração do padrão interno (CIS, mM), na área do pico de cada SCFA (AA) e na área do pico do padrão interno (AIS), a concentração de SCFA (Mm) foi calculada usando a equação 3:

$$CA = (AA \times CIS) / (RRF \times AIS) \quad \textbf{Equação 3}$$

Embora os analitos tenham sido quantificados pelo método do padrão interno, foram também avaliadas as seguintes figuras de mérito para o método: linearidade, limite de detecção e limite de quantificação (dados suplementares). Estes parâmetros de validação foram avaliados com a única finalidade de demonstrar que não se estava quantificando acima do limite de detecção do método. A validação destes parâmetros foi realizada segundo as recomendações da ANVISA conforme com a RDC nº 166, de 24 de julho de 2017.

A avaliação da linearidade foi realizada através da apresentação gráfica das respostas (áreas dos picos nos cromatogramas) em função da concentração dos analitos. A avaliação da linearidade foi determinada pela equação obtida a partir do método dos mínimos quadrados, observando-se os coeficientes de correlação (r) e de

determinação (r^2), que devem apresentar um valor superior a 0,990 e coeficiente angular significativamente diferente de zero (BRASIL, 2017).

O limite de detecção (LD) foi determinado utilizando-se o desvio-padrão residual do coeficiente linear da linha de regressão seguindo a seguinte fórmula:

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad \text{Equação 4}$$

Onde σ é o desvio-padrão residual do coeficiente linear da linha de regressão e IC é a inclinação da curva de calibração.

O limite de quantificação (LQ) foi determinado utilizando-se o desvio-padrão residual do coeficiente linear da linha de regressão seguindo a seguinte formula:

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad \text{Equação 5}$$

Onde σ é o desvio-padrão residual do coeficiente linear da linha de regressão e IC é a inclinação da curva de calibração.

2.8 LPS

A concentração lipopolissacarídeo (LPS) foi determinada no soro através do kit Cambrex Limulus Amebocyte Lysate [LAL] (Lonza, Walkersville, MD), seguindo o protocolo descrito pelo fabricante.

2.9 Composição da comunidade bacteriana fecal

As amostras de fezes coletadas após 30 e 60 dias do consumo dos produtos fermentados foram avaliadas com relação a diversidade microbiana. A extração de DNA das fezes ocorreu no robô King Fischer (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) utilizando o kit QIAamp Fast (Qiagen, Hilden, Alemanha). As

bibliotecas foram preparadas utilizando 100 ng de DNA, 2 nM de cada primer (F e R), 12,5 µL de 2x PCRBio Ultra Mix (PCR Biosystems, London, England) e água ultrapura, em volume final de 25 µL. O termociclador foi programado para trabalhar em 94 °C/ 3 min., em 30 ciclos de 94 °C/30 s, seguidos de 50 °C/s, 72 °C/30 s e extensão final de 72 °C/10 min., 4 hold. A purificação dos produtos da PCR foram realizadas utilizando beads AMPure XP (Beckman Coulter, Califórnia, USA). Na sequência, os produtos purificados foram ligados aos adaptadores Illumina em uma reação de PCR utilizando: 2,5 µL de cada index, 12,5 µL de 2x PCRBio Ultra Mix e 5 µL de água ultrapura completando um volume total de 25 µL. Esta reação foi também purificada utilizando as beads AMPure XP e o produto da ligação com os adaptadores foi normalizado para uma mesma concentração utilizando o kit SequalPrep Normalization Plate (Applied Industrial Technologies, Cleveland, USA). Após a normalização foi realizado um pool de amostras (com o mesmo volume de cada amostra) e a quantificação por qPCR, determinando em nM a concentração do pool. O kit utilizado para o sequenciamento foi o KAPA Library Quantification kit for Illumina (Illumina, Califórnia, USA). O sequenciamento foi realizado no equipamento MiSeq (Illumina, Califórnia, USA).

2.9.1 Análise de dados de bioinformática

Todos os procedimentos para análise de bioinformática foram feitos conforme descritos em artigos publicados pelo grupo (KAMIMURA *et al.*, 2020; VIEIRA *et al.*, 2021). Os arquivos paired-end com dados brutos do sequenciamento foram pré-processados, onde foi realizada a junção dos pares de sequências e posteriormente utilizou-se o FASTQC para realizar o controle de qualidade. Em seguida, todas as leituras quiméricas e de baixa qualidade foram removidas usando o software

Trimmomatic (0.36) e UCHIME2 (EDGAR *et al.*, 2011). As sequências de amplicons do gene 16S rRNA foram submetidas aos protocolos padrões do pacote QIIME (Quantitative Insights into Microbial Ecology versão 1.9.0) (CAPORASO *et al.*, 2010ab). As unidades taxonômicas operacionais (OTU) foram selecionadas das sequências usando o método UCLUST do QIIME com 97% de identidade (EDGAR, 2010). A atribuição taxonômica das OTUs preditas foi realizada contra o banco de dados SILVA 132 database (QUAST *et al.*, 2013). Posteriormente, uma árvore filogenética foi construída pelo alinhamento de sequências representativas usando o programa PyNAST (CAPORASO *et al.*, 2010ab). Os índices de riqueza e a diversidade foram estimadas através do QIIME e incluídas na estimativa da diversidade alfa: Good's coverage, Chao1 richness, and Shannon diversity index (CHAO; BUNGE, 2002; SHANNON, 1948). A diversidade beta (weighted and unweighted measurements) foram calculadas utilizando as métricas UniFrac (HAMADY; LOZUPONE; KNIGHT, 2010; LOZUPONE; KNIGHT, 2005). A análise de componentes principais (PCA) foi empregada para avaliar a dissimilaridade e mostrar padrões nos conjuntos de dados (todas as amostras sem controle) usando o XLSTAT versão 2020.1.3 (Adinsoft, Paris, França).

2.10 Análises estatísticas

Todos os resultados presentes neste estudo foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com posterior comparação de médias pelo teste Tukey, com exceção dos dados referentes à composição da comunidade bacteriana fecal, onde utilizou-se o teste de comparação de médias de Dunnett's. O nível de significância foi estabelecido considerando um p valor menor que 0,05 ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 Consumo da dieta e ganho de peso

A ingestão da dieta e o ganho de peso dos animais durante o período experimental não apresentou diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos testados. Com isso, observamos que a suplementação da dieta através da gavagem diária de água (grupo controle) ou dos outros produtos testados não foi capaz de influenciar na ingestão total de ração comercial pelos animais nos diferentes grupos. Além de não influenciar no ganho de peso destes animais durante o experimento.

3.2 Minerais

A suplementação da dieta comercial com leites fermentados e iogurtes foi capaz de influenciar significativamente ($p<0,05$) na quantidade diária ingerida dos minerais cálcio, magnésio e fósforo (figura 3). Observou-se que a ingestão diária destes três minerais foi aumentada ($p<0,05$) após suplementação da dieta comercial com leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) (quando em comparação com o grupo controle - C). A ingestão diária de cálcio e fósforo também foi aumentada ($p<0,05$) nos grupos que consumiram leite fermentado por *L. acidophilus* (LA) e iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA) quando comparados com o grupo controle (C). Além disso, o grupo suplementado com iogurte contendo polpa de buriti (YBP) foi responsável por aumentar ($p<0,05$) a ingestão diária de fósforo em relação ao grupo controle (C). No entanto, notamos ingestões diárias de cálcio e fósforo significativamente menores ($p<0,05$) nos grupos que consumiram a dieta comercial + iogurte (Y) quando comparados ao grupo controle (C). Este fato pode estar correlacionado com os valores de ingestão diária da ração comercial e os

conteúdos de cálcio e fósforo apresentarem tendências mais baixas para este grupo e para o produto em questão (dados suplementares, tabela 1). Ainda, o aumento na ingestão diária de minerais após a suplementação da dieta comercial com os produtos mencionados está relacionada com a concentração destes nutrientes nestas matrizes (dados suplementares, tabela 1).

Embora a suplementação da dieta comercial com leites fermentados e iogurtes tenham influenciado significativamente ($p < 0,05$) na ingestão diária de minerais, apenas os grupos que consumiram bagaço de laranja (OB) e iogurte (Y) apresentaram concentrações mais elevadas de cálcio no soro em comparação ao grupo controle (C, $p < 0,05$) (figura 4). Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas entre si ou em relação ao grupo controle (C). Da mesma maneira, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) nas concentrações de cálcio e fósforo no fêmur dos animais pertencentes ao grupo controle (C) em comparação com os demais grupos suplementados. Apesar disso, a concentração de cálcio e fósforo no fêmur dos animais que consumiram leite fermentado por *L. acidophilus* pré submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) foi maior ($p < 0,05$) do que o grupo que consumiu leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja (LAOB). O que pode indicar um impacto positivo na utilização da bactéria probiótica (*L. acidophilus*) estressada (estresse oxidativo) no metabolismo destes minerais em comparação a não estressada. A concentração de magnésio no fêmur foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo que consumiu bagaço de laranja (OB) em comparação ao grupo controle (C). Além disso, observamos também que o grupo que recebeu bagaço de laranja (OB) apresentou maiores concentrações de magnésio no fêmur ($p < 0,05$) em comparação aos grupos que receberam o leite fermentado contendo o bagaço de laranja: LAOB e LAOXOB. Indicando assim, um possível

impacto negativo do consumo de bagaço de laranja fermentado na metabolização deste mineral.

Notamos também que no geral, o conteúdo mineral de cálcio no fêmur apresentou valores inferiores ao conteúdo de potássio, o que difere biologicamente da literatura apresentada que cita razões Ca:P entre 1,6 a 2,0. Acreditamos que este fato possa estar relacionado ao tipo de preparo de amostra escolhido, uma vez que utilizou-se o osso in natura e portanto esta análise será refeita anterior a publicação dos resultados.

3.3 Densitometria óssea

Os valores relativos ao conteúdo mineral ósseo (BCM); densidade mineral óssea (BDM); área; volume; comprimento; e, tamanho da diáfise, metáfise proximal e distal não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos estudados (tabela 1).

3.4 Propriedades biomecânicas

Os parâmetros de força máxima (N) e rigidez (N/mm) apresentaram valores significativamente maiores ($p<0,05$) no fêmur dos animais do grupo suplementado com polpa de buriti (BP) em comparação ao grupo controle (C) (figura 5). A rigidez deste osso também apresentou significativa redução ($p<0,05$) no grupo que consumiu iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) em comparação ao grupo suplementado apenas com polpa de buriti (BP). Apesar disso, a quantidade de energia absorvida (mJ) no fêmur até a ruptura não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos estudados. O parâmetro de elasticidade (GPa) óssea no fêmur também não apresentou diferença significativa ($p>0,05$) entre o grupo controle (C) e

os demais grupos analisados. No entanto, o grupo suplementado com iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA) apresentou maior elasticidade em relação ao grupo suplementado com iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP).

3.5 Ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

A concentração de ácido acético nas fezes dos animais estudados foi significativamente aumentada ($p < 0,05$) após o consumo de leite fermentado contendo bagaço de laranja (LAOB) em comparação ao grupo controle (C) (figura 7). Da mesma maneira, a concentração deste AGCC aumentou após o consumo das duas formulações de leite fermentado contendo bagaço de laranja (LAOB e LAOXOB) quando em comparação ao grupo suplementado apenas com bagaço de laranja (OB). Fato que pode demonstrar um impacto positivo da fermentação neste substrato, aumentando a geração de ácido acético no cólon. Em contrapartida, o consumo de iogurte (Y) reduziu ($p < 0,05$) a produção de ácido acético em comparação ao grupo controle (C). Além disso, os grupos que consumiram iogurte contendo polpa de buriti (YBP) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) apresentaram concentrações superiores ($p < 0,05$) de ácido acético nas fezes em relação ao grupo que consumiu apenas iogurte (Y). Ainda, a concentração de ácido acético foi maior ($p < 0,05$) nas fezes dos animais que consumiram iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) em comparação ao grupo que consumiu apenas iogurte contendo *L. acidophilus* (YLA). Demonstrando que, a inclusão da polpa de buriti nestas formulações aumentou a produção de ácido acético no cólon dos animais estudados.

A concentração de ácido propiônico nas fezes aumentou ($p < 0,05$) nos grupos que consumiram leite fermentado por *L. acidophilus* contendo bagaço de laranja

(LAOB), leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) e iogurte contendo polpa de buriti (YBP) em comparação ao grupo controle (C). O consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja (LAOXOB) também foi responsável por aumentar ($p<0,05$) a concentração de ácido propiônico nas fezes dos animais estudados quando em comparação ao grupo suplementado apenas com bagaço de laranja (OB). Desta maneira, observamos que a fermentação do bagaço de laranja por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo impactou positivamente na concentração deste ácido graxo de cadeia curta no intestino dos animais estudados. Além disso, a fermentação da polpa de buriti pela cultura *starter* (YBP) também apresentou impacto positivo na concentração de ácido propiônico nas fezes aumentando ($p<0,05$) a sua concentração quando em comparação ao grupo que recebeu apenas polpa de buriti (BP).

Já a concentração de ácido butírico nas fezes não variou significativamente ($p>0,05$) entre os grupos testados.

3.6 LPS

A concentração da endotoxina LPS (lipopolissacarídeo) no soro dos animais apresentou decréscimo significativo ($p<0,05$) nos grupos suplementados com bagaço de laranja (OB) e leite fermentado contendo bagaço de laranja (LAOB) em comparação ao grupo controle (C) (26,6 e 23,8%, respectivamente) (figura 8). Os demais grupos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre si ou em relação ao grupo controle (C).

3.7 Comunidade bacteriana fecal utilizando 16s RNA metabarcoding

Após passarem pelo processamento de qualidade, os dados brutos da análise de sequenciamento do gene 16S rRNA geraram cerca de 7.556 sequências bacterianas por amostra (dados suplementares). A diversidade alfa também foi avaliada em todos os grupos de amostras estudados ($n=5/6$), onde os índices Ace, Chao1, Shannon, goods_coverage, observed_otus e Simpson se encontram descritos na tabela 2. Apesar de não serem observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre os grupos avaliados, o maior valor do índice Chao1 foi observado no grupo que consumiu polpa de buriti (BP2) (1301,3) e o menor no que consumiu bagaço de laranja (OB2) (1048,2). O índice de Shannon variou entre 6,4 a 7,0 sendo que o maior valor foi observado para o grupo que consumiu iogurte contendo polpa de buriti (YBP2). Os maiores valores OTUs foram observados também no grupo que consumiu iogurte contendo polpa de buriti (YBP2) (568,7) e os menores nos grupos controle (C2 e C1) (512,2 e 517,3, respectivamente). Já o índice de Simpson variou de 0,96 a 0,98.

A estrutura da comunidade bacteriana foi avaliada nos diferentes níveis taxonômicos. Um total de 8 filos foram identificados na microbiota fecal (tabela 3-6), e dentre os mais abundantes encontraram-se *Firmicutes* (52,74 a 64,15%), *Bacteroidetes* (24,62 a 38,40%), *Epsilonbacteraeota* (1,13 a 9,77%) e *Tenericutes* (0,62 a 3,23%). Durante o período avaliado algumas modificações significativas ($p<0,05$) à nível de filo foram encontradas na estrutura da comunidade microbiana, principalmente após o consumo de dietas suplementadas com bagaço de laranja (OB), polpa de buriti (BP), iogurte contendo polpa de buriti (YBP) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) (tabelas 3,4,5 e 6). O consumo de dietas suplementadas com polpa de buriti (BP), pelo período de 30 dias, reduziu a abundância relativa de *Firmicutes* em relação à condição controle (C) (tabela 5). Após

60 dias de tratamento, o consumo de polpa de buriti (BP) e bagaço de laranja (OB) reduziram a abundância relativa de *Firmicutes*, enquanto o consumo de bagaço de laranja (OB) também aumentou o conteúdo *Bacteroidetes* da comunidade microbiana (tabela 4 e 6). Além disso, o consumo de iogurte contendo polpa de buriti (YBP) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP), durante 60 dias, reduziu a abundância de *Bacteroidetes* em relação ao controle (C) (tabela 6). A comunidade bacteriana fecal não apresentou diferenças significativas ($p>0,05$) após a suplementação com outros tratamentos não mencionados nos dois períodos estudados em relação à condição controle (C).

Um total de 25 famílias e 61 gêneros foram identificados na comunidade bacteriana fecal, dos quais os 30 principais se encontram representados pelas figuras 9 e 10. Os gêneros e famílias mais abundantes entre todas as amostras foram *Lactobacillus* (6,67 a 30,14%), *Muribaculaceae*; D_5__uncultured bacterium (11,95 a 24,62%), *Lachnospiraceae* NK4A136 group (5,16 a 19,90%), *Helicobacter* (1,13 a 9,77%); *Bacteroides* (2,70 a 6,68%), *Alloprevotella* (3,22 a 5,75%), *Alistipes* (1,00 a 4,58%), *Ruminococcaceae* UCG-014 (1,83 a 4,55%), *Lachnospiraceae*; D_5__uncultured (1,42 a 4,12%), *Ruminiclostridium* 9 (1,60 a 3,00%), *Romboutsia* (0,10 a 2,23%) e, *Roseburia* (0,38 a 1,88%).

Nos animais submetidos durante o período de tratamento com as dietas suplementadas apenas os gêneros ou famílias *Lactobacillus*, *Muribaculaceae*; D_5__uncultured bacterium, *Lachnospiraceae* NK4A136 group, *Alistipes* e *Helicobacter* sofreram alterações significativas ($p<0,05$) em sua abundância relativa quando comparados à condição controle (C). Após 30 dias de tratamento, observamos um aumento no gênero *Lactobacillus* no grupo que consumiu a dieta suplementada com bagaço de laranja (OB). Enquanto os animais que consumiram polpa de buriti

(BP), iogurte contendo polpa de buri (YBP), leite fermentado natural (LA), leite fermentado contendo bagaço de laranja (LAOB) e leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXOB) reduziram a abundância relativa deste gênero. O consumo de bagaço de laranja (OB), leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXOB), iogurte natural (Y), polpa de buriti (BP), iogurte contendo polpa de buri (YBP) e iogurte contendo *L. acidophilus* e polpa de buriti (YLABP) aumentaram a abundância da família *Muribaculaceae*; D_5__uncultured bacterium na composição da comunidade bacteriana fecal. A abundância relativa da família *Lachnospiraceae* NK4A136 group também aumentou após o consumo de polpa de buriti (BP) e reduziu após o consumo de dietas adicionadas de bagaço de laranja (OB) e leite fermentado contendo bagaço de laranja (LAOB). Além disso, o consumo de dietas suplementadas com iogurtes naturais tradicionais e probióticos (Y e YLA), bagaço de laranja (OB) e leites fermentados natural ou contendo bagaço de laranja (LA, LAOB e LAOXOB) reduziram a abundância relativa do gênero *Alistipes* (figura 11).

Após o período de 60 dias de consumo, todos os grupos que receberam dietas suplementadas apresentaram redução na abundância relativa do gênero *Lactobacillus*. Em contrapartida, o consumo de todos os produtos fermentados contendo *L. acidophilus* (leites fermentados ou iogurtes naturais e fortificados com polpa de buriti e bagaço de laranja: LA, LAOB, LAOXOB, YLA e YLABP) aumentaram a abundância da família *Lachnospiraceae* NK4A136 group na comunidade bacteriana fecal dos animais estudados. O consumo de iogurte contendo polpa de buriti (BP) também aumentou a abundância dessa família. O gênero *Alistipes* manteve os valores de abundância relativa reduzidos apenas nos grupos que consumiram iogurtes naturais tradicionais e probióticos (Y e YLA). O consumo de bagaço de laranja (OB) e

polpa de buriti (BP) aumentou a abundância relativa da família *Muribaculaceae*; D_5__uncultured bacterium, enquanto que iogurtes tradicionais e probióticos contendo polpa de buriti (YBP e YLABP) e leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXOB) reduziram abundância desta família na comunidade bacteriana fecal. Além disso, a suplementação da dieta com leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo (LAOXOB) levou a um aumento do gênero *Helicobacter* nas fezes dos animais estudados (figura 11).

Desta maneira, observamos que as modificações nos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* após o consumo de dieta suplementada com bagaço de laranja (OB) se deu principalmente pela redução do gênero *Lactobacillus* e aumento da família *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium. Que a redução de *Firmicutes* após o consumo de polpa de buriti (BP) teve maior contribuição do gênero *Lactobacillus*. E, que a redução de *Bacteroidetes* após o consumo de dietas suplementadas com iogurtes contendo polpa de buriti (BP) se deu principalmente pelo gênero *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium.

4 DISCUSSÃO

No geral, a suplementação da dieta com produtos lácteos fermentados naturais e fortificados com bagaço de laranja ou polpa de buriti aumentaram a ingestão diária dos minerais Ca, Mg e P. No entanto, o consumo destes produtos não impactou no conteúdo sérico de cálcio, nas propriedades biomecânicas/densitométricas e na composição mineral óssea dos animais durante o período de crescimento avaliado. Outros estudos também já relataram que o aumento na ingestão de cálcio pelo consumo de dietas suplementadas (com concentrações de Ca uma a quatro vezes

maiores que o recomendado) não impactaram na composição mineral óssea, reabsorção óssea e propriedades biomecânicas/densitométricas de ratos jovens durante o período de crescimento (CREEDON; CASHMAN, 2001; HUNT *et al.*, 2008). Estes autores mencionaram que o consumo de cálcio apresenta respostas limiares, onde o aumento da ingestão deste nutriente, após atingida uma concentração mínima necessária, não leva ao aumento do armazenamento de cálcio ou melhora nos parâmetros morfológicos e biomecânicos dos ossos.

Em contrapartida, efeitos terapêuticos relacionados à melhora da saúde óssea já foram mencionados após o consumo de probióticos e produtos lácteos fermentados por animais saudáveis em crescimento. El-Gawad e colaboradores (2014) relataram que o consumo de iogurtes probióticos contendo *Bifidobacterium lactis* (BB12-BB46) aumentou a biodisponibilidade dos minerais Ca, P e Zn, o conteúdo mineral ósseo, a força de ruptura e a densidade mineral óssea do fêmur em comparação com animais que receberam a dieta padrão. Rodrigues e colaboradores (2012) também mencionaram que o consumo do probiótico *Bifidobacterium longum* aumentou a resistência à fratura do fêmur e o conteúdo mineral de Ca, Mg e P na tíbia de ratos Wistar saudáveis em comparação ao grupo controle. Além disso, o consumo produtos lácteos fermentados contendo fibras solúveis como beta-glucanas de aveia já foram relacionados com o aumento da resistência à fratura/concentração de cálcio no fêmur e modificação da microestrutura óssea de animais em crescimento (ALJEWICZ *et al.*, 2018).

Apesar dos produtos fermentados naturais e fortificados não demonstrarem aumento nos parâmetros relacionados à saúde óssea, o consumo de dietas suplementadas apenas com polpa de buriti (BP) e bagaço de laranja (OB) apresentaram respectivamente maior força/rigidez óssea e um aumento do conteúdo

de Mg no fêmur e Ca no sangue dos animais estudados. Nesse sentido, podemos mencionar que outros estudos já relataram que o consumo de frutas e vegetais está relacionado com a melhora da saúde óssea de indivíduos jovens e idosos (BERG; SEYEDSADJADI; GRANT, 2020; PRYNNE *et al.*, 2006). Além disso, o consumo de matrizes cítricas como o suco de laranja já foram também relacionadas à melhora da saúde óssea de consumidores, levando ao aumento sérico de cálcio em adultos e de vitamina D em crianças, além de serem positivamente correlacionadas ao aumento da densidade mineral óssea e conteúdo mineral ósseo (LEE *et al.*, 2014).

O consumo de leites fermentados probióticos e fibras dietéticas provenientes de frutas e subprodutos de frutas já foram associados ao aumento no conteúdo fecal de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico) em ensaios *in vivo* e *in vitro* (DUQUE *et al.*, 2016; EL-GAWAD *et al.*, 2014b; TEJADA-ORTIGOZA *et al.*, 2019; VEIGA *et al.*, 2014; VONG; STEWART, 2013). Corroborando com os resultados mencionados, neste estudo observamos um aumento no conteúdo de ácido acético e propiônico nas fezes dos animais que consumiram os leites fermentados probióticos fortificados com bagaço de laranja (LAOB e/ou LAOXOB) em comparação à dieta controle. Da mesma maneira, o consumo de iogurte contendo polpa de buriti (YBP) aumentou o conteúdo de ácido propiônico nas fezes dos animais suplementados com este produto. Em contrapartida, o consumo de iogurtes e leites fermentados probióticos naturais (LA, YLA); polpa de buriti (BP); bagaço de laranja (OB) e iogurte probiótico contendo polpa de buriti (YLABP) não apresentaram diferença no conteúdo fecal de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) em comparação à condição controle.

Apesar do consumo de probióticos estar associado ao aumento de AGCC no intestino (NAGPAL *et al.*, 2018; SIVIERI *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2018), alguns

autores já relataram que o tratamento com *Bifidobacterium longum* BB-46 durante duas semanas na microbiota relacionada à obesidade, em Simulador do Ecosistema Microbiano Intestinal Humano (SHIME®), não apresentou efeito na produção de ácidos graxos de cadeia curta (BIANCHI *et al.*, 2018). Bianchi e colaboradores (2018) notaram que apesar do consumo deste probiótico ter aumentado significativamente membros produtores de ácidos graxos de cadeia curta como *Lactobacillus* e *Lachnospiraceae* no intestino, o aumento na produção de AGCC não foi observado (LEBLANC *et al.*, 2017; LOUIS; FLINT, 2017). Os autores relacionaram a este fato a possibilidade de alguns AGCC produzidos (como o ácido acético) terem sido utilizados por grupos específicos presentes na comunidade microbiana em resposta ao processo de alimentação cruzada, o que levou a geração de outros metabólitos (BIANCHI *et al.*, 2018; RÍOS-COVIÁN *et al.*, 2016).

É importante mencionar que o aumento de ácidos graxos de cadeia curta (como acético e propiônico) após o consumo de dietas suplementadas com produtos fermentados contendo bagaço de laranja (LAOB e LAOXOB) e polpa de buriti (YBP) pode representar a promoção de alguns benefícios à saúde intestinal dos animais estudados. Os AGCC possuem um papel importante na saúde intestinal, sendo uma das principais fontes de energia para o crescimento microbiano e estando geralmente associados a benefícios como a redução na proliferação de patógenos; melhora do crescimento/atividade de micro-organismos benéficos e aumento da bioacessibilidade de minerais (ALEXANDER *et al.*, 2019; BROWNAWELL *et al.*, 2012; SUN; O'RIORDAN, 2013). Sabe-se também que os AGCC atuam como fontes de energia para as células intestinais (colonócitos) e relacionam-se com a manutenção da integridade da barreira intestinal, reduzindo a sua permeabilidade através da regulação das *tight junctions proteins* (TJP) (MORRISON; PRESTON, 2016). O ácido

butírico é uma das principais fontes de energia utilizadas pelos colonócitos e chega a suprir cerca de 70% da necessidade energética destas células, além de ser reconhecido por seu potencial anti-inflamatório e por atuar na redução do risco de câncer de cólon (MONTALTO *et al.*, 2009; OHARA; MORI, 2019; SPINA *et al.*, 2007; YOON; KIM, 2018). O ácido acético é um dos principais AGCC gerados e se encontra em maior abundância no cólon, sendo responsável por atuar (após a sua absorção) no metabolismo de carboidratos e gorduras nas células e na síntese de colesterol no fígado (LAYDEN *et al.*, 2013; WONG *et al.*, 2006). O ácido propiônico também apresenta importante papel na saúde intestinal, apresentando atividade anti-inflamatória e antimicrobiana no cólon e atuando na redução da lipogênese e síntese de colesterol (AL-LAHHAM *et al.*, 2010; HAVENAAR, 2011; HOSSEINI *et al.*, 2011).

A permeabilidade da barreira intestinal também foi avaliada indiretamente durante o período estudado através da quantificação do biomarcador sérico: lipopolissacarídeo de endotoxina bacteriana (LPS). O LPS é um constituinte externo da parede celular de bactérias gram-negativas caracterizado pela sua alta toxicidade, e se encontra em grande quantidade no conteúdo luminal do sistema gastrointestinal. A sua translocação para a corrente sanguínea pode ocorrer pela permeabilidade da barreira intestinal e é conhecida por induzir respostas inflamatórias sistêmicas e ser responsável pelo choque séptico (FUKE *et al.*, 2019; GHOSH *et al.*, 2020; GUO *et al.*, 2013; KIERS *et al.*, 2019). Desta maneira, o conteúdo sérico de LPS como marcador indireto de avaliação da integridade da barreira intestinal é comumente utilizado em diversos estudos (GUO *et al.*, 2013; HE *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2019; MONK *et al.*, 2017; SHASTRI *et al.*, 2015).

Os resultados apresentados demonstraram que o consumo de dietas suplementadas com bagaço de laranja (OB) e leite fermentado probiótico contendo

bagaço de laranja (LAOB) reduziu o conteúdo sérico de LPS quando em comparação à condição controle (C). É conhecido que diversos fatores nutricionais podem influenciar na redução da endotoxemia metabólica (níveis elevados de LPS sérico), dentre eles diversos estudos mencionam o consumo de pre e probióticos como potenciais agentes responsáveis pela redução sérica de LPS e melhora da barreira intestinal (DEHGHAN; GARGARI; JAFAR-ABADI, 2014; FUKU *et al.*, 2019; HASHEMI *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2019; PLAZA-DÍAZ *et al.*, 2017). No entanto, poucos estudos avaliam a concentração sérica de LPS em animais saudáveis. Shastri e colaboradores (2015) relatam que o consumo de dietas suplementadas com o prebiótico oligofrutose (5%) por animais saudáveis durante 42 dias não influenciou significativamente ($p>0,05$) nos valores séricos de LPS encontrados com relação à condição controle. Já Monk e colaboradores (2017) relataram que o consumo de dietas suplementadas com 20% de feijões marinho ou preto (ricos em carboidratos não digeríveis) por camundongos saudáveis (C57Bl/6) reduziu os níveis sanguíneos de LPS e promoveu a melhora da barreira intestinal induzindo o aumento de parâmetros relacionados à sua integridade e produção de muco.

Dentre os fatores relacionados com a melhora da barreira intestinal, que por consequência aumentam a sua integridade e reduzem a sua permeabilidade, são mencionados o aumento na expressão de mucinas e de proteínas de junção apertada (GHOSH *et al.*, 2020; HASHEMI *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2019). Estes fatores já foram associados ao consumo de pre e probióticos, estando também relacionados com o aumento de AGCC, os quais constituem-se em fontes de energia para célula e podem contribuir com a integridade e proteção da barreira intestinal por diversos mecanismos (CAMILLERI *et al.*, 2019; HASHEMI *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2019; MONK *et al.*, 2017; MORRISON; PRESTON, 2016).

Com relação aos resultados de diversidade alfa e classificação taxonômica da comunidade bacteriana fecal observamos que, no geral, o core da microbiota normal de animais saudáveis foi mantido após a aplicação dos produtos estudados, havendo poucas modificações significativas entre os grupos bacterianos. Os maiores grupos taxonômicos classificados neste estudo pertenceram aos filos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Epsilonbacteraeota* e *Tenericutes*. Corroborando com os resultados encontrados, alguns autores citam que a microbiota fecal de ratos saudáveis é composta principalmente pela grande abundância dos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, que chegam a atingir cerca de 90% dos táxons encontrados (LI *et al.*, 2017; MENG *et al.*, 2019). Além disso, outros autores também mencionam que o consumo de dietas suplementadas com prebióticos como oligofrutose ou xilo-oligossacarídeos por 2 a 6 semanas não levaram à modificações significativas ou drásticas da estrutura da comunidade fecal de ratos machos saudáveis em comparação à condição controle (CHRISTENSEN *et al.*, 2014; SHASTRI *et al.*, 2015).

O tratamento com leites fermentados probióticos já foi citado por impactar significativamente na composição da microbiota fecal de indivíduos saudáveis (*in vitro*) e com síndrome do intestino irritável (IBS) (*in vivo*) (CHA *et al.*, 2018; VEIGA *et al.*, 2014). No entanto, Cha e colaboradores (2018) também demonstram que apesar do tratamento com leite fermentado probiótico ter levado a uma alteração da microbiota fecal, o mesmo não influenciou significativamente na diversidade da comunidade microbiana, havendo apenas uma tendência ao decréscimo nos valores encontrados. Além disso, corroborando com os resultados apresentados neste estudo, outros autores relatam poucas alterações significativas na comunidade microbiana fecal de indivíduos saudáveis após o consumo de leites fermentados probióticos contendo culturas como *L. acidophilus* CSG, *Levilactobacillus brevis* HY7401, *B. longum*

HY8001, *Lacticaseibacillus casei* HY2782 e *B. animalis* subsp. *lactis* (MCNULTY *et al.*, 2011; UNNO *et al.*, 2015).

Apesar da suplementação da dieta com os produtos testados não levar a modificações drásticas na composição da comunidade bacteriana fecal durante o período estudado, alguns tratamentos destacaram-se por aumentar ou reduzir a abundância relativa de alguns grupos taxonômicos encontrados. Após 60 dias de consumo, em nível de filo, foram observados a redução de *Firmicutes* após a suplementação com bagaço de laranja (OB) e polpa de buriti (BP); e, o aumento ou redução de *Bacteroidetes* após a suplementação com bagaço de laranja (OB) ou iogurtes contendo polpa de buriti (YBP e YLABP), respectivamente. Em nível de gênero, os principais resultados demonstraram uma redução de *Lactobacillus* e um aumento de *Lachnospiraceae* NK4A136 group após o consumo da maioria das dietas suplementadas em relação ao grupo controle (C). Enquanto o consumo de dietas suplementadas com bagaço de laranja (OB) ou polpa de buriti (BP) e, iogurtes contendo polpa de buriti (YBP e YLABP) ou leite fermentado contendo o probiótico estressado e bagaço de laranja (LAOXOB) levaram respectivamente ao aumento e redução do grupo *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium.

A relação entre a proporção dos filos *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B) tem sido mencionada por representar influência significativa na homeostase do sistema intestinal, podendo impactar na saúde ou doença (STOJANOV; BERLEC; ŠTRUKELJ, 2020). Alguns estudos associam a redução do filo *Firmicutes* e o aumento de *Bacteroidetes* (redução da razão F/B) à efeitos de melhora ou proteção da/contra a obesidade (CHEN *et al.*, 2014; STOJANOV; BERLEC; ŠTRUKELJ, 2020; THIENNIMITR *et al.*, 2018). Além disso, é conhecido que pre e probióticos possuem a capacidade de modular a microbiota intestinal levando a alterações dos filos

mencionados (BIANCHI *et al.*, 2018; FIDÉLIX *et al.*, 2020; SHTRIKER *et al.*, 2018; THIENNIMITR *et al.*, 2018).

A presença de fibras com potencial prebiótico ou outros compostos que quando consumidos tenham a capacidade de modular a composição da microbiota intestinal, como compostos fenólicos, são comumente encontrados como parte da composição físico-química de frutas e seus subprodutos (BIANCHI *et al.*, 2018; CASAROTTI *et al.*, 2020; CUI *et al.*, 2019; DUQUE *et al.*, 2016; QUATRIN *et al.*, 2020; UNNO; HISADA; TAKAHASHI, 2015). Sabe-se também que as fibras dietéticas presentes em frutas e vegetais podem influenciar de maneira positiva a composição da microbiota intestinal, aumentando a diversidade da comunidade e estimulando o aumento ou redução de grupos considerados importantes para a promoção ou manutenção da saúde humana (BIANCHI *et al.*, 2018; CHOI *et al.*, 2018; CUI *et al.*, 2019; DUQUE *et al.*, 2016; SO *et al.*, 2018). Além disso, corroborando com os dados apresentados, Cui e colaboradores (2018) citam que a diferença entre os tipos conhecidos de fibras dietéticas presentes em frutas e vegetais pode levar a mudanças nos efeitos de modulação gerados sobre a composição da microbiota intestinal.

Produtos derivados de frutas como o suco de laranja, por exemplo, já foram relatados pelo seu potencial prebiótico por alguns autores (DUQUE *et al.*, 2016; FIDÉLIX *et al.*, 2020). O consumo de suco de laranja por indivíduos saudáveis já foi relacionado com a alteração da composição da microbiota fecal, levando à redução da abundância relativa de filos como *Firmicutes* e *Bacteroidetes* e aumento de grupos como *Actinobacteria* e *Proteobacteria*. Estes autores ainda mencionam que famílias como *Lactobacillaceae*, *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae* foram as que tiveram maior contribuição para a redução do filo *Firmicutes* (FIDÉLIX *et al.*, 2020). Além disso, a atuação de subprodutos de frutas como agentes prebióticos vêm sendo cada vez

mais destacada pela literatura (BATISTA *et al.*, 2018; BIANCHI *et al.*, 2018; CASAROTTI *et al.*, 2020). O consumo de dietas suplementadas com pectina de maçã (7%) por ratos saudáveis durante 4 semanas levou a modificações significativas na composição da microbiota fecal, reduzindo populações pertencentes ao filo *Bacteroidetes* e aumentando as do filo *Firmicutes* principalmente pela contribuição de gêneros como *Alistipes* e *Parabacteroides* ou famílias como *Clostridiales* (Cluster XIVa), respectivamente (LICHT *et al.*, 2010). Em contrapartida, o consumo de dietas suplementadas com 15% de pectina cítrica por camundongos durante o mesmo período levou a um aumento da abundância relativa do filo *Bacteroidetes* e a uma redução do filo *Firmicutes* (SHTRIKER *et al.*, 2018).

O aumento de gêneros ou famílias como *Lachnospiraceae* NK4A136 group e *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium na composição da microbiota fecal podem representar benefícios a saúde do hospedeiro em determinadas condições. Recentemente um estudo relatou que membros comensais da microbiota intestinal, pertencentes a famílias como *Muribaculaceae* e *Lachnospiraceae*, possuem a capacidade de proteger o organismo contra infecções ocasionadas pelo patógeno *Clostridiodes difficile* devido a sua capacidade de utilização de açúcares que compõe a mucosa intestinal. Dentre o consórcio microbiano estudado, membros da família *Muribaculaceae* foram classificados por estes autores como um dos principais forrageadores de monossacarídeos de mucina (PEREIRA *et al.*, 2020). Além de seu potencial de degradação de carboidratos complexos, a família *Muribaculaceae* é também classificada por ser altamente prevalente no intestino de roedores (principalmente camundongos) chegando a representar 20% da abundância relativa da comunidade microbiana (LAGKOUVARDOS *et al.*, 2019). Membros da família *Lachnospiraceae* também são conhecidos pelo seu potencial de degradação de

carboidratos complexos e produção de AGCC, principalmente ácido butírico (BORTON *et al.*, 2017; MEEHAN; BEIKO, 2014; VACCA *et al.*, 2020). O grupo *Lachnospiraceae* NK4A136, por exemplo, já foi positivamente correlacionado com a produção de ácidos acético e butírico (BORTON *et al.*, 2017; JIANG *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2020). Além disso, alguns estudos mencionam o potencial de *Lachnospiraceae* NK4A136 group em efeitos anti-obesogênicos (estando correlacionado negativamente com a obesidade) e anti-inflamatórios (HU *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2019) .

5 CONCLUSÃO

No geral, o consumo de produtos lácteos fermentados fortificados com bagaço de laranja ou polpa de buriti durante um período de 60 dias não impactou significativamente nos parâmetros relacionados ao metabolismo ósseo (conteúdo mineral ósseo, fratura e padrões densitométricos). No entanto, observou-se que o consumo de polpa de buriti foi responsável pelo aumento da força óssea e rigidez dos fêmures avaliados e que o consumo de bagaço de laranja aumentou o conteúdo mineral de magnésio no fêmur e os valores séricos de cálcio. O consumo de dietas suplementadas com polpa de buriti e bagaço de laranja também levou a amplas modificações na composição da comunidade bacteriana fecal dos animais estudados, levando ao aumento ou redução dos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Além disso, o consumo de bagaço de laranja e/ou dos produtos fermentados fortificados com bagaço de laranja impactaram positivamente na redução do marcador inflamatório LPS na corrente sanguínea e aumento da concentração fecal de AGCC como acético e propiônico. Ainda, outras modificações foram observadas na composição da comunidade bacteriana fecal após o consumo de dietas suplementadas com polpa de

buriti e bagaço de laranja ou dos produtos fermentados fortificados com estas matrizes, principalmente com relação a redução ou aumento dos gêneros ou famílias *Lactobacillus*, *Lachnospiraceae* NK4A136 group e *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium.

6 AGRADECIMENTOS

O autor agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (Processo #2016/12001-0).

7 REFERÊNCIAS

AHMADI, S. *et al.* Dietary polysaccharides in the amelioration of gut microbiome dysbiosis and metabolic diseases. **Obesity & Control Therapies: Open Access**, v. 4, n. 3, p. 1–15, 2017. DOI 10.15226/2374-8354/4/2/00140.

AL-LAHHAM, S. H. *et al.* Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, v. 1801, p. 1175–1183, 2010. DOI 10.1016/j.bbalip.2010.07.007.

ALEXANDER, C. *et al.* Perspective: Physiologic importance of short-chain fatty acids from nondigestible carbohydrate fermentation. **Advances in Nutrition**, v. 10, p. 576–589, 2019. DOI 10.1093/advances/nmz004.

ALJEWICZ, M. *et al.* The influence of product acidity and beta-glucans isolated from various sources on the mineral composition and the mechanical and microstructural properties of the femur in growing Wistar rats. **Journal of Functional Foods**, v. 44, p. 191–200, 2018. DOI 10.1016/j.jff.2018.02.035.

ARJMANDI, B. H.; JOHNSON, S. A. The role of functional foods and their bioactive components in bone health. In: YU, B. P. (org.). **Nutrition, exercise and**

epigenetics: Ageing interventions, healthy ageing and longevity. Switzerland: Springer International Publishing, 2015. p. 153–177. DOI 10.1007/978-3-319-14830-4_8.

AZAD, M. A. K. *et al.* Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview. **BioMed Research International**, p. 1–8, 2018. DOI 10.1155/2018/9478630.

BATISTA, K. S. *et al.* Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, v. 119, p. 30–41, 2018. DOI 10.1017/S0007114517003282.

BERG, J.; SEYEDSADJADI, N.; GRANT, R. Increased consumption of plant foods is associated with increased bone mineral density. **Journal of Nutrition, Health and Aging**, v. 24, n. 4, p. 388–397, 2020. DOI 10.1007/s12603-020-1339-y.

BIANCHI, F. *et al.* Modulation of gut microbiota from obese individuals by in vitro fermentation of citrus pectin in combination with *Bifidobacterium longum* BB-46. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, p. 8827–8840, 2018. DOI 10.1007/s00253-018-9234-8.

BORTON, M. A. *et al.* Chemical and pathogen-induced inflammation disrupt the murine intestinal microbiome. **Microbiome**, v. 5, n. 47, p. 1–15, 2017. DOI 10.1186/s40168-017-0264-8.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Diretoria Colegiada; Resolução No 166, de 24 de Julho de 2017. 2017. **Diário Oficial da União**, N° 141, 25/07/2017. Disponível em: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=25/07/2017&jornal=1&pagina=88&totalArquivos=128>. Acesso em: 20 set. 2001.

BRONDANI, J. E. *et al.* Fruit and vegetable intake and bones: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, v. 14, n. 5, p. 1–16, 2019. DOI 10.1371/journal.pone.0217223.

BROWNAWELL, A. M. *et al.* Prebiotics and the health benefits of fiber: Current regulatory status, future research, and goals. **Journal of Nutrition**, v. 142, p. 962–974, 2012. DOI 10.3945/jn.112.158147.

CAMILLERI, M. *et al.* Role for diet in normal gut barrier function: Developing guidance within the framework of food-labeling regulations. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 317, p. G17–G39, 2019. DOI 10.1152/ajpgi.00063.2019.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R. Comparison of the physicochemical profiles of buriti from the Brazilian Cerrado and the Amazon region. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 78–82, 2017. DOI 10.1590/1678-457X.32516.

CAPORASO, J. G.; BITTINGER, K.; *et al.* PyNAST: A flexible tool for aligning sequences to a template alignment. **Bioinformatics**, v. 26, n. 2, p. 266–267, 2010a. DOI 10.1093/bioinformatics/btp636.

CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, v. 7, n. 5, p. 335–336, 2010b. DOI 10.1038/nmeth0510-335.

CARDING, S. *et al.* Dysbiosis of the gut microbiota in disease. **Microbial Ecology in Health & Disease**, v. 26, p. 1–9, 2015. DOI <http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.26191>.

CASAROTTI, S. N. *et al.* Probiotic low-fat fermented goat milk with passion fruit by-product: In vitro effect on obese individuals' microbiota and on metabolites

production. **Food Research International**, v. 136, p. 1–12, 2020. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109453.

CHA, K. H. *et al.* Effects of fermented milk treatment on microbial population and metabolomic outcomes in a three-stage semi-continuous culture system. **Food Chemistry**, v. 263, p. 216–224, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.04.095.

CHAO, A.; BUNGE, J. Estimating the number of species in a stochastic abundance model. **Biometrics**, v. 58, n. 3, p. 531–539, 2002. DOI <https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2002.00531.x>.

CHEN, D. *et al.* The effect of *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 on the intestinal microbiota of a hyperlipidemic rat model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, p. 1–9, 2014. DOI 10.1186/1472-6882-14-386.

CHOI, Y. J. *et al.* An exploratory study on the effect of daily fruits and vegetable juice on human gut microbiota. **Food Science and Biotechnology**, v. 27, n. 5, p. 1377–1386, 2018. DOI 10.1007/s10068-018-0372-7.

CHRISTENSEN, E. G. *et al.* Dietary Xylo-oligosaccharide stimulates intestinal bifidobacteria and lactobacilli but has limited effect on intestinal integrity in rats. **BMC Research Notes**, v. 7, p. 1–14, 2014. DOI 10.1186/1756-0500-7-660.

COLLINS, F. L. *et al.* The potential of probiotics as a therapy for osteoporosis. **Microbiology Spectrum**, v. 5, n. 4, p. 1–26, 2018. DOI 10.1128/microbiolspec.BAD-0015-2016.The.

CREEDON, A.; CASHMAN, K. D. The effect of calcium intake on bone composition and bone resorption in the young growing rat. **British Journal of Nutrition**, v. 86, p. 453–459, 2001. DOI 10.1079/BJN2001419.

CUI, J. *et al.* Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, p. 1514–1532, 2019. DOI 10.1111/1541-4337.12489.

DEGRUTTOLA, A. K. *et al.* Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 22, n. 5, p. 1137–1150, 2016. DOI 10.1097/MIB.0000000000000750.Current.

DEHGHAN, P.; GARGARI, B. P.; JAFAR-ABADI, M. A. Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. **Nutrition**, v. 30, p. 418–423, 2014. DOI 10.1016/j.nut.2013.09.005.

DUQUE, A. L. R. F. *et al.* An exploratory study on the influence of orange juice on gut microbiota using a dynamic colonic model. **Food Research International**, v. 84, p. 160–169, 2016. DOI 10.1016/j.foodres.2016.03.028.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, v. 26, n. 19, p. 2460–2461, 2010. DOI 10.1093/bioinformatics/btq461.

EDGAR, R. C. *et al.* UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics**, v. 27, n. 16, p. 2194–2200, 2011. DOI 10.1093/bioinformatics/btr381.

EL-GAWAD, I. A. A. *et al.* Bioavailability of Ca, P and Zn and bone mineralization in rats fed yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, v. 4, n. 2, p. 110–126, 2014.

FIDÉLIX, M. *et al.* Microbiota modulation and effects on metabolic biomarkers by orange juice: a controlled clinical trial. **Food and Function**, v. 11, p. 1599–1610, 2020. DOI 10.1039/c9fo02623a.

FUKE, N. *et al.* Regulation of gut microbiota and metabolic endotoxemia with dietary factors. **Nutrients**, v. 11, p. 1–38, 2019. DOI 10.3390/nu11102277.

GALDEANO, C. M. *et al.* Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 74, n. 2, p. 115–124, 2019. DOI 10.1159/000496426.

GERRITSEN, J. *et al.* Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. **Genes and Nutrition**, v. 6, p. 209–240, 2011. DOI 10.1007/s12263-011-0229-7.

GHOSH, S. S. *et al.* Intestinal barrier dysfunction, LPS translocation, and disease development. **Journal of the Endocrine Society**, v. 4, n. 2, p. 1–15, 2020. DOI 10.1210/jendso/bvz039.

GÓRSKA, A. *et al.* Probiotic bacteria: A promising tool in cancer prevention and therapy. **Current Microbiology**, v. 76, n. 8, p. 939–949, 2019. DOI 10.1007/s00284-019-01679-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01679-8>.

GRAÇA, J. S.; FURTADO, M. M.; *et al.* Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products. **In submission process for International Journal of Food Microbiology**, 2021.

GRAÇA, J. S.; CASTRO, B. G.; *et al.* O consumo de iogurtes contendo polpa de buriti e leites fermentados contendo bagaço de laranja aumenta a resposta do sistema endógeno antioxidante e a expressão de proteínas de choque térmico de ratos saudáveis. **Em processo de redação para a submissão na revista “Food and Function”**, 2021.

GRAÇA, J. S.; SILVA, J. G. S.; *et al.* *Lactobacillus acidophilus* submetido à diferentes condições de estresse impacta na produção de metabólitos voláteis e

bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em lácteos fermentados. **Em processo de redação para a submissão na revista “International Journal of Food Microbiology”**, 2021.

GRANATO, D. *et al.* Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 3, p. 292–302, 2010. DOI 10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x.

GUO, S. *et al.* Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. **The American Journal of Pathology**, v. 182, n. 2, p. 375–387, 2013. DOI 10.1016/j.ajpath.2012.10.014.

HAMADY, M.; LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. Fast UniFrac: Facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. **The ISME Journal**, v. 4, p. 17–27, 2010. DOI 10.1038/ismej.2009.97.

HASHEMI, Z. *et al.* Dietary pea fiber supplementation improves glycemia and induces changes in the composition of gut microbiota, serum short chain fatty acid profile and expression of mucins in glucose intolerant rats. **Nutrients**, v. 9, p. 1–14, 2017. DOI 10.3390/nu9111236.

HAVENAAR, R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites: A review. **Beneficial Microbes**, v. 2, n. 2, p. 103–114, 2011. DOI 10.3920/BM2011.0003.

HE, C. *et al.* Vitamin A inhibits the action of LPS on the intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins. **Food and Function**, v. 10, p. 1235–1242, 2019. DOI 10.1039/c8fo01123k.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, vol. 11, p. 506–514, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

HOSSEINI, E. *et al.* Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. **Nutrition Reviews**, v. 69, n. 5, p. 245–258, 2011. DOI 10.1111/j.1753-4887.2011.00388.x.

HU, S. *et al.* Anti-inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from: *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice. **Food and Function**, v. 10, p. 1736–1746, 2019. DOI 10.1039/c8fo02364f.

HUANG, S. *et al.* A sulfated polysaccharide from: *Gracilaria Lemaneiformis* regulates cholesterol and bile acid metabolism in high-fat diet mice. **Food and Function**, v. 10, p. 3224–3236, 2019. DOI 10.1039/c9fo00263d.

HUNT, J. R. *et al.* Calcium requirements of growing rats based on bone mass, structure, or biomechanical strength are similar. **The Journal of Nutrition**, v. 138, p. 1462–1468, 2008.

JIANG, L. *et al.* Donkey milk lysozyme ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis by improving intestinal barrier function and gut microbiota composition. **Journal of Functional Foods**, v. 48, p. 144–152, 2018. DOI 10.1016/j.jff.2018.07.005.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms. **Food Microbiology**, v. 89, p. 1–12, 2020. DOI 10.1016/j.fm.2020.103453.

KANIS, J. A. *et al.* European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. **Osteoporosis International**, v. 24, p. 23–57, 2013. DOI 10.1007/s00198-012-2074-y.

KIERS, D. *et al.* Comparison of different lots of endotoxin and evaluation of in vivo potency over time in the experimental human endotoxemia model. **Innate Immunity**, v. 25, n. 1, p. 34–45, 2019. DOI 10.1177/1753425918819754.

KIM, H. I. *et al.* *Lactobacillus plantarum* LC27 and *Bifidobacterium longum* LC67 simultaneously alleviate high-fat diet-induced colitis, endotoxemia, liver steatosis, and obesity in mice. **Nutrition Research**, v. 67, p. 78–89, 2019. DOI 10.1016/j.nutres.2019.03.008.

LAGKOUVARDOS, I. *et al.* Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family. **Microbiome**, v. 7, n. 28, p. 1–15, 2019. DOI 10.1186/s40168-019-0637-2.

LAYDEN, B. T. *et al.* Short chain fatty acids and their receptors: New metabolic targets. **Translational Research**, v. 161, n. 3, p. 131–140, 2013. DOI 10.1016/j.trsl.2012.10.007.

LEBLANC, J. G. *et al.* Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. **Microbial Cell Factories**, v. 16, n. 79, p. 1–10, 2017. DOI 10.1186/s12934-017-0691-z.

LEE, S. G. *et al.* Impact of orange juice consumption on bone health of the U.S. population in the national health and nutrition examination survey 2003-2006. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 10, p. 1142–1150, 2014. DOI 10.1089/jmf.2013.0072.

LI, D. *et al.* Microbial biogeography and core microbiota of the rat digestive tract. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–16, 2017. DOI 10.1038/srep45840.

LI, H. *et al.* Probiotic mixture of *Lactobacillus plantarum* strains improves lipid metabolism and gut microbiota structure in high fat diet-fed mice. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1–17, 2020. DOI 10.3389/fmicb.2020.00512.

LI, J. *et al.* Bilberry anthocyanin extract promotes intestinal barrier function and inhibits digestive enzyme activity by regulating the gut microbiota in aging rats. **Food and Function**, v. 10, p. 333–343, 2019. DOI 10.1039/c8fo01962b.

LI, L. *et al.* Microbial osteoporosis: The interplay between the gut microbiota and bones via host metabolism and immunity. **MicrobiologyOpen**, v. 8, p. 1–15, 2019. DOI 10.1002/mbo3.810.

LICHT, T. R. *et al.* Effects of apples and specific apple components on the cecal environment of conventional rats: Role of apple pectin. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 13, p. 1–11, 2010. DOI 10.1186/1471-2180-10-13.

LOUIS, P.; FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29–41, 2017. DOI 10.1111/1462-2920.13589.

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 12, p. 8228–8235, 2005. DOI 10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005.

MCNULTY, N. P. *et al.* The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. **Science Translational Medicine**, v. 3, n. 106, p. 1–14, 2011. DOI 10.1126/scitranslmed.3002701.

MEEHAN, C. J.; BEIKO, R. G. A phylogenomic view of ecological specialization in the *Lachnospiraceae*, a family of digestive tract-associated bacteria. **Genome Biology and Evolution**, v. 6, n. 3, p. 703–713, 2014. DOI 10.1093/gbe/evu050.

MENG, Y. *et al.* Effects of different diets on microbiota in the small intestine mucus and weight regulation in rats. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1–12, 2019. DOI 10.1038/s41598-019-44994-7.

MONK, J. M. *et al.* Navy and black bean supplementation primes the colonic mucosal microenvironment to improve gut health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 49, p. 89–100, 2017. DOI 10.1016/j.jnutbio.2017.08.002.

MONTALTO, M. *et al.* Intestinal microbiota and its functions. **Digestive and Liver Disease Supplements**, v. 3, p. 30–34, 2009. DOI 10.1016/S1594-5804(09)60016-4.

MORRISON, D. J; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut Microbes**, v. 7, n. 3, p. 189–200, 2016. DOI 10.1080/19490976.2015.1134082.

NAGPAL, R. *et al.* Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1–15, 2018. DOI 10.1038/s41598-018-30114-4.

NICHOLSON, J. K. *et al.* Host-gut microbiota metabolic interactions. **Science**, v. 336, p. 1262–1268, 2012.

NOCE, A. *et al.* Impact of gut microbiota composition on onset and progression of chronic non-communicable diseases. **Nutrients**, v. 11, p. 1–35, 2019. DOI doi:10.3390/nu11051073.

OHARA, T.; MORI, T.. Antiproliferative effects of short-chain fatty acids on human colorectal cancer cells via gene expression inhibition. **Anticancer Research**, v. 39, p. 4659–4666, 2019. DOI 10.21873/anticancer.13647.

OLIVEIRA, M. N. Fermented milks: Fermented milks and yogurt. In: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. L. (org.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. Second edi

ed. [s.l.]: Elsevier Ltd., 2014. v. 1. p. 908–922. DOI 10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X.

PACHECO, M. T.; MORENO, F. J.; VILLAMIEL, M. Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 2, p. 868–876, 2019. DOI 10.1002/jsfa.9257.

PEREIRA, F. C. *et al.* Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces *Clostridiodes difficile* colonization. **Nature Communications**, v. 11, p. 1–15, 2020. DOI 10.1038/s41467-020-18928-1.

PLAZA-DÍAZ, J. *et al.* Adamdec1, Ednrb and Ptgs1/Cox1, inflammation genes upregulated in the intestinal mucosa of obese rats, are downregulated by three probiotic strains. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–10, 2017. DOI 10.1038/s41598-017-02203-3.

PRYNNE, C. J. *et al.* Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: A cross-sectional study in 5 age and sex cohorts. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, p. 1420–1428, 2006. DOI 10.1093/ajcn/83.6.1420.

QUAST, C. *et al.* The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. 590–596, 2013. DOI 10.1093/nar/gks1219.

QUATRIN, A. *et al.* Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 1–14, 2020. DOI 10.1016/j.jff.2019.103714.

RACHNER, T. D.; KHOSLA, S.; HOFBAUER, L. C. Osteoporosis: Now and the future. **The Lancet**, v. 377, n. 9, p. 1276–1287, 2011. DOI 10.1016/S0140-6736(10)62349-5.

RINNINELLA, E. *et al.* Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. **Nutrients**, v. 11, p. 1–23, 2019. DOI doi:10.3390/nu11102393.

RÍOS-COVIÁN, D. *et al.* Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1–9, 2016. DOI 10.3389/fmicb.2016.00185.

RIZZOLI, R. Dairy products, yogurts, and bone health. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, p. 1256–1262, 2014. DOI 10.3945/ajcn.113.073056.1.

RIZZOLI, R. Postmenopausal osteoporosis: Assessment and management. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 32, p. 739–757, 2018. DOI 10.1016/j.beem.2018.09.005.

RIZZOLI, R.; BIVER, E. Chapter 29 - Yogurt Consumption and Impact on Bone Health. In: SHAH, Nagendra P. (org.). **Yogurt in Health and Disease Prevention**. [s.l.]: Academic Press, 2017. p. 507–524. DOI <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00029-8>.

RODRIGUES, F. C. *et al.* Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats. **Journal of Medicinal Food**, v. 15, n. 7, p. 664–670, 2012. DOI 10.1089/jmf.2011.0296.

ROZENBERG, S. *et al.* Effects of dairy products consumption on health: Benefits and beliefs — A commentary from the belgian bone club and the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and

musculoskeletal diseases. **Calcified Tissue International**, v. 98, n. 1, p. 1–17, 2016. DOI 10.1007/s00223-015-0062-x.

SCHIASI, M. C. E. V. *et al.* Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 245, p. 305–311, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.10.104.

SHANNON, C. E. A Mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379–423, 1948. DOI 10.1002/j.1538-7305.1948.tb00917.x.

SHASTRI, P. *et al.* Sex differences in gut fermentation and immune parameters in rats fed an oligofructose-supplemented diet. **Biology of Sex Differences**, v. 6, n. 13, p. 1–12, 2015. DOI 10.1186/s13293-015-0031-0.

SHTRIKER, M. G. *et al.* Fenugreek galactomannan and citrus pectin improve several parameters associated with glucose metabolism and modulate gut microbiota in mice. **Nutrition**, v. 46, p. 134–142, 2018. DOI 10.1016/j.nut.2017.07.012.

SILVA, J. G. S. *et al.* Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. **Food Research International**, v. 97, p. 162–169, 2017. DOI 10.1016/j.foodres.2017.04.005.

SIVAMARUTHI, B. S.; KESIKA, P.; CHAIYASUT, C. A mini-review of human studies on cholesterol-lowering properties of probiotics. **Scientia Pharmaceutica**, v. 87, n. 4, 2019. DOI 10.3390/scipharm87040026.

SIVIERI, K. *et al.* *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 improved “gut health” in the SHIME® reactor. **BMC Gastroenterology**, v. 13, n. 100, p. 1–9, 2013. DOI 10.1186/1471-230X-13-100.

SO, D. *et al.* Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 107, p. 965–983, 2018. DOI 10.1093/ajcn/nqy041.

SPINA, L. *et al.* Butyric acid: Pharmacological aspects and routes of administration. **Digestive and Liver Disease Supplements**, v. 1, p. 7–11, 2007. DOI 10.1016/S1594-5804(08)60004-2.

STOJANOV, S.; BERLEC, A.; ŠTRUKELJ, B. The influence of probiotics on the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. **Microorganisms**, v. 8, p. 1–16, 2020. DOI doi.org/10.3390/microorganisms8111715.

SUN, Y.; O'RIORDAN, M. X. D. Regulation of bacterial pathogenesis by intestinal short-chain fatty acids. **Advances in Applied Microbiology**, v. 85, p. 93–118, 2013. DOI 10.1016/B978-0-12-407672-3.00003-4.

TEJADA-ORTIGOZA, V. *et al.* In vitro fecal fermentation of high pressure-treated fruit peels used as dietary fiber sources. **Molecules**, v. 24, p. 1–16, 2019. DOI 10.3390/molecules24040697.

THIENNIMITR, P. *et al.* *Lactobacillus paracasei* HII01, xylooligosaccharides, and synbiotics reduce gut disturbance in obese rats. **Nutrition**, v. 54, p. 40–47, 2018. DOI 10.1016/j.nut.2018.03.005.

UNNO, T. *et al.* Changes in human gut microbiota influenced by probiotic fermented milk ingestion. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 3568–3576, 2015. DOI 10.3168/jds.2014-8943.

UNNO, T.; HISADA, T.; TAKAHASHI, S. Hesperetin modifies the composition of fecal microbiota and increases cecal levels of short-chain fatty acids in rats. **Journal**

of **Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 7952–7957, 2015. DOI 10.1021/acs.jafc.5b02649.

VACCA, M. *et al.* The controversial role of human gut *Lachnospiraceae*. **Microorganisms**, v. 8, p. 1–25, 2020. DOI 10.3390/microorganisms8040573.

VEIGA, P. *et al.* Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product. **Scientific Reports**, v. 4, p. 1–9, 2014. DOI 10.1038/srep06328.

VIEIRA, G. A. L. *et al.* Marine associated microbial consortium applied to RBBR textile dye detoxification and decolorization: Combined approach and metatranscriptomic analysis. **Chemosphere**, v. 267, p. 1–12, 2021. DOI 10.1016/j.chemosphere.2020.129190.

VONG, M. H.; STEWART, M. L. In vitro bacterial fermentation of tropical fruit fibres. **Beneficial Microbes**, v. 4, n. 3, p. 291–295, 2013. DOI 10.3920/BM2013.0006.

WAN, M. L. Y. *et al.* Influence of functional food components on gut health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 12, p. 1927–1936, 2019. DOI 10.1080/10408398.2018.1433629.

WANG, M. *et al.* The effect of probiotics and polysaccharides on the gut microbiota composition and function of weaned rats. **Food and Function**, v. 9, p. 1864–1877, 2018. DOI 10.1039/c7fo01507k.

WONG, J. M. W. *et al.* Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 40, n. 3, p. 235–243, 2006. DOI 10.1097/00004836-200603000-00015.

XU, X. *et al.* Intestinal microbiota: a potential target for the treatment of postmenopausal osteoporosis. **Bone Research**, v. 5, p. 1–18, 2017. DOI 10.1038/boneres.2017.46.

YOON, K.; KIM, N. The effect of microbiota on colon carcinogenesis. **Journal of Cancer Prevention**, v. 23, n. 3, p. 117–125, 2018. DOI 10.15430/jcp.2018.23.3.117.

ZHAO, G.; NYMAN, M.; JÖNSSON, J. Å. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. **Biomedical chromatography**, v. 20, p. 674–682, 2006. DOI 10.1002/bmc.580.

8 FIGURAS

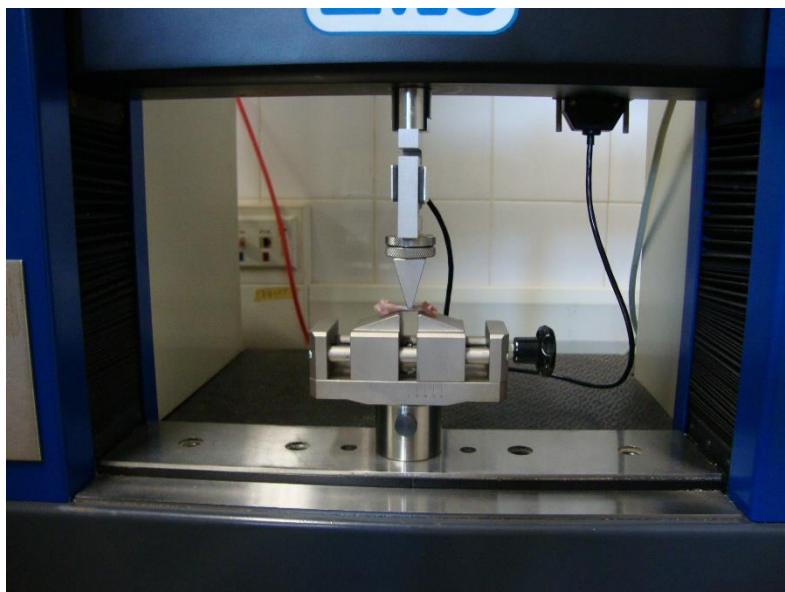


Figure 1: Illustrative representation of three-point bending test in rat femurs.

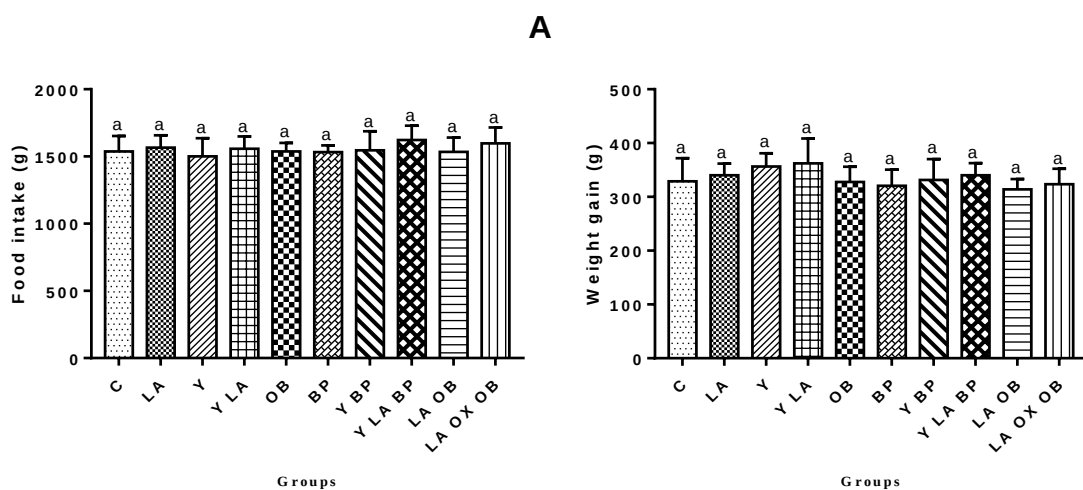


Figure 2: Food intake (**A**) and Weight gain (**B**) of experimental groups. Data are presented in mean and SD. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

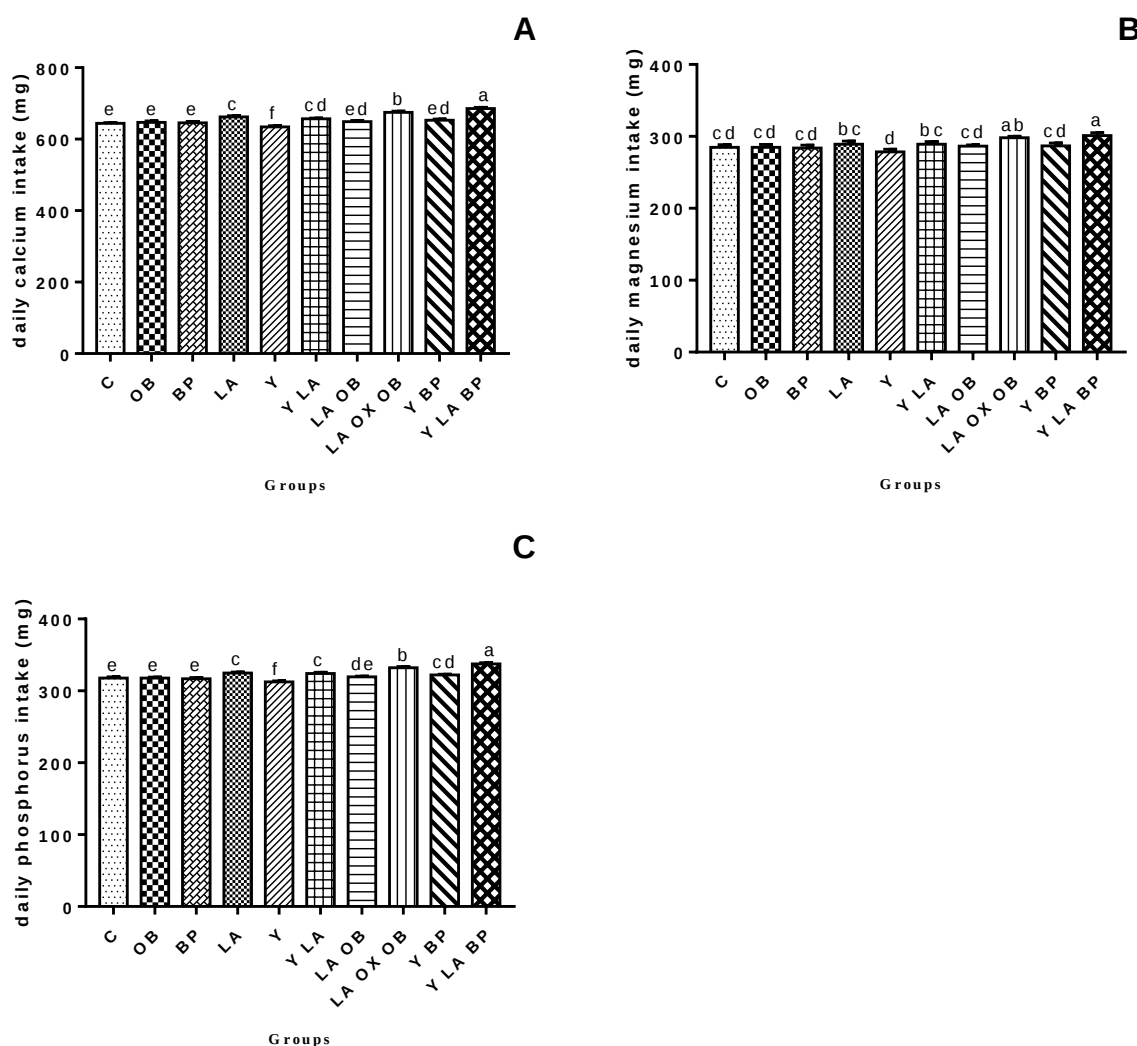
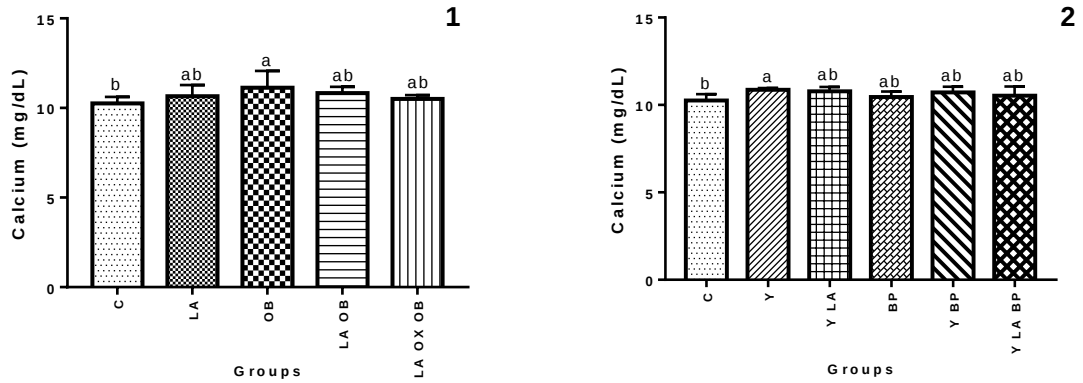
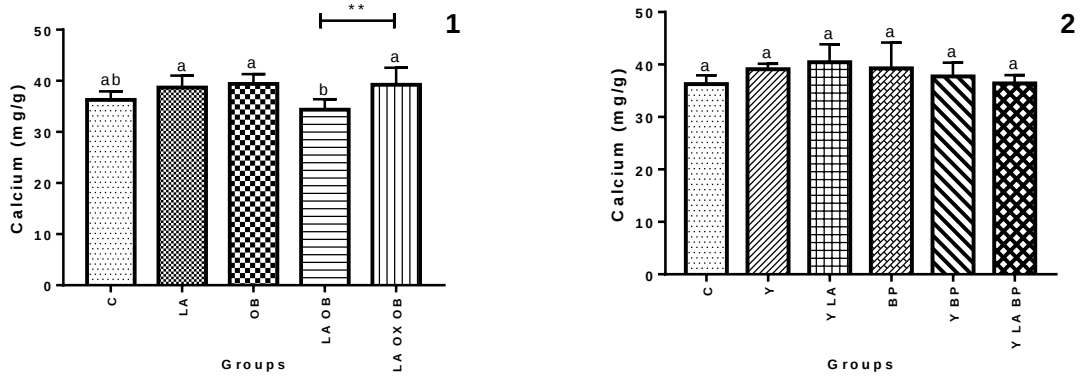


Figure 3: Daily intake of calcium (A), magnesium (B) and phosphorus (C) in control and experimental groups. Data are presented in mean and SD. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt.

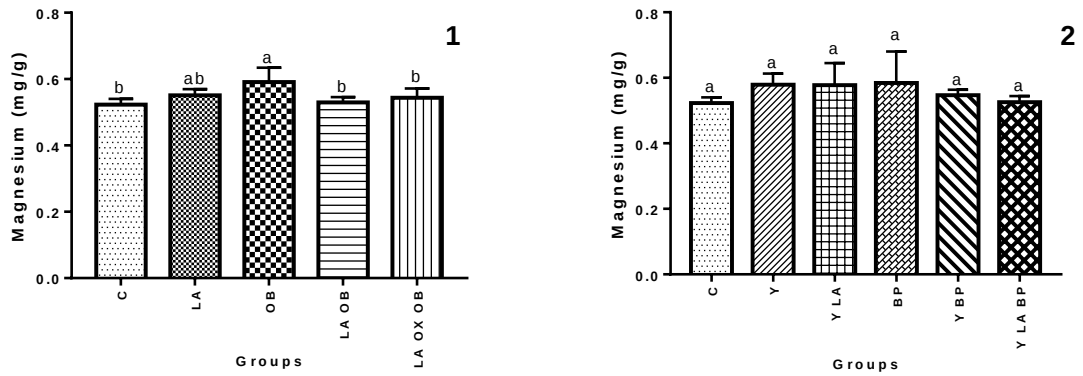
A



B



C



D

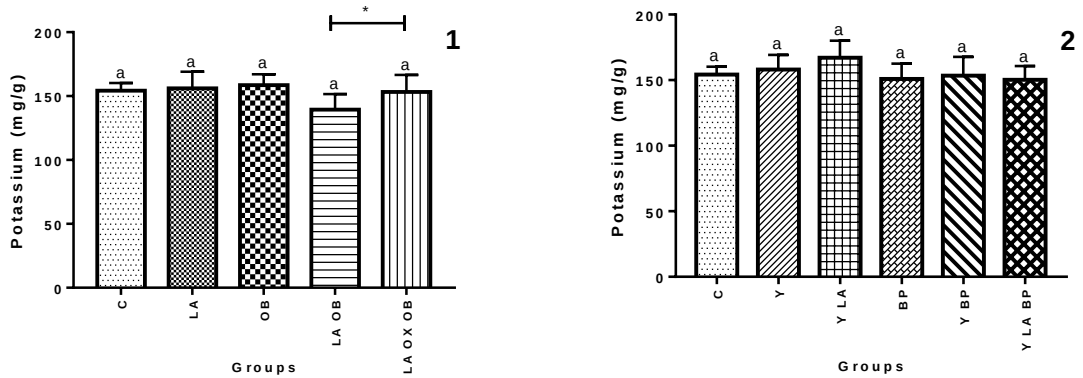


Figure 4: Mineral content in serum (**A**) and femur (**B**, **C** and **D**) of rats feed fermented milk products (**1**), yogurt (**2**) and their respective controls. Data are presented in mean and SD, **A** and **B** represent calcium content, **C** magnesium content and **D** potassium content. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. ** Indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. * Indicate statistically significant difference at $p < 0.1$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

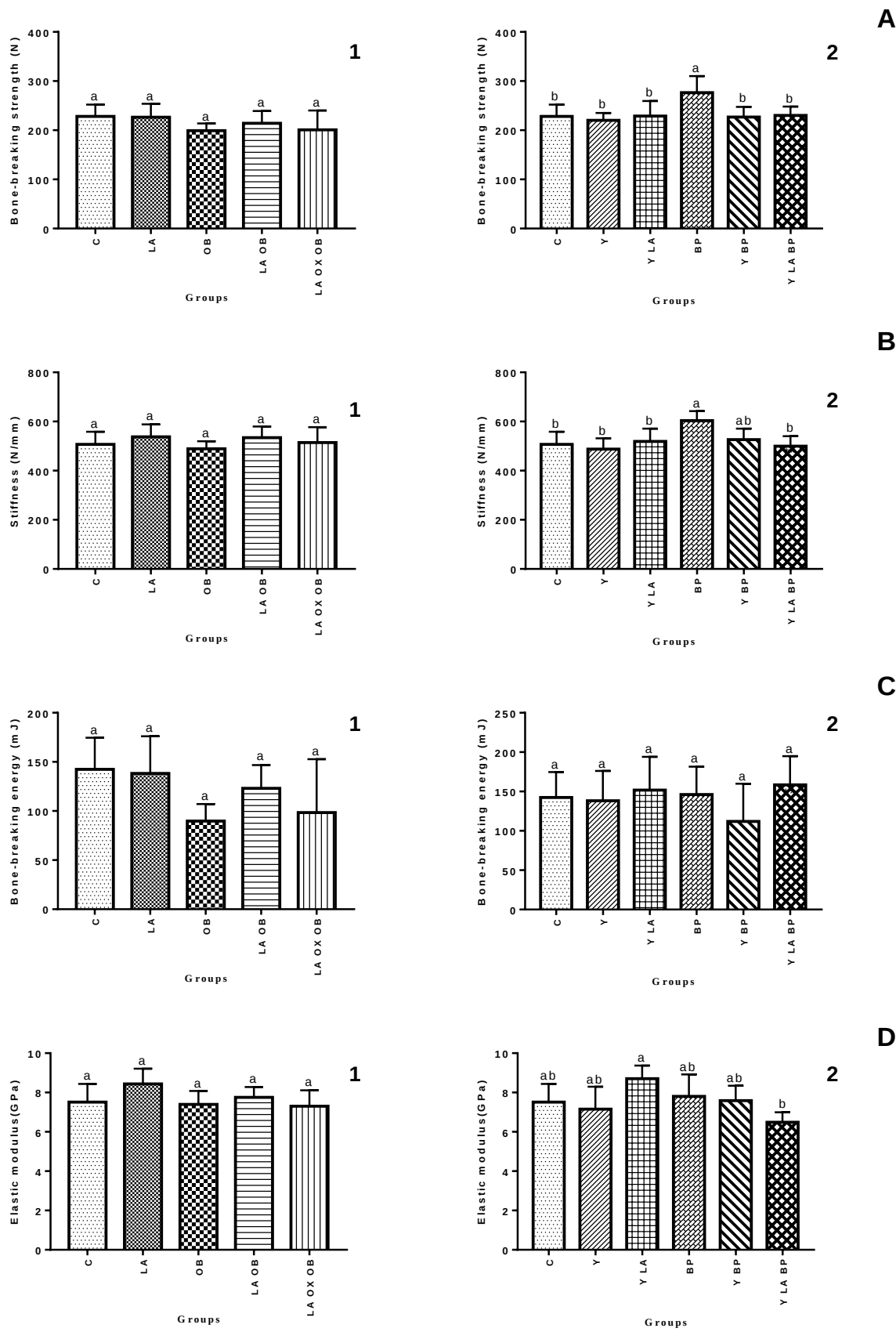


Figure 5: Bone-breaking strength (**A**), Stiffness (**B**), Bone-breaking energy (**C**) and Elastic modulus (**D**) of rat femurs feed with fermented milk products (**1**), yogurt (**2**) and their respective controls. Data are presented in mean and SD. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

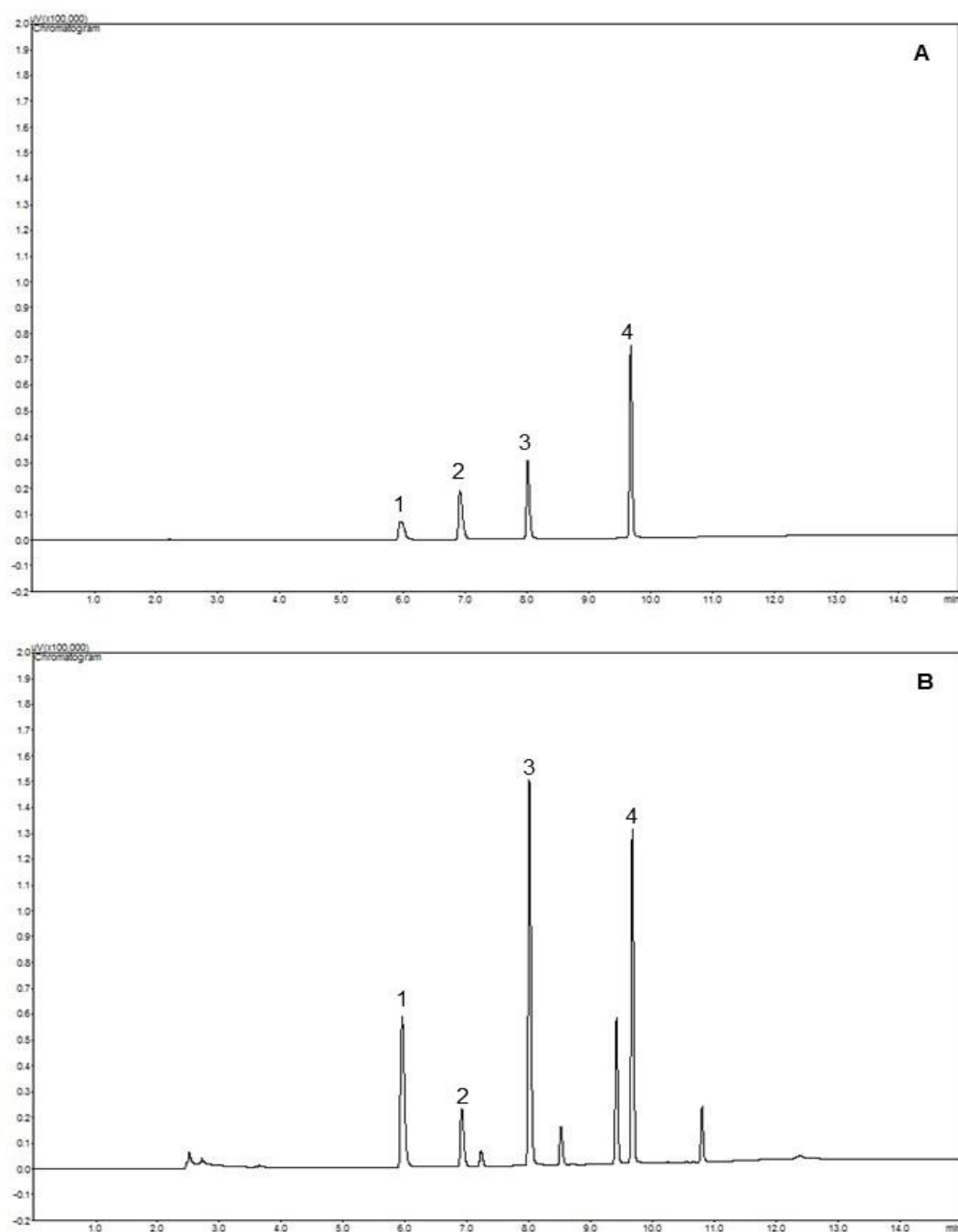


Figure 6: Chromatogram illustrating the separation of SCFA components in (A) 1.07 mM standard solution and (B) in a stool sample analyze in this study. 1 = acetic acid, 2 = propionic acid, 3 = butyric acid, 4 = 2 ethyl-butyric acid (internal standard).

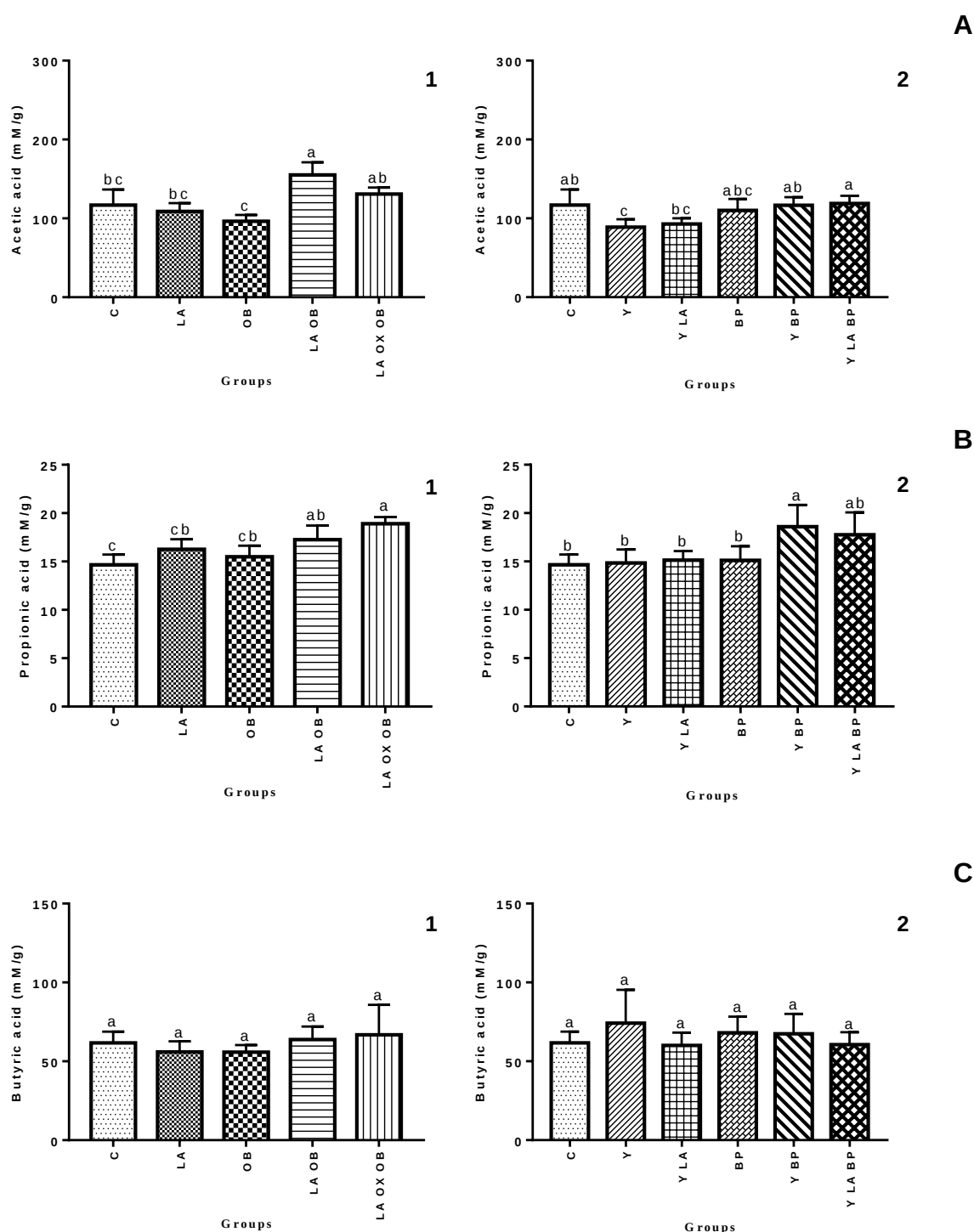


Figure 7: Short-chain fatty acids in cecum stool of rats feed with fermented milk products (1), yogurt (2) and their respective controls. Acetic acid (A), Propionic acid (B) and Butyric acid (C). Data are presented in mean and SD. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

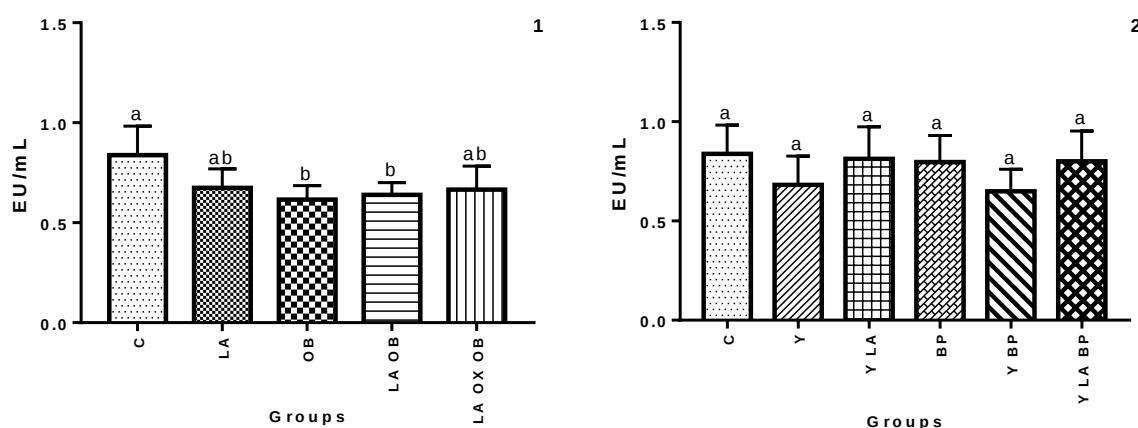


Figure 8: Lipopolysaccharide (LPS) in serum of rats feed with fermented milk products (1), yogurt (2) and their respective controls. Data are presented in mean and SD. Different letters indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

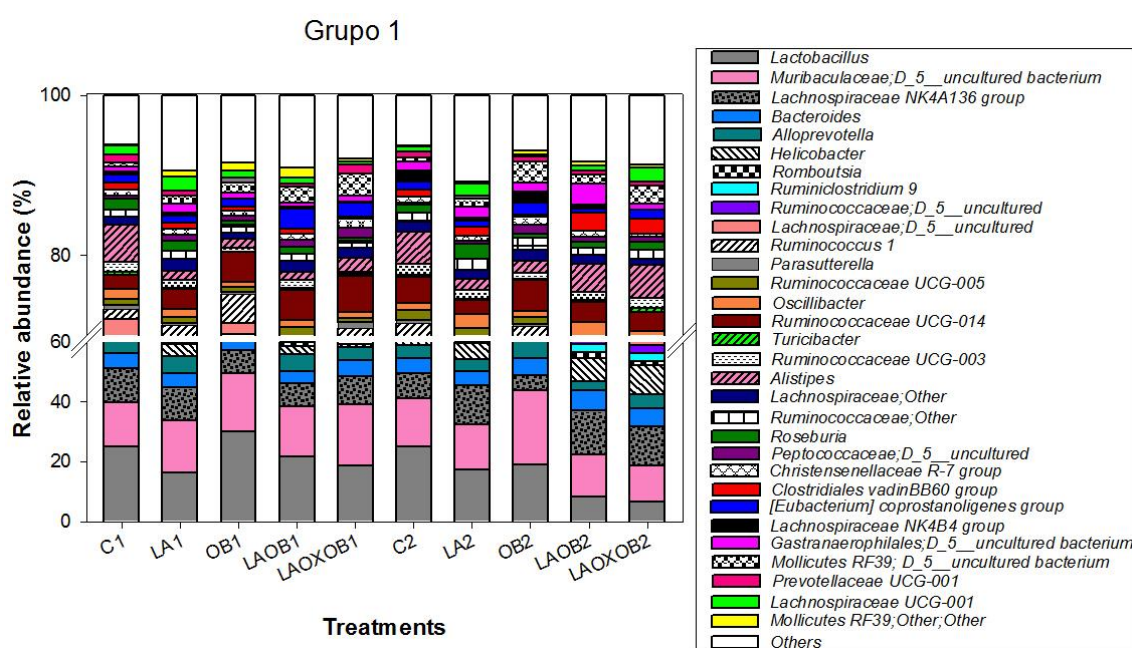


Figure 9: Relative abundance of bacterial families and genera in the group 1 (fermented milk products and their respective controls) after 30 and 60 days of treatment (1 and 2 abbreviation's respectively). Other abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; OB = orange bagasse solution; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk. Analysis based on the 16S rRNA amplicon sequences, classified with the SILVA database (132 database).

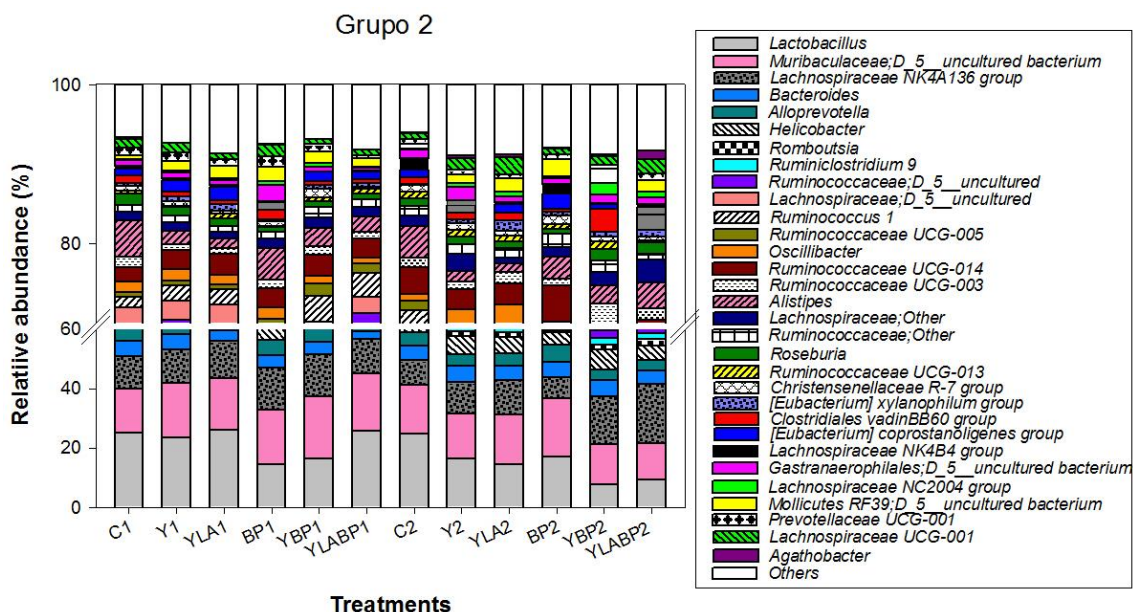


Figure 10: Relative abundance of bacterial families and genera in the group 2 (yogurts and their respective controls) after 30 and 60 days of treatment (1 and 2 abbreviation's respectively). Other abbreviation's: C = control; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt. Analysis based on the 16S rRNA amplicon sequences, classified with the SILVA database (132 database).

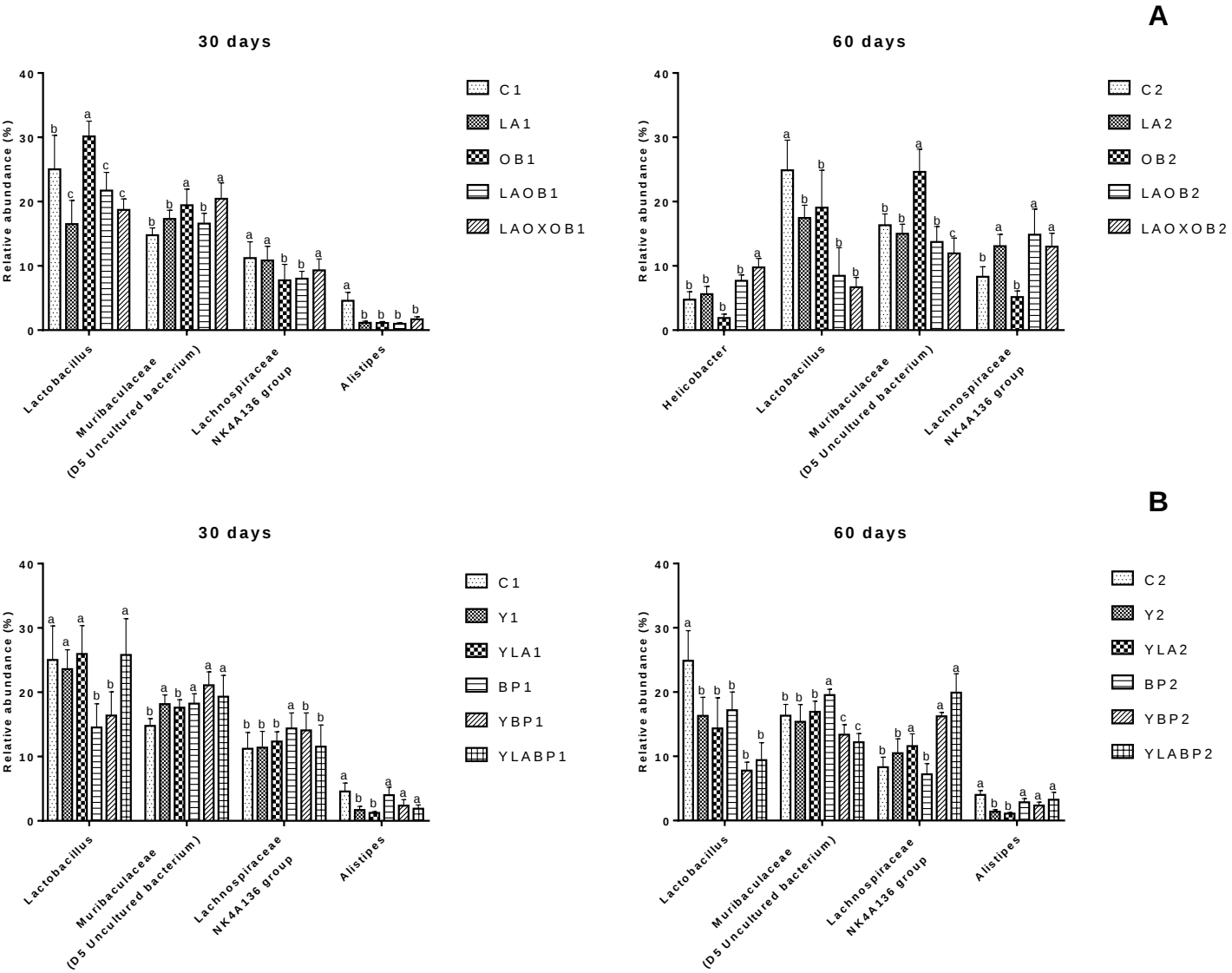


Figure 11. Relative abundance representation of significative bacterial families and genera in the group 1 (fermented milk products and their respective controls) **(A)** and group 2 (yogurts and their respective controls) **(B)** after 30 and 60 days of treatment (1 and 2 abbreviation's respectively). Data are expressed as means $\pm$ SE. Different letters indicate statistical differences by Dunnett's test ($p < 0.05$) set comparisons with **control group (C)**. Other abbreviation's: LA = Natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = Yogurt; YLA = Natural *L. acidophilus* yogurt; OB = Orange bagasse solution; BP = Buriti pulp solution; YBP = Buriti pulp yogurt; YLA BP = Buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LAOB = Orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LAOXOB = Orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk. Analysis based on the 16S rRNA amplicon sequences, classified with the SILVA database (132 database).

9 TABELAS

Table 1: Bone densitometry parameters of femur after experimental diet consumption.

Parameters	C	LA	Y	Y LA	OB	BP	Y BP	Y LA BP	LA OB	LA OX OB
BCM (g)	0.40±0.03 ^a	0.43±0.02 ^a	0.40±0.02 ^a	0.40±0.03 ^a	0.37±0.02 ^a	0.39±0.03 ^a	0.40±0.03 ^a	0.42±0.03 ^a	0.39±0.03 ^a	0.42±0.03 ^a
BMD (g/cm²)	0.24±0.01 ^a	0.24±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.02 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a	0.23±0.01 ^a
Área (cm²)	1.65±0.14 ^a	1.76±0.09 ^a	1.73±0.08 ^a	1.73±0.06 ^a	1.64±0.10 ^a	1.67±0.12 ^a	1.70±0.08 ^a	1.81±0.08 ^a	1.71±0.13 ^a	1.74±0.12 ^a
Volume (cm³)	0.84±0.10 ^a	0.89±0.06 ^a	0.87±0.05 ^a	0.84±0.11 ^a	0.83±0.04 ^a	0.83±0.03 ^a	0.86±0.05 ^a	0.90±0.05 ^a	0.90±0.11 ^a	0.92±0.06 ^a
Diaphysis (cm)	2.03±0.21 ^a	1.92±0.17 ^a	1.88±0.21 ^a	2.09±0.33 ^a	1.97±0.23 ^a	2.05±0.28 ^a	2.14±0.18 ^a	2.07±0.13 ^a	2.09±0.11 ^a	2.12±0.14 ^a
Proximal Metaphysis (cm)	0.75±0.13 ^a	0.83±0.15 ^a	0.73±0.11 ^a	0.71±0.11 ^a	0.76±0.10 ^a	0.78±0.15 ^a	0.71±0.02 ^a	0.83±0.10 ^a	0.67±0.07 ^a	0.70±0.08 ^a
Distal Metaphysis (cm)	0.79±0.14 ^a	0.94±0.16 ^a	0.88±0.11 ^a	0.71±0.08 ^a	0.85±0.12 ^a	0.78±0.11 ^a	0.79±0.08 ^a	0.71±0.12 ^a	0.91±0.13 ^a	0.76±0.08 ^a
Total length (cm)	3.47±0.18 ^a	3.65±0.21 ^a	3.48±0.16 ^a	3.62±0.14 ^a	3.58±0.12 ^a	3.61±0.19 ^a	3.65±0.11 ^a	3.59±0.07 ^a	3.63±0.09 ^a	3.59±0.07 ^a

Mean ± SD. Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

Table 2. Alpha diversity results (ace, chao1, shannon, goods_coverage, Otus, Simpson) obtained for all samples by analysis based on the 16S rRNA amplicon sequences.

Groups	ace	chao1	shannon	goods_coverage	Otus	simpson
C1	1182,3 ± 194,3 ^a	1211,0 ± 221,8 ^a	6,5 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	517,3 ± 59,6 ^a	0,96 ± 0,02 ^a
LAOXOB1	1210,1 ± 89,4 ^a	1224,6 ± 88,5 ^a	6,7 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	523,0 ± 44,6 ^a	0,97 ± 0,01 ^a
LA1	1259,9 ± 68,6 ^a	1259,1 ± 135,8 ^a	6,9 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	560,7 ± 21,1 ^a	0,97 ± 0,02 ^a
Y1	1198,5 ± 128,0 ^a	1173,1 ± 106,9 ^a	6,8 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	551,3 ± 40,9 ^a	0,97 ± 0,01 ^a
YLA1	1149,0 ± 131,2 ^a	1109,1 ± 159,0 ^a	6,8 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	536,7 ± 37,3 ^a	0,97 ± 0,02 ^a
OB2	1096,3 ± 89,3 ^a	1048,2 ± 62,8 ^a	6,5 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	509,1 ± 35,9 ^a	0,96 ± 0,02 ^a
BP1	1182,0 ± 57,3 ^a	1128,8 ± 73,1 ^a	6,8 ± 0,2 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	523,3 ± 16,4 ^a	0,97 ± 0,01 ^a
YBP1	1201,6 ± 143,2 ^a	1172,1 ± 119,5 ^a	6,7 ± 0,5 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	526,7 ± 59,8 ^a	0,97 ± 0,03 ^a
YLABP1	1090,3 ± 158,3 ^a	1056,5 ± 147,5 ^a	6,4 ± 0,6 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	506,5 ± 53,6 ^a	0,95 ± 0,05 ^a
LAOB1	1123,1 ± 210,3 ^a	1079,1 ± 188,2 ^a	6,9 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	536,8 ± 78,7 ^a	0,98 ± 0,01 ^a
C2	1167,3 ± 164,8 ^a	1159,8 ± 170,8 ^a	6,6 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	512,2 ± 65,8 ^a	0,97 ± 0,02 ^a
LAOXOB2	1172,6 ± 135,7 ^a	1157,5 ± 182,8 ^a	6,8 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	545,7 ± 39,3 ^a	0,98 ± 0,01 ^a
LA2	1099,6 ± 73,7 ^a	1095,8 ± 71,4 ^a	6,8 ± 0,1 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	530,3 ± 13,0 ^a	0,98 ± 0,00 ^a
Y2	1180,7 ± 129,4 ^a	1158,7 ± 135,9 ^a	6,9 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	561,0 ± 41,2 ^a	0,98 ± 0,01 ^a
YLA2	1240,5 ± 141,0 ^a	1290,5 ± 210,4 ^a	6,9 ± 0,3 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	559,0 ± 34,3 ^a	0,98 ± 0,01 ^a
OB2	1180,1 ± 72,8 ^a	1186,1 ± 108,2 ^a	6,7 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	530,3 ± 35,0 ^a	0,97 ± 0,01 ^a
BP2	1230,6 ± 73,9 ^a	1301,3 ± 87,5 ^a	6,9 ± 0,2 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	557,2 ± 22,7 ^a	0,98 ± 0,00 ^a
YBP2	1189,6 ± 55,2 ^a	1163,2 ± 29,1 ^a	7,0 ± 0,1 ^a	0,93 ± 0,00 ^a	568,7 ± 16,3 ^a	0,98 ± 0,00 ^a
YLABP2	1231,3 ± 97,6 ^a	1220,7 ± 106,5 ^a	6,9 ± 0,2 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	562,3 ± 39,3 ^a	0,98 ± 0,00 ^a
LAOB2	1192,6 ± 104,5 ^a	1135,1 ± 98,1 ^a	6,7 ± 0,4 ^a	0,93 ± 0,01 ^a	540,3 ± 47,5 ^a	0,97 ± 0,03 ^a

Data are expressed as means ± SD. Different superscript letters on the same row indicate statistical differences by Tukey test ($p < 0.05$). Abbreviation's: 1 = 30 days of treatment; 2 = 60 days of treatment; C = Control; LA = Natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = Yogurt; YLA = Natural *L. acidophilus* yogurt; OB = Orange bagasse solution; BP = Buriti pulp solution; YBP = Buriti pulp yogurt; YLA BP = Buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LAOB = Orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LAOXOB = Orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

Table 3. Relative abundance (%) of bacterial phylum of fermented milks (G1) inferred from 16S rRNA gene sequencing analysis after **30 days** of treatment.

Phylum	Groups				
	C	LA	OB	LAOB	LAOXOB
<i>Firmicutes</i>	61,7 ± 5,7 ^a	57,5 ± 7,7 ^a	61,6 ± 6,0 ^a	61,3 ± 3,4 ^a	58,2 ± 10,7 ^a
<i>Bacteroidetes</i>	31,0 ± 6,4 ^a	30,1 ± 5,9 ^a	29,5 ± 7,7 ^a	27,9 ± 5,8 ^a	33,2 ± 11,3 ^a
<i>Epsilonbacteraeota</i>	2,8 ± 1,4 ^a	4,2 ± 2,9 ^a	1,8 ± 1,3 ^a	2,8 ± 2,4 ^a	1,1 ± 0,7 ^a
<i>Tenericutes</i>	0,6 ± 0,4 ^a	2,1 ± 1,8 ^a	2,6 ± 0,8 ^a	3,2 ± 2,0 ^a	3,2 ± 2,6 ^a
<i>Cyanobacteria</i>	0,8 ± 0,7 ^a	1,1 ± 0,6 ^a	0,9 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,5 ^a	0,9 ± 1,0 ^a
<i>Proteobacteria</i>	0,7 ± 1,0 ^a	0,7 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,5 ± 0,4 ^a	0,8 ± 0,7 ^a
<i>Actinobacteria</i>	0,1 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,2 ^a
<i>Elusimicrobia</i>	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,2 ^a	0,2 ± 0,2 ^a	0,2 ± 0,4 ^a	0,1 ± 0,1 ^a
Others	2,2 ± 1,7 ^a	4,1 ± 1,8 ^a	3,1 ± 1,0 ^a	3,5 ± 1,7 ^a	2,4 ± 1,0 ^a

Data are expressed as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate statistical differences by Dunnett's test ($p < 0.05$) set comparisons with control group (C). Abbreviations were as follow: C = control received standard diet; LA = Natural *L. acidophilus* fermented milk; OB = Orange bagasse solution; LAOB = Orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LAOXOB = Orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

Table 4. Relative abundance (%) of bacterial phylum of fermented milks (G1) inferred from 16S rRNA gene sequencing analysis after **60 days** of treatment.

Phylum	Groups				
	C	LA	OB	LAOB	LAOXOB
<i>Firmicutes</i>	60,4 ± 6,8 ^a	59,7 ± 7,0 ^a	52,7 ± 10,1 ^b	55,8 ± 10,6 ^a	55,4 ± 7,2 ^a
<i>Bacteroidetes</i>	30,9 ± 5,1 ^b	25,6 ± 4,8 ^b	38,4 ± 11,4 ^a	28 ± 10,6 ^b	27,5 ± 9,6 ^b
<i>Epsilonbacteraeota</i>	4,8 ± 3,0 ^a	5,6 ± 3,0 ^a	1,9 ± 1,3 ^a	7,7 ± 2,2 ^a	9,8 ± 3,4 ^a
<i>Tenericutes</i>	0,8 ± 0,9 ^a	1,6 ± 0,9 ^a	3,0 ± 1,0 ^a	1,6 ± 0,7 ^a	2,6 ± 1,0 ^a
<i>Cyanobacteria</i>	1,1 ± 0,9 ^a	1,4 ± 0,6 ^a	1,2 ± 0,6 ^a	2,8 ± 2,3 ^a	0,9 ± 0,9 ^a
<i>Proteobacteria</i>	0,5 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,6 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,3 ^a	0,4 ± 0,3 ^a
<i>Actinobacteria</i>	0,1 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,2 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
<i>Elusimicrobia</i>	0,2 ± 0,2 ^a	0,2 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,3 ^a	0,5 ± 0,7 ^a	0,3 ± 0,4 ^a
Others	1,3 ± 0,6 ^a	5,3 ± 3,2 ^a	1,9 ± 0,4 ^a	3,0 ± 1,3 ^a	3,2 ± 2,4 ^a

Data are expressed as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate statistical differences by Dunnett's test ($p < 0.05$) set comparisons with control group (C). Abbreviations were as follow: C = control received standard diet; LA = Natural *L. acidophilus* fermented milk; OB = Orange bagasse solution; LAOB = Orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LAOXOB = Orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

Table 5. Relative abundance (%) of bacterial phylum of yogurts (G2) inferred from 16S rRNA gene sequencing analysis after **30 days** of treatment.

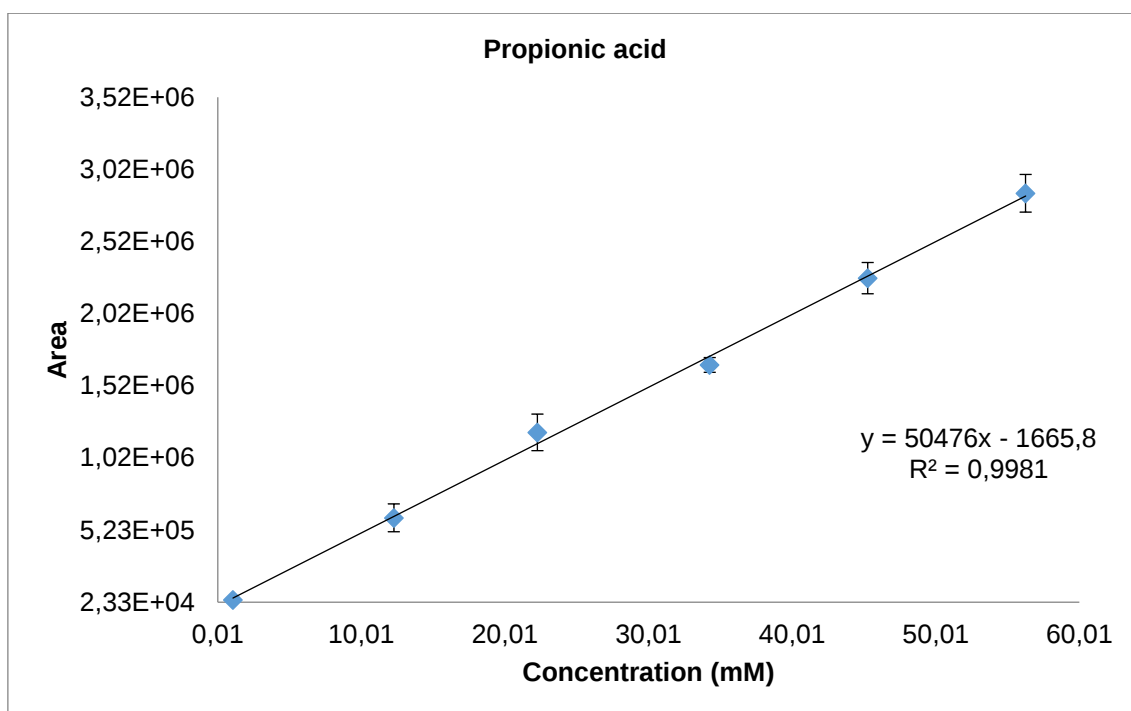
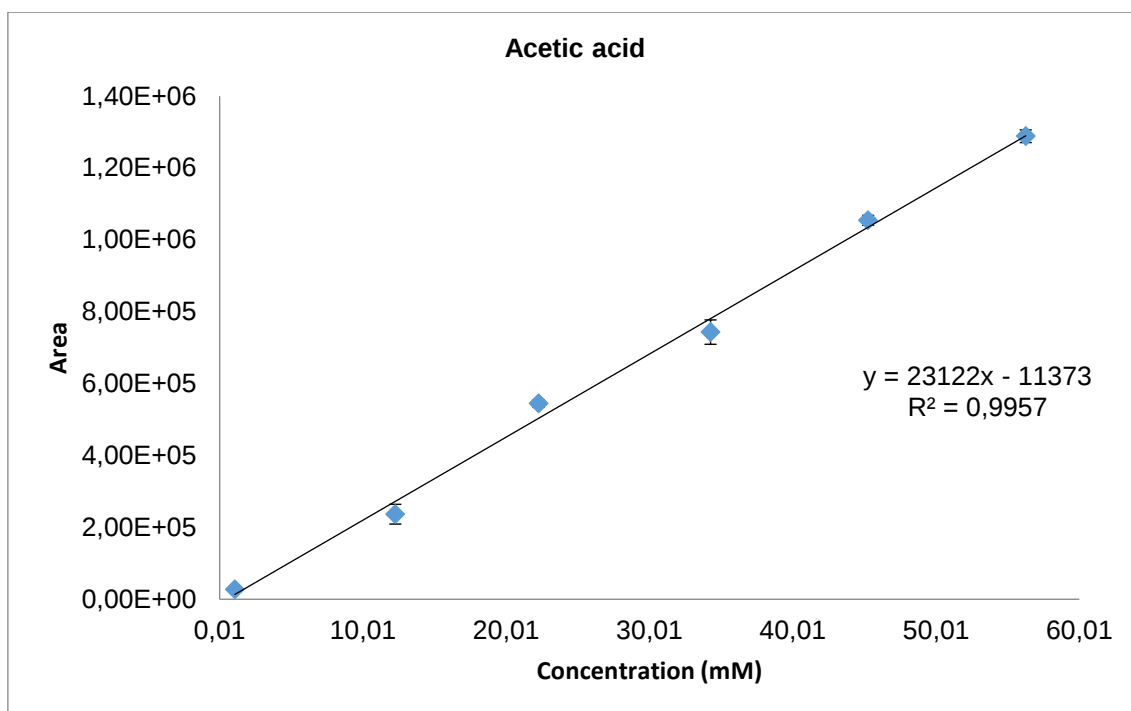
Phylum	Groups					
	C	Y	YLA	BP	YBP	YLABP
<i>Firmicutes</i>	61,7 ± 5,7 ^a	59,8 ± 7,2 ^a	63,3 ± 6,3 ^a	52,8 ± 8,0 ^b	57,9 ± 9,7 ^a	61,6 ± 10,2 ^a
<i>Bacteroidetes</i>	31,0 ± 6,4 ^a	30,9 ± 6,8 ^a	27,0 ± 5,5 ^a	33,1 ± 6,1 ^a	34,6 ± 8,6 ^a	30,5 ± 8,4 ^a
<i>Epsilonbacteraeota</i>	2,8 ± 1,4 ^a	3,1 ± 1,5 ^a	2,4 ± 0,7 ^a	5,4 ± 2,6 ^a	2,2 ± 1,0 ^a	1,6 ± 0,6 ^a
<i>Tenericutes</i>	0,6 ± 0,4 ^a	1,5 ± 0,6 ^a	2,1 ± 1,6 ^a	2,6 ± 1,6 ^a	1,9 ± 1,2 ^a	1,7 ± 1,8 ^a
<i>Cyanobacteria</i>	0,8 ± 0,7 ^a	0,8 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,4 ^a	2,3 ± 1,6 ^a	0,6 ± 0,5 ^a	0,4 ± 0,3 ^a
<i>Proteobacteria</i>	0,7 ± 1,0 ^a	1,2 ± 1,0 ^a	0,9 ± 0,6 ^a	0,5 ± 0,2 ^a	0,5 ± 0,4 ^a	0,4 ± 0,2 ^a
<i>Actinobacteria</i>	0,1 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,2 ^a	0,03 ± 0,1 ^a	0,03 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,1 ^a
<i>Elusimicrobia</i>	0,1 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,1 ^a	0,1 ± 0,2 ^a	0,03 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,2 ^a	0,02 ± 0,0 ^a
Others	2,2 ± 1,7 ^a	2,4 ± 0,6 ^a	3,5 ± 1,7 ^a	3,3 ± 0,9 ^a	2,2 ± 1,3 ^a	3,6 ± 2,6 ^a

Data are expressed as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate statistical differences by Dunnett's test ($p < 0.05$) set comparisons with control group (C). Abbreviations were as follow: C = control received standard diet; Y = Yogurt; YLA = Natural *L. acidophilus* yogurt; BP = Buriti pulp solution; YBP = Buriti pulp yogurt; YLA BP = Buriti pulp *L. acidophilus* yogurt.

Table 6. Relative abundance (%) of bacterial phylum of yogurts (G2) inferred from 16S rRNA gene sequencing analysis after **60 days** of treatment.

Phylum	Groups					
	C	Y	YLA	BP	YBP	YLABP
<i>Firmicutes</i>	60,4 ± 6,8 ^a	58,7 ± 6,7 ^a	59,1 ± 5,4 ^a	54,3 ± 6,2 ^b	60,4 ± 4,6 ^a	64,2 ± 11,3 ^a
<i>Bacteroidetes</i>	30,9 ± 5,1 ^a	27,0 ± 7,6 ^a	27,9 ± 4,7 ^a	34,1 ± 4,3 ^a	25,5 ± 5,3 ^b	24,6 ± 8,9 ^b
<i>Epsilonbacteraeota</i>	4,8 ± 3,0 ^a	6,3 ± 3,7 ^a	5,6 ± 3,4 ^a	4,4 ± 2,1 ^a	6,9 ± 2,4 ^a	4,8 ± 0,8 ^a
<i>Tenericutes</i>	0,8 ± 0,9 ^a	1,5 ± 1,4 ^a	2,2 ± 1,1 ^a	3,2 ± 1,8 ^a	2,1 ± 1,1 ^a	1,9 ± 1,9 ^a
<i>Cyanobacteria</i>	1,1 ± 0,9 ^a	1,9 ± 1,6 ^a	0,9 ± 0,5 ^a	0,8 ± 0,4 ^a	1,3 ± 0,8 ^a	1,0 ± 1,1 ^a
<i>Proteobacteria</i>	0,5 ± 0,3 ^a	1,1 ± 1,0 ^a	0,6 ± 0,4 ^a	0,5 ± 0,2 ^a	0,4 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,6 ^a
<i>Actinobacteria</i>	0,1 ± 0,2 ^a	0,1 ± 0,1 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,02 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
<i>Elusimicrobia</i>	0,2 ± 0,2 ^a	0,5 ± 0,4 ^a	0,3 ± 0,4 ^a	0,3 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,7 ^a	0,2 ± 0,3 ^a
Others	1,3 ± 0,6 ^a	3,1 ± 1,1 ^a	3,5 ± 2,3 ^a	2,5 ± 1,3 ^a	2,9 ± 1,3 ^a	2,7 ± 1,9 ^a

Data are expressed as means ± SD. Different superscript letters on the same line indicate statistical differences by Dunnett's test ($p < 0.05$) set comparisons with control group (C). Abbreviations were as follow: C = control received standard diet; Y = Yogurt; YLA = Natural *L. acidophilus* yogurt; BP = Buriti pulp solution; YBP = Buriti pulp yogurt; YLA BP = Buriti pulp *L. acidophilus* yogurt.

10 DADOS SUPLEMENTARES

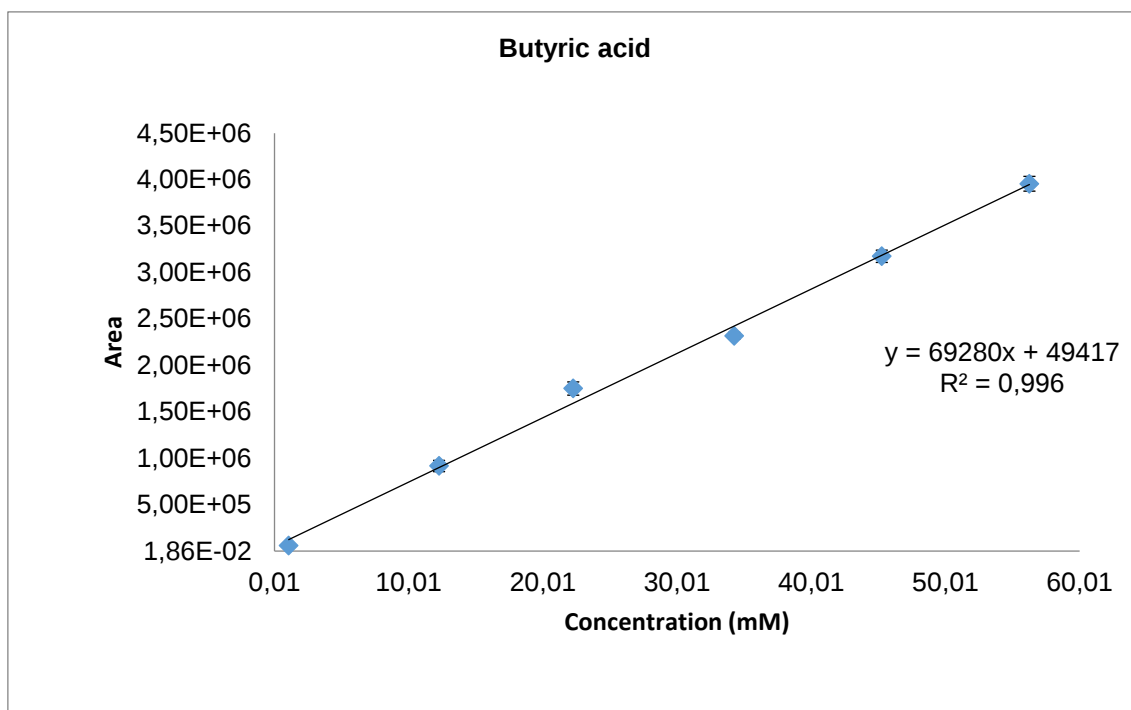


Figure 1: Acetic, propionic and butyric acid calibration curves.

Table 1: Daily intake of rat feed and content of calcium, magnesium and phosphorus in commercial rat feed and oral gavage products

Groups	Daily Rat feed Intake (g)	Ca content (mg/kg)	Mg content (mg/kg)	P content (mg/kg)
C**	25.6 ± 1.9 ^a	25209.8 ± 136.4	11107.0 ± 151.4	12399.0 ± 62.0
OB	25.6 ± 1.1 ^a	6067.0 ± 34.3	3846.0 ± 108.3	827.0 ± 16.1
BP	25.5 ± 0.8 ^a	9143.0 ± 189.4	2215.0 ± 111.6	1314.0 ± 58.6
LA	26.1 ± 1.5 ^a	1179.4 ± 144.3 ^a	197.8 ± 27.1 ^a	1103.2 ± 193.5 ^a
Y	25.0 ± 2.2 ^a	1121.7 ± 24.0 ^a	188.4 ± 03.4 ^a	790.1 ± 95.5 ^a
Y LA	26.0 ± 1.5 ^a	1371.3 ± 401.2 ^a	204.9 ± 40.6 ^a	1056.0 ± 293.4 ^a
LA OB	25.6 ± 1.8 ^a	1233.4 ± 337.7 ^a	209.4 ± 33.9 ^a	821.9 ± 261.5 ^a
LA OX OB	26.6 ± 1.9 ^a	1230.9 ± 393.6 ^a	215.1 ± 44.9 ^a	821.4 ± 125.1 ^a
Y BP	25.8 ± 2.3 ^a	1034.3 ± 28.1 ^a	211.0 ± 06.9 ^a	747.4 ± 48.2 ^a
Y LA BP	27.0 ± 1.8 ^a	1221.6 ± 343.9 ^a	238.1 ± 44.9 ^a	787.3 ± 211.2 ^a

** Rat feed.

Mean ± SD. Different letters in the same column indicate statistically significant difference at $p < 0.05$. Abbreviation's: C = control; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; Y LA = natural *L. acidophilus* yogurt; LA OB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LA OX OB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk; Y BP = buriti pulp yogurt; Y LA BP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt.

Table 2: Main validation parameters of the method for quantifying SCFA in stool samples.

Analyte	Slope (a)	Intercept (b)	R ²	LD (mM)	LQ (mM)
Acetic acid	23122	- 11373	0.9957	3.30	9.90
Propionic acid	50476	- 1665.8	0.9981	1.37	4.58
Butyric acid	69280	+ 49417	0.996	1.00	3.34

Table 3. Identification of samples and sequence numbers in the raw data of the sequencing, after assembly of the pairs and processing of quality control.

Groups	Number of Sequences		
	Raw data	After assembling the pairs	Processing quality control
C1	7344	7139	7112
LAOXOB1	7743	7575	7548
LA1	7037	6858	6831
Y1	6763	6589	6568
YLA1	7104	6918	6890
OB2	7834	7645	7619
BP1	6800	6666	6645
YBP1	7826	7629	7597
YLABP1	6458	6303	6282
LAOB1	7543	7312	7284
C2	8033	7845	7818
LAOXOB2	7622	7444	7412
LA2	6390	6243	6218
Y2	8651	8440	8407
YLA2	8018	7831	7800
OB2	8874	8653	8622
BP2	8031	7844	7821
YBP2	11099	10833	10793
YLABP2	8403	8179	8151
LAOB2	7930	7721	7696

*Average of 4 to 5 repetitions per sample. Abbreviation's: 1 = 30 days of treatment; 2 = 60 days of treatment; C = control; LA = natural *L. acidophilus* fermented milk; Y = yogurt; YLA = natural *L. acidophilus* yogurt; OB = orange bagasse solution; BP = buriti pulp solution; YBP = buriti pulp yogurt; YLABP = buriti pulp *L. acidophilus* yogurt; LAOB = orange bagasse *L. acidophilus* fermented milk; LAOXOB = orange bagasse *L. acidophilus* submitted to oxidative stress fermented milk.

DISCUSSÃO GERAL

Os benefícios da aplicação de probióticos “estressados” ou “adaptados” à condições de estresse no aumento de sua viabilidade durante o processo ou vida de prateleira de produtos fermentados, secos e, naturais processados como sucos, têm sido cada vez mais relatado pela literatura (BARBOSA; BORGES; TEIXEIRA, 2015; DESMOND *et al.*, 2002; SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015; SRISUKCHAYAKUL; CHARALAMPOPOULOS; KARATZA, 2018). No entanto, pouco ainda se sabe sobre os impactos destas culturas pré-submetidas ou pré-cultivadas em condições de estresse nas características físico-químicas, nutricionais e funcionais de produtos lácteos fermentados e, sobre a sua influência em parâmetros relacionados ao processo de fermentação. Nesse sentido, este trabalho visou elucidar os efeitos da adição de polpas de frutas (buriti) ou subprodutos de frutas (bagaço de laranja) no preparo de leites fermentados e iogurtes probióticos contendo *L. acidophilus* padrão ou pré-submetido à condições de estresse sobre a alteração do seu metaboloma e crescimento durante o processo de fermentação. E, posteriormente, avaliar o impacto desta alteração nas características funcionais e nutricionais destes produtos, visando avaliar seus potenciais efeitos benéficos à saúde assim como, a bioacessibilidade de carotenoides próvitamina A e cálcio.

Assim sendo, o primeiro capítulo abordou a influência da pré-exposição à condições de estresse (ácido, osmótico e oxidativo) nos parâmetros de crescimento e viabilidade de *L. acidophilus* em leites fermentados e iogurtes naturais, contendo subprodutos de frutas (bagaço de laranja) ou polpa de frutas (buriti). Neste capítulo observamos através de uma abordagem preditiva que a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse ácido, oxidativo e osmótico foi capaz de influenciar nos parâmetros cinéticos de crescimento ($\mu_{máx.}$ e λ) tanto deste micro-organismo como da cultura *starter* utilizada durante o processo de fermentação.

Até onde sabemos, o uso de modelos cinéticos na avaliação do crescimento de micro-organismos pré-submetidos a condições de estresse durante a fabricação de produtos lácteos fermentados ainda não é encontrado na literatura. No entanto, sabe-se que a aplicação destes modelos no desenvolvimento de novos produtos pode ser benéfica no sentido de melhor compreender as interações destes micro-organismos com as condições encontradas nos alimentos, potencializando o controle de processo através da visualização de perdas/ganhos econômicos (tempo

de processo), seleção de culturas e melhorias na qualidade dos produtos (MARTÍNEZ-VILLALUENGA; GÓMEZ, 2007; MATEJČEKOVÁ *et al.*, 2016; SHIBY; MISHRA, 2013).

O uso do modelo cinético de Baranyi demonstrou-se adequado para descrever o crescimento das culturas utilizadas, *starter* (*S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) e probiótica (*L. acidophilus*), apresentando valores de R^2 superiores a 0,88 mesmo após a inclusão de polpas ou resíduos de frutas aos iogurtes e leites fermentados e, após a pré-submissão do probiótico às condições de estresse. Outros estudos também já relataram o bom ajuste à este modelo na descrição do crescimento de micro-organismos probióticos (*Lactocaseibacillus rhamnosus* GG) e starters (Fresco culture) durante a produção de bebidas fermentadas a base de frutas e cereais (MATEJČEKOVÁ; DUJMIC; *et al.*, 2018; MATEJČEKOVÁ; LIPTÁKOVÁ; VALÍK, 2017, 2015).

Além disso, os resultados do capítulo 1 também demonstraram que a pré-exposição de *L. acidophilus* ao estresse ácido reduziu as taxas de multiplicação deste micro-organismo na maioria dos ensaios realizados enquanto que também aumentou a sua viabilidade nas formulações de iogurte natural e iogurte contendo bagaço de laranja. Corroborando com estes resultados, Settachaimongkon e colaboradores (2015) também relataram que o pré-cultivo de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB12) aos estresses ácido e osmótico impactou negativamente no potencial de crescimento desta cultura enquanto que aumentou a sua viabilidade durante a vida de prateleira de iogurtes produzidos em co-cultura com *S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Outros autores mencionam que esta inibição/retardamento do crescimento e aumento da viabilidade possam estar associadas a respostas adaptativas deste micro-organismo às condições de estresse, a qual pode ocorrer respectivamente por meio da alteração de determinados mecanismos de proteção e, pela adaptação fisiológica denominada como resposta de tolerância ao ácido (ATR) (RUIZ *et al.*, 2011; VAN DE GUCHTE *et al.*, 2002b).

O segundo capítulo desta tese visou avaliar o impacto da fermentação com *L. acidophilus* pré-submetido às condições de estresse (ácido, oxidativo e osmótico) na modificação de compostos voláteis e não voláteis (metaboloma) e na bioacessibilidade de cálcio (bagaço de laranja) e carotenoides (polpa de buriti) em leites fermentados e iogurtes fortificados com estas matrizes. Nele, observamos que a utilização de *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido, oxidativo e osmótico

foi capaz de impactar no aparecimento de voláteis derivados de álcoois superiores e do catabolismo de aminoácidos em iogurtes e leites fermentados naturais, acrescidos de polpa de buriti ou bagaço de laranja. Assim como, notamos que a pré-exposição à condições de estresse foi responsável por impactar na bioacessibilidade de cálcio (em produtos lácteos fermentados naturais e contendo bagaço de laranja) e carotenoides (em leites fermentados e iogurtes contendo polpa de buriti). Dentre os resultados mais interessantes podemos mencionar o aumento da bioacessibilidade de cálcio após pré-submissão de *L. acidophilus* aos estresses osmótico e/ou oxidativo em leites fermentados naturais e acrescidos de bagaço de laranja e em iogurtes contendo bagaço de laranja. E, a redução da bioacessibilidade de carotenoides após a aplicação de *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo em leites fermentados e iogurtes contendo polpa de buriti.

Nesse sentido, é conhecido que a submissão de bactérias ácido lácticas (probióticas ou não) à condições de estresse pode influenciar em seu metaboloma, levando à modificações na produção de compostos não voláteis e voláteis (GUERZONI *et al.*, 2007; PARLINDUNGAN; MAY; JONES, 2019; SERRAZANETTI *et al.*, 2011, 2009; SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016). E que a modificação da atividade metabólica de micro-organismos probióticos pré-cultivados em condições de estresse durante o processamento de iogurtes já foi relacionada ao aparecimento de voláteis como álcoois superiores e compostos derivados do catabolismo de aminoácidos (SETTACHAIMONGKON *et al.*, 2015, 2016). Além disso, sabe-se que o catabolismo de aminoácidos pode ser utilizado como uma rota alternativa para bactérias ácido lácticas expostas à condições de estresse, auxiliando em sua sobrevivência por possibilitar a geração de energia (ATP) (PAPADIMITRIOU *et al.*, 2016; SERRAZANETTI *et al.*, 2011, 2009).

O impacto da utilização de culturas probióticas pré-submetidas à condições de estresse na bioacessibilidade de cálcio ou carotenoides em produtos lácteos fermentados fortificados ainda não tinha sido mencionado pela literatura. No entanto, acreditamos que o aumento da bioacessibilidade de cálcio possa estar relacionado a dois principais fatores: (I) A atividade proteolítica das culturas utilizadas podendo levar a produção de peptídeos com capacidade quelante ao cálcio e por consequência aumentar a sua bioacessibilidade; e, (II) A produção de enzimas extracelulares capazes de degradar compostos conhecidos por impactarem negativamente na bioacessibilidade de minerais como fitatos e oxalatos. Neste cotexto, sabe-se que o

tipo de cultura ou a utilização de co-cultura durante a fermentação de matrizes lácteas e vegetais podem impactar na posterior bioacessibilidade de minerais (DAI *et al.*, 2020; EL-GAWAD *et al.*, 2014a; NGOUNOU *et al.*, 2003). Além disso, a produção de enzimas responsáveis pela degradação de compostos como fitatos, oxalatos e taninos já foram descritas em bactérias ácido lácticas (CIZEIKIENE *et al.*, 2015; NISHITANI *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2020; TURRONI *et al.*, 2007).

Acreditamos também que a redução da bioacessibilidade de carotenoides após a utilização da cultura probiótica (*L. acidophilus*) padrão ou pré-submetida ao estresse oxidativo possa estar relacionada principalmente com a produção da enzima hidrolase de sais biliares (BSH), a qual tem como função a desconjugação de sais biliares no trato gastrointestinal (TGI). É conhecido que os sais biliares conjugados possuem uma grande importância na micelização de compostos lipofílicos como carotenoides e que sua ausência pode impactar na absorção destes compostos (CORTE-REAL; BOHN, 2018; SETCHELL *et al.*, 2013; WILDE; CHU, 2011). Além disso, a atividade enzimática de BSH já foi descrita em culturas probióticas comerciais de *L. acidophilus* (SEDLÁČKOVÁ *et al.*, 2015). Julgamos ainda que a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse oxidativo possa ter implicado em uma maior resistência às condições deletérias encontradas no fluido intestinal *in vitro*, conferindo uma maior sobrevivência a esta bactéria e por consequência, aumentando o seu impacto na bioacessibilidade de carotenoides.

Já no terceiro capítulo visamos avaliar o impacto do consumo de dois tipos de produtos lácteos fermentados contendo polpa de buriti (iogurte) e bagaço de laranja (leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ou não ao estresse oxidativo) no conteúdo de retinol sérico, no sistema endógeno antioxidante e na expressão de proteínas endógenas de resposta ao estresse (proteínas de choque térmico) em ratos Wistar saudáveis. Neste capítulo observamos que o consumo de produtos naturais (polpa de buriti e bagaço de laranja) ou fermentados a base de frutas e resíduos de frutas (iogurtes ou leites fermentados fortificados) apresentaram capacidade de aumentar a resposta do sistema antioxidante endógeno, podendo reduzir marcadores relacionados ao estresse como a proteína de choque térmico HSP70 no fígado de animais saudáveis. Sendo também responsáveis pelo aumento da expressão das proteínas de choque térmico HSP 70 e 90 no músculo gastrocnêmico e pelo aumento da concentração de retinol sérico, indicando possivelmente uma resposta citoprotetiva e antioxidante.

O consumo de fontes contendo compostos antioxidantes e micro-organismos probióticos já foram associados ao aumento da expressão/atividade de marcadores endógenos antioxidantes (enzimáticos e não enzimáticos) em voluntários e animais saudáveis (ALMADA, 2017; DA SILVA *et al.*, 2013; KLENIEWSKA *et al.*, 2016; MCGOWAN; DONALDSON, 1986; MOURA *et al.*, 2016; ROMERO *et al.*, 2015; SILVA-MAIA *et al.*, 2019). E apesar de algumas contradições, é conhecido que o aumento da atividade do sistema antioxidante endógeno pode se associar a uma melhora no estado antioxidante protegendo o organismo à danos futuros ocasionados pelo aumento das espécies reativas ao oxigênio e, prevenindo assim, o aparecimento de doenças (BATISTA *et al.*, 2014; GHONEIM; MOSELHY, 2016; KLENIEWSKA *et al.*, 2016; KUMAR *et al.*, 2010; LEITE *et al.*, 2011; LOBO *et al.*, 2010). Além disso, estudos recentes têm relatado que a presença de diversos componentes em alimentos funcionais (como aminoácidos, polifenóis, probióticos e outros) vêm sendo associados à proteção celular por intermédio de mecanismos que envolvem a indução da expressão de proteínas de choque térmico no organismo (MOURA *et al.*, 2018).

O aumento da concentração de retinol sérico após o consumo de polpa de buriti e produtos lácteos fermentados fortificados com polpa de buriti e bagaço de laranja está provavelmente relacionada ao conteúdo de carotenoides provitamina A presente nestes alimentos. É conhecido que tanto o bagaço de laranja como a polpa de buriti apresentam quantidades consideráveis de carotenoides com potencial de serem convertidos em vitamina A no organismo (AQUINO *et al.*, 2015; CHEDEA; KEFALAS; SOCACIU, 2010; GHOSH *et al.*, 2019; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008; RUBASHVILI *et al.*, 2018). E que o consumo de fontes contendo carotenoides como vegetais, frutas e produtos derivados já foram associados ao aumento do conteúdo sérico de retinol em crianças e animais (AQUINO *et al.*, 2016; AQUINO *et al.*, 2015; RIBAYA-MERCADO *et al.*, 2000). Além disso, o impacto da fermentação do bagaço de laranja no aumento do conteúdo de retinol sérico foi observado e relacionado principalmente ao aumento do teor de gordura do produto fermentado em comparação ao produto in natura devido a inclusão de leite integral na formulação.

Por fim, objetivou-se no quarto e último capítulo avaliar o impacto do consumo de frutas (buriti), subproduto de frutas (bagaço de laranja) e produtos lácteos fermentados probióticos (contendo *L. acidophilus* padrão ou submetido ao estresse oxidativo) fortificados por estas duas matrizes nos parâmetros relacionados à saúde

óssea e intestinal de ratos Wistar em crescimento. Neste capítulo observamos que apenas o consumo de polpa de buriti e bagaço de laranja impactaram nos parâmetros relacionados à saúde óssea, aumentando respectivamente força/rigidez óssea e o conteúdo mineral de magnésio no fêmur e os valores séricos de cálcio. Da mesma maneira, o consumo destas matrizes levou a um maior impacto na modulação da microbiota fecal, induzindo o aumento ou redução dos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Além disso, o consumo de bagaço de laranja e/ou dos produtos fermentados fortificados com bagaço de laranja impactaram positivamente na redução do marcador inflamatório LPS na corrente sanguínea e aumento da concentração fecal de AGCC como acético e propiônico.

Nesse sentido, sabemos que o consumo de frutas e vegetais pode estar associado positivamente com a saúde óssea de indivíduos jovens e idosos (BERG; SEYEDSADJADI; GRANT, 2020; PRYNNE *et al.*, 2006). E que o consumo de leites fermentados probióticos e fibras presentes em frutas e subprodutos de frutas já foi relacionado ao aumento de ácidos graxos de cadeia curta nas fezes de indivíduos ou animais saudáveis e acometidos de problemas como a obesidade ou síndrome do intestino irritável (DUQUE *et al.*, 2016; EL-GAWAD *et al.*, 2014b; TEJADA-ORTIGOZA *et al.*, 2019; VEIGA *et al.*, 2014; VONG; STEWART, 2013). Além disso, é conhecido que o consumo de prebióticos (presentes em frutas) ou probióticos pode levar à modulação da microbiota intestinal induzindo principalmente alterações nos filos *Firmicutes/Bacteroidetes* (BIANCHI *et al.*, 2018; FIDÉLIX *et al.*, 2020; SHTRIKER *et al.*, 2018; THIENNIMITR *et al.*, 2018).

A redução de marcadores inflamatórios como LPS na corrente sanguínea podem ser indicativos indiretos da permeabilidade/integridade da barreira intestinal. Por este motivo a sua redução pode representar uma melhora desta barreira (GUO *et al.*, 2013; HE *et al.*, 2019; KIM *et al.*, 2019; MONK *et al.*, 2017; SHASTRI *et al.*, 2015). Sabe-se que diversos fatores nutricionais podem influenciar na redução de níveis elevados de LPS sérico, dentre eles diversos estudos mencionam o consumo de pre e probióticos como potenciais agentes responsáveis pela redução sérica de LPS e melhora da barreira intestinal (DEHGHAN; GARGARI; JAFAR-ABADI, 2014; FUKU *et al.*, 2019; HASHEMI *et al.*, 2017; KIM *et al.*, 2019; PLAZA-DÍAZ *et al.*, 2017).

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados apresentados por este estudo demonstraram que a pré-submissão de *L. acidophilus* ao estresse ácido, oxidativo e osmótico foi capaz de influenciar nos parâmetros cinéticos de crescimento ($\mu_{\text{máx.}}$ e λ) tanto deste micro-organismo como da cultura *starter* utilizada durante o processo de fermentação dos iogurtes e leites fermentados naturais e fortificados (com buriti e bagaço de laranja). E que dentre os tipos de estresse aplicados, a pré-exposição de *L. acidophilus* ao estresse ácido reduziu as taxas de multiplicação deste micro-organismo na maioria dos ensaios realizados enquanto que também aumentou a sua viabilidade nas formulações de iogurte natural e iogurte contendo bagaço de laranja.

A inclusão de bagaço de laranja e polpa de buriti foram responsáveis por promover o crescimento de *L. acidophilus* padrão nas formulações de iogurtes e leites fermentados fortificados em comparação à condição controle, além de impactarem na modificação do perfil de metabólitos não voláteis produzidos e no aumento respectivo do teor de cálcio e carotenoides.

A utilização de diferentes culturas, *starter* (*S. thermophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) e probiótica (*L. acidophilus*) submetida ou não a condições de estresse, foi responsável por impactar na produção de metabólitos voláteis e na bioacessibilidade de cálcio e carotenoides dependendo dos produtos (leites fermentados e iogurtes) avaliados. Desta maneira, a utilização de *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse ácido, oxidativo e osmótico foi capaz de impactar no aparecimento de voláteis derivados de álcoois superiores e do catabolismo de aminoácidos em iogurtes e leites fermentados naturais, contendo polpa de buriti e bagaço de laranja. Já a bioacessibilidade de cálcio em leites fermentados e iogurtes naturais e contendo bagaço de laranja foi reduzida com a utilização da fermentação em monocultura e em co-cultura com *L. acidophilus* padrão, sendo aumentada após a pré-submissão deste probiótico aos estresses osmótico e oxidativo. E, a bioacessibilidade de carotenoides nos leites fermentados ou iogurtes acrescidos de polpa de buriti foi influenciada pelo tipo de cultura utilizada durante a fermentação, demonstrando redução após a aplicação de *L. acidophilus* padrão e pré-submetido ao estresse oxidativo.

O consumo de produtos naturais (polpa de buriti e bagaço de laranja) ou fermentados a base de frutas e resíduos de frutas (iogurtes ou leites fermentados

fortificados) apresentaram capacidade de aumentar a resposta do sistema antioxidante endógeno, podendo reduzir marcadores relacionados ao estresse como a proteína de choque térmico HSP70 no fígado de animais saudáveis. O consumo destes produtos também foi responsável pelo aumento da expressão das proteínas de choque térmico HSP 70 e 90 no músculo gastrocnêmico e pelo aumento da concentração de retinol sérico nestes animais indicando possivelmente uma resposta citoprotetiva e de antioxidante. Além disso, o consumo de leite fermentado por *L. acidophilus* pré-submetido ao estresse oxidativo contendo bagaço de laranja foi responsável por aumentar o conteúdo de retinol sérico quando em comparação ao mesmo produto fermentado com a cultura probiótica padrão.

O consumo de produtos lácteos fermentados fortificados com bagaço de laranja ou polpa de buriti durante um período de 60 dias não impactou significativamente nos parâmetros relacionados ao metabolismo ósseo (conteúdo mineral ósseo, fratura e padrões densitométricos). No entanto, o consumo de polpa de buriti foi responsável pelo aumento da força óssea e rigidez dos fêmures avaliados e o consumo de bagaço de laranja aumentou o conteúdo mineral de magnésio no fêmur e os valores séricos de cálcio. O consumo de dietas suplementadas com polpa de buriti e bagaço de laranja também levou a amplas modificações na composição da microbiota fecal dos animais estudados, aumentando ou reduzindo os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Além disso, o consumo de bagaço de laranja e/ou dos produtos fermentados fortificados com bagaço de laranja impactaram positivamente na redução do marcador inflamatório LPS na corrente sanguínea e aumento da concentração fecal de AGCC como acético e propiônico. Ainda, outras modificações foram observadas na composição da microbiota fecal após o consumo de dietas suplementadas com polpa de buriti e bagaço de laranja ou dos produtos fermentados fortificados com estas matrizes, principalmente com relação a redução ou aumento dos gêneros ou famílias *Lactobacillus*, *Lachnospiraceae* NK4A136 group e *Muribaculaceae* D5 uncultured bacterium.

Assim, concluímos que os achados do presente estudo evidenciaram novas informações com relação à aplicação de probióticos pré-submetidos às condições de estresse em produtos fermentados naturais e fortificados, aumentando a compreensão dos impactos decorrentes de sua utilização tanto nas características relacionadas ao processo e produto como no que diz respeito ao seu valor nutricional e terapêutico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNUR, P. V. Metabolômica e espectrometria de massas. **Circular Técnica EMBRAPA**, vol. 10, p. 1–4, 2011. .

ABEYSINGHE, D. C.; LI, X.; SUN, C.; ZHANG, W.; ZHOU, C.; CHEN, K. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species. **Food Chemistry**, vol. 104, no. 4, p. 1338–1344, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.047>.

ACCORSI, R. Planning sustainable food supply chains to meet growing demands. **Encyclopedia of Food Security and Sustainability**. [S. l.]: Elsevier, 2018. p. 45–53. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22028-3>.

ADOLFSSON, O.; MEYDANI, S. N.; RUSSELL, R. M. Yogurt and gut function. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 80, no. 2, p. 245–256, 2004. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.2.245>.

AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods of Enzymology**. [S. l.]: Academic Press. Inc, 1984. vol. 105, p. 121–126.

AHMADI, S.; MAINALI, R.; NAGPAL, R.; SHEIKH-ZEINODDIN, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S.; WANG, S.; DEEP, G.; MISHRA, S. K.; YADAV, H. Dietary polysaccharides in the amelioration of gut microbiome dysbiosis and metabolic diseases. **Obesity & Control Therapies: Open Access**, vol. 4, no. 3, p. 1–15, 2017. <https://doi.org/10.15226/2374-8354/4/2/00140>.

AHMED, M. I.; XU, X.; SULIEMAN, A. A.; NA, Y.; MAHDI, A. A. The effect of fermentation time on in vitro bioavailability of iron, zinc, and calcium of kisra bread produced from koreeb (*Dactyloctenium aegyptium*) seeds flour. **Microchemical Journal**, vol. 154, p. 1–6, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104644>.

AL-LAHHAM, S. H.; PEPPELENBOSCH, M. P.; ROELOFSEN, H.; VONK, R. J.; VENEMA, K. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol. 1801, p. 1175–1183, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.07.007>.

ALEXANDER, C.; SWANSON, K. S.; FAHEY, G. C.; GARLEB, K. A. Perspective: Physiologic importance of short-chain fatty acids from nondigestible carbohydrate fermentation. **Advances in Nutrition**, vol. 10, p. 576–589, 2019. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz004>.

ALJEWICZ, M.; TONSKA, E.; JUSKIEWICZ, J.; CICHOSZ, G. The influence of product acidity and beta-glucans isolated from various sources on the mineral composition and the mechanical and microstructural properties of the femur in growing Wistar rats. **Journal of Functional Foods**, vol. 44, no. February, p. 191–200, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.02.035>.

ALMADA, C. N. de. **Paraprobiotics: impact of inactivation methods on their efficacy, stability in food and health benefits**. 2017. 1–168 f. (PhD thesis) Department of Food Science, Campinas State University, São Paulo - Brazil, 2017.

ALVAREZ-OLMOS, M. I.; OBERHELMAN, R. A. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, vol. 32, p. 1567–1576, 2001. <https://doi.org/10.1086/320518>.

ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; TEOFILO, E. M.; LARSEN, F. H.; DE BRITO, E. S. ¹H NMR spectra dataset and solid-state NMR data of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Data in Brief**, vol. 11, p. 136–146, 2017. DOI 10.1016/j.dib.2017.01.013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2017.01.013>.

ANJUM, N.; MAQSOOD, S.; MASUD, T.; AHMAD, A.; SOHAIL, A.; MOMIN, A. *Lactobacillus acidophilus*: Characterization of the species and application in food production. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 54, p. 1241–1251, 2014. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.621169>.

ANVISA. **Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**. Guia nº21/. [S. l.]: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2021. Available at: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3898888/Guia+Probioticos+-+CP+459-2017.pdf/9b3a7fc8-4b53-49bb-8612-92c7340896f4>.

AQUINO, J. D. S.; VASCONCELOS, M. H. D. A.; PESSOA, D. C. N. D. P.; SOARES, J. K. B.; PRADO, J. P. D. S.; MASCARENHAS, R. D. J.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T. L. M. Intake of cookies made with buriti oil (*Mauritia flexuosa*) improves vitamin A status and lipid profiles in young rats. **Food and Function**, vol. 7, no. 10, p. 4442–4450, 2016. <https://doi.org/10.1039/c6fo00770h>.

AQUINO, J. de S.; SOARES, J. K. B.; MAGNANI, M.; STAMFORD, T. C. M.; MASCARENHAS, R. de J.; TAVARES, R. L.; STAMFORD, T. L. M. Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and Vitamin A and e status of rats. **Molecules**, vol. 20, no. 5, p. 9054–9070, 2015.

<https://doi.org/10.3390/molecules20059054>.

AQUINO, Jailane de Souza; TAVARES, R. L.; MEDEIROS, L. de B.; MARTINS, C. C. de L.; PESSOA, D. C. N. de P.; STAMFORD, T. L. M. Effect of the consumption on buriti oil on the metabolism of rats induced by iron overload. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, vol. 59, no. 5, p. 422–427, 2015. DOI 10.1590/2359-3997000000105. Available at: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2359-39972015000500422&lng=en&tlng=en.

ARJMANDI, B. H.; JOHNSON, S. A. The role of functional foods and their bioactive components in bone health. In: YU, B. P. (ed.). **Nutrition, exercise and epigenetics: Ageing interventions, healthy ageing and longevity**. Switzerland: Springer International Publishing, 2015. p. 153–177. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14830-4_8.

ARSCOTT, S. A. Carotenoid sources and metabolism. In: TANUMIHARDJO, S. A.; BENDICH, A. (eds.). **Carotenoids and Human Health**. New York: Springer, 2013. p. 03–19. <https://doi.org/10.10017/978-1-62703--203-2>.

AUGSPOLE, I.; RAKCEJEVA, T. Effect of hydrogen peroxide on the quality parameters of shredded carrots. **Research for Rural Development**, vol. 1, p. 91–97, 2013. .

AUNE, D.; GIOVANNUCCI, E.; BOFFETTA, P.; FADNES, L. T.; KEUM, N.; NORAT, T.; GREENWOOD, D. C.; RIBOLI, E.; VATTEN, L. J.; TONSTAD, S. Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality — A systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. **International Journal of Epidemiology**, vol. 46, no. 3, p. 1029–1056, 2017. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw319>.

AWAISHEH, S. S. Chapter 25: Probiotic Food Products Classes, Types, and Processing. **Probiotics**. [S. l.]: InTech, 2012. <https://doi.org/10.5772/51267>.

AYED, L.; M'HIR, S.; HAMDI, M. Microbiological, biochemical, and functional aspects of fermented vegetable and fruit beverages. **Journal of Chemistry**, , p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5790432>.

AZAD, M. A. K.; SARKER, M.; LI, T.; YIN, J. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview. **BioMed Research International**, , p. 1–8, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>.

BAILEY, R. L.; WEST, K. P.; BLACK, R. E. The epidemiology of global

micronutrient deficiencies. **Annals of Nutrition and Metabolism**, vol. 66, no. suppl 2, p. 22–33, 2015. <https://doi.org/10.1159/000371618>.

BARANYI, J.; ROBERTS, T. A. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 23, no. 3–4, p. 277–294, 1994. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(94\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0168-1605(94)90157-0).

BARBOSA, J.; BORGES, S.; TEIXEIRA, P. Influence of sub-lethal stresses on the survival of lactic acid bacteria after spray-drying in orange juice. **Food Microbiology**, vol. 52, p. 77–83, 2015. DOI 10.1016/j.fm.2015.06.010. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0740002015001215>.

BARBOSA, P. de P. M.; RUVIARO, A. R.; MACEDO, G. A. Comparison of different Brazilian citrus by-products as source of natural antioxidants. **Food Science and Biotechnology**, vol. 27, no. 5, p. 1301–1309, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0383-4>.

BARNHAM, K. J.; MASTERS, C. L.; BUSH, A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. **Nature Reviews Drug Discovery**, vol. 3, p. 205–214, 2004. <https://doi.org/10.1038/nrd1330>.

BARROS, H. R. M.; FERREIRA, T. A. P. C.; GENOVESE, M. I. Antioxidant capacity and mineral content of pulp and peel from commercial cultivars of citrus from Brazil. **Food Chemistry**, vol. 134, no. 4, p. 1892–1898, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.090>.

BARROS, J. R. M.; BARROS, A. L. M.; CYPRIANO, M. P. **O mercado da citricultura no Brasil e as suas novas perspectivas**. [S. l.: s. n.], 2016. Available at: http://www.citrusbr.com/download/biblioteca/CitrusBR_Livro_Concecitrus_2016.pdf.

BATISTA, Â. G.; LENQUISTE, S. A.; CAZARIN, C. B. B.; SILVA, J. K. da; LUIZ-FERREIRA, A.; BOGUSZ, S.; HANTAO, L. W.; SOUZA, R. N. de; AUGUSTO, F.; PRADO, M. A.; MARÓSTICA, M. R. Intake of jaboticaba peel attenuates oxidative stress in tissues and reduces circulating saturated lipids of rats with high-fat diet-induced obesity. **Journal of Functional Foods**, vol. 6, p. 450–461, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.11.011>.

BATISTA, A. L. D.; SILVA, R.; CAPPATO, L. P.; ALMADA, C. N.; GARCIA, R. K. A.; SILVA, M. C.; RAICES, R. S. L.; ARELLANO, D. B.; SANT'ANA, A. S.; CONTE JUNIOR, C. A.; FREITAS, M. Q.; CRUZ, A. G. Quality parameters of probiotic yogurt added to glucose oxidase compared to commercial products through microbiological, physical-chemical and metabolic activity analyses. **Food Research International**, vol.

77, p. 627–635, 2015. DOI 10.1016/j.foodres.2015.08.017. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.017>.

BATISTA, K. S.; ALVES, A. F.; LIMA, M. D. S.; DA SILVA, L. A.; LINS, P. P.; DE SOUSA GOMES, J. A.; SILVA, A. S.; TOSCANO, L. T.; DE ALBUQUERQUE MEIRELES, B. R. L.; DE MAGALHÃES CORDEIRO, A. M. T.; DA CONCEIÇÃO, M. L.; DE SOUZA, E. L.; AQUINO, J. D. S. Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. **British Journal of Nutrition**, vol. 119, p. 30–41, 2018. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003282>.

BEGLEY, M.; GAHAN, C. G. M.; HILL, C. The interaction between bacteria and bile. **FEMS Microbiology Reviews**, vol. 29, no. 4, p. 625–651, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2004.09.003>.

BEGLEY, M.; HILL, C.; GAHAN, C. G. M. Bile salt hydrolase activity in probiotics. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 72, no. 3, p. 1729–1738, 2006. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006>.

BERG, J.; SEYEDSADJADI, N.; GRANT, R. Increased consumption of plant foods is associated with increased bone mineral density. **Journal of Nutrition, Health and Aging**, vol. 24, no. 4, p. 388–397, 2020. <https://doi.org/10.1007/s12603-020-1339-y>.

BERGILLOS-MECA, T.; NAVARRO-ALARCÓN, M.; CABRERA-VIQUE, C.; ARTACHO, R.; OLALLA, M.; GIMÉNEZ, R.; MORENO-MONTORO, M.; RUIZ-BRAVO, A.; LASSERROT, A.; RUIZ-LÓPEZ, M. D. The probiotic bacterial strain *Lactobacillus fermentum* D3 increases in vitro the bioavailability of Ca, P, and Zn in fermented goat milk. **Biological Trace Element Research**, vol. 151, no. 2, p. 307–314, 2013. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9544-0>.

BERNI, P.; PINHEIRO, A. C.; BOURBON, A. I.; GUIMARÃES, M.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; VICENTE, A. A. Characterization of the behavior of carotenoids from pitanga (*Eugenia uniflora*) and buriti (*Mauritia flexuosa*) during microemulsion production and in a dynamic gastrointestinal system. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 57, no. 2, p. 650–662, 2020. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04097-7>.

BIANCHI, F.; LARSEN, N.; TIEGHI, T. de M.; ADORNO, M. A. T.; KOT, W.; SAAD, S. M. I.; JESPERSEN, L.; SIVIERI, K. Modulation of gut microbiota from obese individuals by in vitro fermentation of citrus pectin in combination with *Bifidobacterium*

longum BB-46. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 102, p. 8827–8840, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9234-8>.

BIEHLER, E.; KAULMANN, A.; HOFFMANN, L.; KRAUSE, E.; BOHN, T. Dietary and host-related factors influencing carotenoid bioaccessibility from spinach (*Spinacia oleracea*). **Food Chemistry**, vol. 125, no. 4, p. 1328–1334, 2011. DOI 10.1016/j.foodchem.2010.09.110. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.110>.

BINTSIS, T. Lactic acid bacteria: their applications in foods. **Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access**, vol. 6, no. 2, p. 89–94, 2018. <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2018.06.00182>.

BOHN, T.; MCDOUGALL, G. J.; ALEGRÍA, A.; ALMINGER, M.; ARRIGONI, E.; AURA, A. M.; BRITO, C.; CILLA, A.; EL, S. N.; KARAKAYA, S.; MARTÍNEZ-CUESTA, M. C.; SANTOS, C. N. Mind the gap-deficits in our knowledge of aspects impacting the bioavailability of phytochemicals and their metabolites-a position paper focusing on carotenoids and polyphenols. **Molecular Nutrition and Food Research**, vol. 59, no. 7, p. 1307–1323, 2015. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400745>.

BORTON, M. A.; SABAG-DAIGLE, A.; WU, J.; SOLDEN, L. M.; O'BANION, B. S.; DALY, R. A.; WOLFE, R. A.; GONZALEZ, J. F.; WYSOCKI, V. H.; AHMER, B. M. M.; WRIGHTON, K. C. Chemical and pathogen-induced inflammation disrupt the murine intestinal microbiome. **Microbiome**, vol. 5, no. 47, p. 1–15, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40168-017-0264-8>.

BOSSCHER, D.; VAN CAILLIE-BERTRAND, M.; VAN CAUWENBERGH, R.; DEELSTRA, H. Availabilities of calcium, iron, and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. **Nutrition**, vol. 19, no. 7–8, p. 641–645, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(03\)00063-7](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(03)00063-7).

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, vol. 72, p. 248–254, 1976. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2017.04.003>.

BRASIL. **Carências de micronutrientes**. 1st ed. Brasília: Ministerio da Saúde. Unicef, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária/ Diretoria Colegiada; Resolução Nº 166, de 24 de Julho de 2017. 2017. **Diário Oficial da União, Nº 141, 25/07/2017**. Available at: <http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=25/07/2017&jornal=1>

&pagina=88&totalArquivos=128. Accessed on: 20 Sep. 2001.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 241, de 26 de julho de 2018. 2018. **Diário Oficial da União, publicado em 27/07/2018, edição 144, seção 1, página 97.** Available at: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0241_26_07_2018.pdf. Accessed on: 23 May 2021.

BRITTON, G.; LIAAEN-JENSEN, S.; PFANDER, H. **Carotenoids: Handbook**. Switzerland: Springer Basel AG, 2004. <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7836-4>.

BRONDANI, J. E.; COMIM, F. V.; FLORES, L. M.; MARTINI, L. A.; PREMAOR, M. O. Fruit and vegetable intake and bones: A systematic review and meta-analysis. **PLoS ONE**, vol. 14, no. 5, p. 1–16, 2019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217223>.

BROWN, M. J.; FERRUZZI, M. G.; NGUYEN, M. L.; COOPER, D. A.; ELDRIDGE, A. L.; SCHWARTZ, S. J.; WHITE, W. S. Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 80, no. 2, p. 396–403, 2004. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.2.396>.

BROWNAWELL, A. M.; CAERS, W.; GIBSON, G. R.; KENDALL, C. W. C.; LEWIS, K. D.; RINGEL, Y.; SLAVIN, J. L. Prebiotics and the health benefits of fiber: Current regulatory status, future research, and goals. **Journal of Nutrition**, vol. 142, p. 962–974, 2012. <https://doi.org/10.3945/jn.112.158147>.

BUDDRICK, O.; JONES, O. A. H.; CORNELL, H. J.; SMALL, D. M. The influence of fermentation processes and cereal grains in wholegrain bread on reducing phytate content. **Journal of Cereal Science**, vol. 59, no. 1, p. 3–8, 2014. DOI 10.1016/j.jcs.2013.11.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2013.11.006>.

BUJNA, E.; FARKAS, N. A.; TRAN, A. M.; DAM, M. S.; NGUYEN, Q. D. Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. **Food Science and Biotechnology**, vol. 27, no. 2, p. 547–554, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0269-x>.

BUKOWSKA, H.; PIECZUL-MROZ, J.; JASTRZEBSKA, M.; CHELSTOWSKI, K.; NARUSZEWICZ, M. Decrease in fibrinogen and LDL-cholesterol levels upon supplementation of diet with *Lactobacillus plantarum* in subjects with moderately elevated cholesterol. **Atherosclerosis**, vol. 137, no. 2, p. 437–438, 1998.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(97\)00283-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(97)00283-9).

BUSANELLO, M.; DE MORAES FILHO, M. L.; GUERGOLETT, K. B.; GARCIA, S. Optimization of the growth of *Lactobacillus* in skim milk added with green banana flour and determination functional properties. **Nutrition and Food Science**, vol. 49, no. 2, p. 249–261, 2019. <https://doi.org/10.1108/NFS-03-2018-0098>.

CALVANI, R.; BRASILI, E.; PRATICO, G.; SCIUBBA, F.; ROSELLI, M.; FINAMORE, A.; MARINI, F.; MARZETTI, E.; MICCHELI, A. Application of NMR-based metabolomics to the study of gut microbiota in obesity. **Journal of clinical gastroenterology**, vol. 48, no. 1, p. 5–7, 2014. DOI 10.1097/mcg.0000000000000236. Available at: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=mexx&NEWS=N&AN=25291128>.

CÁMARA-MARTOS, F.; AMARO-LÓPEZ, M. A. Influence of dietary factors on calcium bioavailability: A brief review. **Biological Trace Element Research**, vol. 89, no. 1, p. 43–52, 2002. <https://doi.org/10.1385/BTER:89:1:43>.

CAMILLERI, M.; LYLE, B. J.; MADSEN, K. L.; SONNENBURG, J.; VERBEKE, K.; WU, G. D. Role for diet in normal gut barrier function: Developing guidance within the framework of food-labeling regulations. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, vol. 317, p. G17–G39, 2019. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00063.2019>.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R. Comparison of the physicochemical profiles of buriti from the Brazilian Cerrado and the Amazon region. **Food Science and Technology**, vol. 37, p. 78–82, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.32516>.

CAPORASO, J. G.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F. D.; DESANTIS, T. Z.; ANDERSEN, G. L.; KNIGHT, R. PyNAST: A flexible tool for aligning sequences to a template alignment. **Bioinformatics**, vol. 26, no. 2, p. 266–267, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp636>.

CAPORASO, J. G.; KUCZYNSKI, J.; STOMBAUGH, J.; BITTINGER, K.; BUSHMAN, F. D.; COSTELLO, E. K.; FIERER, N.; PEÑA, A. G.; GOODRICH, J. K.; GORDON, J. I.; HUTTLEY, G. A.; KELLEY, S. T.; KNIGHTS, D.; KOENIG, J. E.; LEY, R. E.; LOZUPONE, C. A.; MCDONALD, D.; MUEGGE, B. D.; PIRRUNG, M.; ... KNIGHT, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, vol. 7, no. 5, p. 335–336, 2010. <https://doi.org/10.1038/nmeth0510-335>.

CAPORASO, N.; GENOVESE, A.; BURKE, R.; BARRY-RYAN, C.; SACCHI, R. Effect of olive mill wastewater phenolic extract, whey protein isolate and xanthan gum on the behaviour of olive O/W emulsions using response surface methodology. **Food Hydrocolloids**, vol. 61, p. 66–76, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.040>.

CARDING, S.; VERBEKE, K.; VIPOND, D. T.; CORFE, B. M.; OWEN, L. J. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. **Microbial Ecology in Health & Disease**, vol. 26, p. 1–9, 2015. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3402/mehd.v26.26191>.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione Reductase. **Methods in Enzymology**. [S. l.]: Academic Press, Inc, 1985. vol. 113, p. 484–499.

CASAROTTI, Sabrina N.; BORGONOV, T. F.; BATISTA, C. L. F. M.; PENNA, A. L. B. Guava, orange and passion fruit by-products: Characterization and its impacts on kinetics of acidification and properties of probiotic fermented products. **Lwt**, vol. 98, no. March, p. 69–76, 2018. DOI 10.1016/j.lwt.2018.08.010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.010>.

CASAROTTI, Sabrina Neves; BORGONOV, T. F.; TIEGHI, T. de M.; SIVIERI, K.; PENNA, A. L. B. Probiotic low-fat fermented goat milk with passion fruit by-product: In vitro effect on obese individuals' microbiota and on metabolites production. **Food Research International**, vol. 136, p. 1–12, 2020. DOI 10.1016/j.foodres.2020.109453. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109453>.

CASTRO, L. A. de; LIZI, J. M.; DAS CHAGAS, E. G. L.; DE CARVALHO, R. A.; VANIN, F. M. From orange juice by-product in the food industry to a functional ingredient: Application in the circular economy. **Foods**, vol. 9, no. 593, p. 1–17, 2020. <https://doi.org/10.3390/foods9050593>.

CELUS, M.; KYOMUGASHO, C.; VAN LOEY, A. M.; GRAUWET, T.; HENDRICKX, M. E. Influence of pectin structural properties on interactions with divalent cations and its associated functionalities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 17, no. 6, p. 1576–1594, 2018. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12394>.

CHA, K. H.; LEE, E. H.; YOON, H. S.; LEE, J. H.; KIM, J. Y.; KANG, K.; PARK, J. S.; JIN, J. B.; KO, G. P.; PAN, C. H. Effects of fermented milk treatment on microbial population and metabolomic outcomes in a three-stage semi-continuous culture system. **Food Chemistry**, vol. 263, p. 216–224, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.095>.

CHADARE, F. J.; IDOHOU, R.; NAGO, E.; AFFONFERE, M.; HOUNHOUGAN, D. J.; AGOSSADOU, J.; KÉVIN, T.; CHRISTEL, F.; SEWANOU, K.; AZOKPOTA, P.; LINNEMANN, A. R. Conventional and food-to-food fortification: An appraisal of past practices and lessons learned. **Food Science and Nutrition**, vol. 7, p. 2781–2795, 2019. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1133>.

CHAIKHAM, P. Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. **Food Bioscience**, vol. 12, p. 61–66, 2015. DOI 10.1016/j.fbio.2015.07.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2015.07.006>.

CHAO, A.; BUNGE, J. Estimating the number of species in a stochastic abundance model. **Biometrics**, vol. 58, no. 3, p. 531–539, 2002. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.0006-341X.2002.00531.x>.

CHEDEA, V. S.; KEFALAS, P.; SOCACIU, C. Patterns of carotenoid pigments extracted from two orange peel wastes (*Valencia* and *Navel* var.). **Journal of Food Biochemistry**, vol. 34, no. 1, p. 101–110, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00267.x>.

CHEN, C.; ZHAO, S.; HAO, G.; YU, H.; TIAN, H.; ZHAO, G. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. **International Journal of Food Properties**, vol. 20, no. 1, p. S316–S330, 2017. DOI 10.1080/10942912.2017.1295988. Available at: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>.

CHEN, D.; YANG, Z.; CHEN, X.; HUANG, Y.; YIN, B.; GUO, F.; ZHAO, H.; ZHAO, T.; QU, H.; HUANG, J.; WU, Y.; GU, R. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 on the intestinal microbiota of a hyperlipidemic rat model. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, vol. 14, p. 1–9, 2014. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-386>.

CHENG, C. P.; TSAI, S. W.; CHIU, C. P.; PAN, T.-M.; TSAI, T.-Y. The effect of probiotic-fermented soy milk on enhancing the NO-mediated vascular relaxation factors. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 93, p. 1219–1225, 2013. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5880>.

CHENG, H. Volatile flavor compounds in yogurt: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 50, p. 938–950, 2010. <https://doi.org/10.1080/10408390903044081>.

CHIANG, S. S.; PAN, T. M. Antiosteoporotic effects of *Lactobacillus*-fermented soy skim milk on bone mineral density and the microstructure of femoral bone in ovariectomized mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 59, p. 7734–7742, 2011. <https://doi.org/10.1021/jf2013716>.

CHINNADURAI, K.; KANWAL, H. K.; TYAGI, A. K.; STANTON, C.; ROSS, P. High conjugated linoleic acid enriched ghee (clarified butter) increases the antioxidant and antiatherogenic potency in female Wistar rats. **Lipids in health and disease**, vol. 12, no. 1, p. 1–9, 2013. DOI 10.1186/1476-511X-12-121. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3766171&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

CHO, Y.; OH, S. Casein phosphopeptide (CPP)-producing activity and proteolytic ability by some lactic acid bacteria. **Korean Journal for Food Science of Animal Resources**, vol. 30, no. 3, p. 443–448, 2010. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2010.30.3.443>.

CHOI, Y. J.; LEE, D. H.; KIM, H. S.; KIM, Y. K. An exploratory study on the effect of daily fruits and vegetable juice on human gut microbiota. **Food Science and Biotechnology**, vol. 27, no. 5, p. 1377–1386, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0372-7>.

CHRISTENSEN, E. G.; LICHT, T. R.; LESER, T. D.; BAHL, M. I. Dietary Xylo-oligosaccharide stimulates intestinal bifidobacteria and lactobacilli but has limited effect on intestinal integrity in rats. **BMC Research Notes**, vol. 7, p. 1–14, 2014. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-660>.

CHUANG, H. L.; HUANG, Y.-T.; CHIU, C. C.; LIAO, C. D.; HSU, F.-L.; HUANG, C.-C.; HOU, C.-C. Metabolomics characterization of energy metabolism reveals glycogen accumulation in gut-microbiota-lacking mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 23, p. 752–758, 2012. DOI 10.1016/j.jnutbio.2011.03.019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.03.019>.

ÇINAR, I. Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage conditions. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 37, no. 3, p. 363–367, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.10.006>.

CITRUS BR. **Consumo Mundial de Suco de Laranja**. Brasília: [s. n.], 2011. Available at: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Citricultura/28RO/App_Consumo_de_Suco.pdf.

CIZEIKIENE, D.; JUODEIKIENE, G.; BARTKIENE, E.; DAMASIUS, J.; PASKEVICIUS, A. Phytase activity of lactic acid bacteria and their impact on the solubility of minerals from wholemeal wheat bread. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 66, no. 7, p. 736–742, 2015. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1088939>.

CLEMENTE, E.; FLORES, A. C.; ROSA, C. I. L. F.; OLIVEIRA, D. M. Características da farinha de resíduos do processamento de laranja. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, vol. 14, no. 2, p. 257–269, 2012. DOI 10.5935/RECEN.2012.02.06. Available at: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/RECEN.2012.02.06>.

COLLINS, F. L.; RIOS-ARCE, N. D.; SCHEPPER, J. D.; PARAMESWARAN, N.; MCCABE, L. R. The potential of probiotics as a therapy for osteoporosis. **Microbiology Spectrum**, vol. 5, no. 4, p. 1–26, 2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0015-2016>.The.

CONDURSO, C.; VERZERA, A.; ROMEO, V.; ZIINO, M.; CONTE, F. Solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry analysis of dairy product volatiles for the determination of shelf-life. **International Dairy Journal**, vol. 18, no. 8, p. 819–825, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.12.005>.

CORTE-REAL, J.; BOHN, T. Interaction of divalent minerals with liposoluble nutrients and phytochemicals during digestion and influences on their bioavailability – a review. **Food Chemistry**, vol. 252, p. 285–293, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.113>.

COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Bacteriocins: developing innate immunity for food. **Nature**, vol. 3, p. 777–788, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1240>.

COUTO, N.; WOOD, J.; BARBER, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homoeostasis network. **Free Radical Biology and Medicine**, vol. 95, p. 27–42, 2016. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.028>.

COUTO, S. R. Exploitation of biological wastes for the production of value-added products under solid-state fermentation conditions. **Biotechnology Journal**, vol. 3, p. 859–870, 2008. <https://doi.org/10.1002/biot.200800031>.

CREEDON, A.; CASHMAN, K. D. The effect of calcium intake on bone composition and bone resorption in the young growing rat. **British Journal of**

Nutrition, vol. 86, p. 453–459, 2001. <https://doi.org/10.1079/BJN2001419>.

CRITTENDEN, R. G.; MARTINEZ, N. R.; PLAYNE, M. J. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 80, no. 3, p. 217–222, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00170-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00170-8).

CSERMELY, P.; SCHNAIDER, T.; CSABA, S.; PROHÁSZKA, Z.; NARDAI, G. The 90-kDa molecular chaperone family: Structure, function, and clinical applications. A comprehensive review. **Pharmacology & Therapeutics**, vol. 79, no. 2, p. 129–168, 1998. .

CUI, J.; LIAN, Y.; ZHAO, C.; DU, H.; HAN, Y.; GAO, W.; XIAO, H.; ZHENG, J. Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 18, p. 1514–1532, 2019. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12489>.

DA SILVA, J. K.; BAÚ, C.; CAZARIN, B.; COLOMEU, T. C.; GIOVANA, Â.; MELETTI, L. M. M.; AUGUSTO, J.; PASCHOAL, R.; BOGUSZ, S.; FONTES, M.; GUILLERMO, F.; REYES, R.; AUGUSTO, F.; ROBERTO, M.; JÚNIOR, M.; LIMA, R. De. Antioxidant activity of aqueous extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) leaves : In vitro and in vivo study. **Food Research International**, vol. 53, p. 882–890, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.043>.

DABAJ, F. K.; LASEKAN, O.; MANAP, M. Y. A.; LING, F. H. Evaluation of the volatilomic potentials of the *Lactobacillus casei* 431 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 in fermented milk. **CYTA - Journal of Food**, vol. 18, no. 1, p. 291–300, 2020. DOI 10.1080/19476337.2020.1741688. Available at: <https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1741688>.

DAI, J.; TAO, L.; SHI, C.; YANG, S.; LI, D.; SHENG, J.; TIAN, Y. Fermentation Improves Calcium Bioavailability in *Moringa oleifera* leaves and Prevents Bone Loss in Calcium-deficient Rats. **Food Science and Nutrition**, vol. 8, p. 3692–3703, 2020. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1653>.

DAN, T.; WANG, D.; JIN, R. L.; ZHANG, H. P.; ZHOU, T. T.; SUN, T. S. Characterization of volatile compounds in fermented milk using solid-phase microextraction methods coupled with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Dairy Science**, vol. 100, no. 4, p. 2488–2500, 2017. DOI 10.3168/jds.2016-11528. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11528>.

DARNTON-HILL, I. Chapter 2: Prevalence, causes, and consequences of

micronutrient deficiencies. The gap between need and action. *In*: MANNAR, M. G. V.; HURRELL, R. F. (eds.). **Food Fortification in a Globalized World**. London: Elsevier Inc., 2018. p. 13–28. DOI 10.1016/b978-0-12-802861-2.00002-x. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802861-2.00002-X>.

DASARI, K.; MADU, C. O.; LU, Y. The role of oxidative stress in cancer. **Novel Approaches in Cancer Study**, vol. 4, no. 2, p. 350-, 2020. <https://doi.org/10.31031/nacs.2020.04.000585>.

DAVE, R. I.; SHAH, N. P. Evaluation of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus*. **Journal of Dairy Science**, vol. 79, no. 9, p. 1529–1536, 1996. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(96)76513-X. Available at: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76513-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76513-X).

DAVIS, C. D.; MILNER, J. A. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 20, no. 10, p. 743–752, 2009. DOI 10.1016/j.jnutbio.2009.06.001. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.06.001>.

DE VRESE, M.; MARTEAU, P. R. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. **The Journal of nutrition**, vol. 137, no. 3, p. 803–811, 2007. DOI 10.1016/B978-0-12-374938-3.00014-1. Available at: <http://proquest.umi.com/pqdwweb?did=1228922861&Fmt=7&clientId=65345&RQT=309&VName=PQD>.

DEGRUTTOLA, A. K.; LOW, D.; MIZOGUCHI, A.; MIZOGUCHI, E. Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. **Inflammatory Bowel Diseases**, vol. 22, no. 5, p. 1137–1150, 2016. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000750>.Current.

DEHGHAN, P.; GARGARI, B. P.; JAFAR-ABADI, M. A. Oligofructose-enriched inulin improves some inflammatory markers and metabolic endotoxemia in women with type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled clinical trial. **Nutrition**, vol. 30, p. 418–423, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.09.005>.

DESMOND, C.; STANTON, C.; FITZGERALD, G. F.; COLLINS, K.; ROSS, R. P. Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying. **International Dairy Journal**, vol. 12, p. 183–190, 2002. .

DOMINGOS, L. D. **Influência da redução de gordura e da adição de concentrado proteico de soro nas características do queijo prato durante a**

maturação. 2015. 117 f. UNICAMP, 2015.

DONKOR, O. N.; HENRIKSSON, A.; VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. **Lait**, vol. 86, no. 21, p. 21–38, 2007. <https://doi.org/10.1051/lait:2006023>.

DUBEY, M. R.; PATEL, V. P. Probiotics: A promising tool for calcium absorption. **The Open Nutrition Journal**, vol. 12, no. 1, p. 59–69, 2018. <https://doi.org/10.2174/1874288201812010059>.

DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics: current analytical platforms and methodologies. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 24, no. 4, p. 285–294, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.11.021>.

DUQUE, A. L. R. F.; MONTEIRO, M.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; SIVIERI, K. An exploratory study on the influence of orange juice on gut microbiota using a dynamic colonic model. **Food Research International**, vol. 84, p. 160–169, 2016. DOI 10.1016/j.foodres.2016.03.028. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.028>.

EDGAR, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. **Bioinformatics**, vol. 26, no. 19, p. 2460–2461, 2010. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq461>.

EDGAR, R. C.; HAAS, B. J.; CLEMENTE, J. C.; QUINCE, C.; KNIGHT, R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. **Bioinformatics**, vol. 27, no. 16, p. 2194–2200, 2011. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr381>.

EDKINS, A. L.; PRICE, J. T.; GRAHAM POCKLEY, A.; BLATCH, G. L. Heat shock proteins as modulators and therapeutic targets of chronic disease: An integrated perspective. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, vol. 373, no. 20160521, p. 1–7, 2017. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0521>.

EL-GAWAD, I. A. A.; MEHRIZ, A. E. M.; SALEH, F. A.; RAYAN, E. A. Bioavailability of Ca, P and Zn and bone mineralization in rats fed yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, vol. 4, no. 2, p. 110–126, 2014a. <https://doi.org/10.9734/ejnfs/2014/6856>.

EL-GAWAD, I. A. A.; MEHRIZ, A. E. M.; SALEH, F. A.; RAYAN, E. A. Bioavailability of Ca, P and Zn and bone mineralization in rats fed yoghurt and soy-yoghurt containing bifidobacteria. **European Journal of Nutrition & Food Safety**, vol.

4, no. 2, p. 110–126, 2014b. .

ELIZABETH, W. N.; YEUNG, M.; TONG, P. S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 145, no. 1, p. 169–175, 2011. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, vol. 82, no. 1, p. 70–77, 1959. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6).

ENCK, P.; ZIMMERMANN, K.; MENKE, G.; KLOSTERHALFEN, S. Randomized controlled treatment trial of irritable bowel syndrome with a probiotic *E. coli* preparation (DSM17252) compared to placebo. **Zeitschrift for Gastroenterologie**, vol. 47, no. 2, p. 209–214, 2009. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1027702>.

ERIKSEN, J. N.; LUU, A. Y.; DRAGSTED, L. O.; ARRIGONI, E. Adaption of an in vitro digestion method to screen carotenoid liberation and in vitro accessibility from differently processed spinach preparations. **Food Chemistry**, vol. 224, p. 407–413, 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2016.11.146. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.146>.

ESCUDERO-LÓPEZ, B.; CERRILLO, I.; GIL-IZQUIERDO, Á.; HORNERO-MÉNDEZ, D.; HERRERO-MARTÍN, G.; BERNÁ, G.; MEDINA, S.; FERRERES, F.; MARTÍN, F.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S. Effect of thermal processing on the profile of bioactive compounds and antioxidant capacity of fermented orange juice. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 67, no. 7, p. 779–788, 2016. <https://doi.org/10.1080/09637486.2016.1204428>.

ESPINAL-RUIZ, M.; PARADA-ALFONSO, F.; RESTREPO-SÁNCHEZ, L. P.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of dietary fibers [methyl cellulose, chitosan, and pectin] on digestion of lipids under simulated gastrointestinal conditions. **Food and Function**, vol. 5, no. 12, p. 3083–3095, 2014. <https://doi.org/10.1039/c4fo00615a>.

ESPÍRITO SANTO, A. P. do; CARTOLANO, N. S.; SILVA, T. F.; SOARES, F. A. S. M.; GIOIELLI, L. A.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; OLIVEIRA, M. N. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 154, no.

3, p. 135–144, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.025>.

ESPÍRITO SANTO, A. P. do; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, vol. 20, no. 6, p. 415–422, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.01.002>.

FAO/WHO. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report**. London: [s. n.], 2002. p. 1–11.

FAO. **The state of food and agriculture: Moving forward on food loss and waste reduction**. Rome: [s. n.], 2019. <https://doi.org/10.4324/9781315764788>.

FAO. **Top production Oranges - 2012**. [S. l.: s. n.], 2012. Available at: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Accessed on: 24 Feb. 2016.

FAUSTINO, M.; VEIGA, M.; SOUSA, P.; COSTA, E. M.; SILVA, S.; PINTADO, M. Agro-food byproducts as a new source of natural food additives. **Molecules**, vol. 24, no. 1056, p. 1–23, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24061056>.

FENG, T.; WANG, J. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review. **Gut Microbes**, vol. 12, no. 1, p. 24 p, 2020. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1801944>.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SENDRA-NADAL, E.; NAVARRO, C.; SAYAS, E.; VIUDA-MARTOS, M.; ALVAREZ, J. A. P. Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. **International Journal of Food Science & Technology**, vol. 44, no. 4, p. 748–756, 2009. DOI 10.1111/j.1365-2621.2008.01892.x. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2008.01892.x>.

FERNÁNDEZ, M.; HUDSON, J. A.; KORPELA, R.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G. Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: An overview. **BioMed Research International**, , p. 1–13, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/412714>.

FIDÉLIX, M.; MILENKOVIC, D.; SIVIERI, K.; CESAR, T. Microbiota modulation and effects on metabolic biomarkers by orange juice: a controlled clinical trial. **Food and Function**, vol. 11, p. 1599–1610, 2020. DOI 10.1039/c9fo02623a. Available at: <http://dx.doi.org/10.1039/c9fo02623a>.

FLOHÉ, L.; GÜNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods**

in **Enzymology**. [S. I.]: Academic Press, Inc., 1984. vol. 105, p. 114–120.

FRANZ, C. M. A. P.; HOLZAPFEL, W. H. The importance of understanding the stress physiology of lactic acid bacteria. *In*: TSAKALIDOU, E.; PAPADIMITRIOU, K. (eds.). **Stress responses of lactic acid bacteria**. Greece: Springer, 2011. p. 03–20. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.

FRATIANNI, A.; ALBANESE, D.; MIGNOGNA, R.; CINQUANTA, L.; PANFILI, G.; MATTEO, M. Di. Degradation of carotenoids in apricot (*Prunus armeniaca* L.) during drying process. **Plant Foods for Human Nutrition**, vol. 68, p. 241–246, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0369-6>.

FREIRE, J. A. P.; BARROS, K. B. N. T.; LIMA, L. K. F.; MARTINS, J. M.; ARAÚJO, Y. de C.; OLIVEIRA, G. L. da S.; AQUINO, J. de S.; FERREIRA, P. M. P. Phytochemistry profile, nutritional properties and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*. **Journal of Food Science**, vol. 81, no. 11, p. 2611–2622, 2016. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13529>.

FREITAS, J. V. B.; ALVES FILHO, E. G.; SILVA, L. M. A.; ZOCCOLO, G. J.; DE BRITO, E. S.; GRAMOSA, N. V. Chemometric analysis of NMR and GC datasets for chemotype characterization of essential oils from different species of *Ocimum*. **Talanta**, vol. 180, no. October 2017, p. 329–336, 2018. DOI 10.1016/j.talanta.2017.12.053. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.12.053>.

FRUMENTO, D.; DO ESPIRITO SANTO, A. P.; ALIAKBARIAN, B.; CASAZZA, A. A.; GALLO, M.; CONVERTI, A.; PEREGO, P. Development of *Lactobacillus acidophilus* fermented milk fortified with vitis vinifera marc flour. **Food Technology and Biotechnology**, vol. 51, no. 4, 2013. .

FU, D.; DENG, S.; MCCLEMENTS, D. J.; ZHOU, L.; ZOU, L.; YI, J.; LIU, C.; LIU, W. Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. **Food Hydrocolloids**, vol. 89, p. 80–89, 2019. DOI 10.1016/j.foodhyd.2018.10.032. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>.

FUKE, N.; NAGATA, N.; SUGANUMA, H.; OTA, T. Regulation of gut microbiota and metabolic endotoxemia with dietary factors. **Nutrients**, vol. 11, p. 1–38, 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11102277>.

GAHRUIE, H. H.; ESKANDARI, M. H.; MESBAHI, G. Development of

functional yogurt fortified with wheat germ and strawberry as functional ingredients. **Progress in Nutrition**, vol. 21, no. 1, p. 388–398, 2019. <https://doi.org/10.23751/pn.v21i1-S.6503>.

GAHRUIE, H. H.; ESKANDARI, M. H.; MESBAHI, G.; HANIFPOUR, M. A. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. **Food Science and Human Wellness**, vol. 4, p. 1–8, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.03.002>.

GALDEANO, C. M.; CAZORLA, S. I.; DUMIT, J. M. L.; VÉLEZ, E.; PERDIGÓN, G. Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. **Annals of Nutrition and Metabolism**, vol. 74, no. 2, p. 115–124, 2019. <https://doi.org/10.1159/000496426>.

GANDHI, A.; SHAH, N. P. Cell growth and proteolytic activity of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, and *Streptococcus thermophilus* in milk as affected by supplementation with peptide fractions. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 65, no. 8, p. 937–941, 2014. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.945154>.

GAO, X. W.; MUBASHER, M.; FANG, C. Y.; REIFER, C.; MILLER, L. E. Dose-response efficacy of a proprietary probiotic formula of *Lactobacillus acidophilus* CL1285 and *Lactobacillus casei* LBC80R for antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile*-associated diarrhea prophylaxis in adult patients. **The American journal of gastroenterology**, vol. 105, no. 7, p. 1636–1641, 2010. DOI 10.1038/ajg.2010.11. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2010.11>.

GARCIA, C.; GUERIN, M.; SOUIDI, K.; REMIZE, F. Lactic fermented fruit or vegetable juices: Past, present and future. **Beverages**, vol. 6, no. 8, p. 1–31, 2020. <https://doi.org/10.3390/beverages6010008>.

GARNETT, T. Food sustainability: Problems, perspectives and solutions. **Proceedings of the Nutrition Society**, vol. 72, p. 29–39, 2013. <https://doi.org/10.1017/S0029665112002947>.

GARRIDO, C.; GURBUXANI, S.; RAVAGNAN, L.; KROEMER, G. Heat shock proteins: Endogenous modulators of apoptotic cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, vol. 286, no. 3, p. 433–442, 2001. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5427>.

GERRITSEN, J.; SMIDT, H.; RIJKERS, G. T.; VOS, W. M. de. Intestinal microbiota in human health and disease: the impact of probiotics. **Genes and Nutrition**, vol. 6, p. 209–240, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12263-011-0229-7>.

GHANEM, K. Z.; BADAWEY, I. H.; ABDEL-SALAM, A. M. Influence of yoghurt and probiotic yoghurt on the absorption of calcium, magnesium, iron and bone mineralization in rats. **Milchwissenschaft**, vol. 59, no. 9–10, p. 472–475, 2004. Available at: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=16082591>. Accessed on: 25 Feb. 2016.

GHONEIM, M. A.; MOSELHY, S. S. Antioxidant status and hormonal profile reflected by experimental feeding of probiotics. **Toxicology and Industrial Health**, vol. 32, no. 4, p. 741–750, 2016. DOI 10.1177/0748233713506768. Available at: <https://doi.org/10.1177/0748233713506768>.

GHOSH, S.; CHATTERJEE, J. K.; CHALKROBORTY, B.; KUNDU, P. Estimation of beta carotene from fruit peel wastes by high performance thin layer chromatography. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, vol. 8, no. 1, p. 2598–2600, 2019. .

GHOSH, S. S.; WANG, J.; YANNIE, P. J.; GHOSH, S. Intestinal barrier dysfunction, LPS translocation, and disease development. **Journal of the Endocrine Society**, vol. 4, no. 2, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1210/jendso/bvz039>.

GIBSON, G. R.; MCCARTNEY, A. L.; RASTALL, R. A. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. **The British journal of nutrition**, vol. 93 Suppl 1, p. 31–34, 2005. <https://doi.org/10.1079/BJN20041343>.

GODOY, H. T.; RODRIGUEZ AMAYA, D. B. Occurrence of cis-isomers of provitamin A in Brazilian fruits. **Journal of Agricultural and food chemistry**, vol. 42, no. 6, p. 1306–1313, 1994. <https://doi.org/10.1021/jf00042a011>.

GOPAL, P. K. LACTOBACILLUS spp. | *Lactobacillus acidophilus*. In: FUQUAY, J. W. (ed.). **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2nd ed. [S. l.]: Elsevier, 2011. p. 91–95. <https://doi.org/10.1016/b0-12-227235-8/00239-x>.

GÓRSKA, A.; PRZYSTUPSKI, D.; NIEMCZURA, M. J.; KULBACKA, J. Probiotic bacteria: A promising tool in cancer prevention and therapy. **Current Microbiology**, vol. 76, no. 8, p. 939–949, 2019. DOI 10.1007/s00284-019-01679-8. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01679-8>.

GRAÇA, J. S. da; CASTRO, B. G. de; HECKLER, C.; BATISTA, P. B.; CAMARGO, R. L.; FURTADO, M. M.; FREIRE, L.; MELO, M. F. de; GONÇALVES, M. P. M. de B. B.; MOYA, A. M. T. M.; CAZARIN, C. B. B.; SAAD, M. J. A.; SANT'ANA, A. de S. O consumo de iogurtes contendo polpa de buriti e leites fermentados contendo bagaço de laranja aumenta a resposta do sistema endógeno antioxidante e

a expressão de proteínas de choque térmico de ratos saudáveis. **Em processo de redação para a submissão na revista “Food and Function,” 2021. .**

GRAÇA, J. S. da; FURTADO, M. M.; FREIRE, L.; WATANABE, C. A.; SANT’ANA, A. de S. Impact of stress pre-exposure on growth and viability of *Lactobacillus acidophilus* in natural, buriti pulp and orange by-product fermented milk products. **In submission process for International Journal of Food Microbiology, 2021. .**

GRAÇA, J. S. da; SILVA, J. G. S.; DIAS, L. G.; XAVIER, A. A. O.; FILHO, E. G. A.; BRITO, E. S. de; RODRIGUES, S.; PALLONE, J. A. L.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z.; SANT’ANA, A. de S. *Lactobacillus acidophilus* submetido à diferentes condições de estresse impacta na produção de metabólitos voláteis e bioacessibilidade de cálcio e carotenoides em lácteos fermentados. **Em processo de redação para a submissão na revista “International Journal of Food Microbiology,” 2021. .**

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts, and products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 9, no. 3, p. 292–302, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>.

GUARNER, F.; MALAGELADA, J.-R. Gut flora in health and disease. **Lancet**, vol. 360, p. 512–519, 2003. DOI 10.1016/S0140-6736(03)12489-0. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12583961> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12781578>.

GUÉGUEN, L.; POINTILLART, A. The bioavailability of dietary calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, vol. 19, no. 2, p. 119S-136S, 2000. <https://doi.org/10.1080/07315724.2000.10718083>.

GUERZONI, M. E.; VERNOCCHI, P.; NDAGIJIMANA, M.; GIANOTTI, A.; LANCIOTTI, R. Generation of aroma compounds in sourdough: Effects of stress exposure and lactobacilli-yeasts interactions. **Food Microbiology**, vol. 24, no. 2, p. 139–148, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.007>.

GUO, S.; AL-SADI, R.; SAID, H. M.; MA, T. Y. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. **The American Journal of Pathology**, vol. 182, no. 2, p. 375–387, 2013. DOI

10.1016/j.ajpath.2012.10.014. Available at:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.10.014>.

HALL, R. D. Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic. **New Phytologist**, vol. 169, p. 453–468, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01632.x>.

HAMADY, M.; LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. Fast UniFrac: Facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data. **The ISME Journal**, vol. 4, p. 17–27, 2010. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.97>.

HAMISHEHKAR, H.; RANJDOOST, F.; ASGHARIAN, P.; MAHMOODPOOR, A.; SANAIE, S. Vitamins, are they safe? **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, vol. 6, no. 4, p. 467–477, 2016. <https://doi.org/10.15171/apb.2016.061>.

HAMON, E.; HORVATOVICH, P.; IZQUIERDO, E.; BRINGEL, F.; MARCHIONI, E.; AOUDÉ-WERNER, D.; ENNAHAR, S. Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. **BMC Microbiology**, vol. 11, no. 63, p. 1–11, 2011. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-63>.

HANSEN, C.; WERNER, E.; ERBES, H. J.; LARRAT, V.; KALTWASSER, J. P. Intestinal calcium absorption from different calcium preparations: Influence of anion and solubility. **Osteoporosis International**, vol. 6, p. 386–393, 1996. <https://doi.org/10.1007/BF01623012>.

HASAN, M. N.; SULTAN, M. Z.; MAR-E-UM, M. Significance of fermented food in nutrition and food science. **Journal of Scientific Research**, vol. 6, no. 2, p. 373–386, 2014. <https://doi.org/10.3329/jsr.v6i2.16530>.

HASHEMI, Z.; FOUHSE, J.; IM, H. S.; CHAN, C. B.; WILLING, B. P. Dietary pea fiber supplementation improves glycemia and induces changes in the composition of gut microbiota, serum short chain fatty acid profile and expression of mucins in glucose intolerant rats. **Nutrients**, vol. 9, p. 1–14, 2017. <https://doi.org/10.3390/nu9111236>.

HASKELL, M. J. Provitamin A Carotenoids as a Dietary Source of Vitamin A. In: TANUMIHARDJO, S. A.; BENDICH, A. (eds.). **Carotenoids and Human Health**. New York: Springer, 2013. p. 248–260. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-203-2>.

HAVENAAR, R. Intestinal health functions of colonic microbial metabolites:

A review. **Beneficial Microbes**, vol. 2, no. 2, p. 103–114, 2011. <https://doi.org/10.3920/BM2011.0003>.

HAYES, M.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; HILL, C.; STANTON, C. Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 72, no. 3, p. 2260–2264, 2006. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.2260-2264.2006>.

HE, C.; DENG, J.; HU, X.; ZHOU, S.; WU, J.; XIAO, D.; DARKO, K. O.; HUANG, Y.; TAO, T.; PENG, M.; WANG, Z.; YANG, X. Vitamin A inhibits the action of LPS on the intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins. **Food and Function**, vol. 10, p. 1235–1242, 2019. <https://doi.org/10.1039/c8fo01123k>.

HEANEY, R. P.; RECKER, R. R.; WEAVER, C. M. Absorbability of calcium sources: The limited role of solubility. **Calcified Tissue International**, vol. 46, no. 5, p. 300–304, 1990. <https://doi.org/10.1007/BF02563819>.

HECK, T. G.; SCOMAZZON, S. P.; LUDWIG, M. S.; BITTENCOURT, P. I. H. de. Chapter 5: Role of heat shock proteins in skeletal muscle. **Skeletal Muscle - From Myogenesis to Clinical Relations**. [S. l.]: InTech, 2012. p. 105–122. <https://doi.org/10.5772/47815>.

HEDRÉN, E.; DIAZ, V.; SVANBERG, U. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. **European Journal of Clinical Nutrition**, vol. 56, no. 5, p. 425–430, 2002. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601329>.

HELKAR, P. B.; SAHOO, A.; PATIL, N. Review: Food industry by-products used as a functional food ingredients. **International Journal of Waste Resources**, vol. 6, no. 3, p. 1–6, 2016. <https://doi.org/10.4172/2252-5211.1000248>.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, vol. 11, p. 506–514, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

HOF, K. H. van het; WEST, C. E.; WESTSTRATE, J. A.; HAUTVAST, J. G. A. J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **The Journal of Nutrition**, vol. 130, no. 3, p. 503–506, 2000a. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/jn/130.3.503>.

HOF, K. H. van het; WEST, C. E.; WESTSTRATE, J. A.; HAUTVAST, J. G. A. J. Dietary factors that affect the bioavailability of carotenoids. **Journal of Nutrition**, vol. 130, no. 3, p. 503–506, 2000b. <https://doi.org/10.1093/jn/130.3.503>.

HORNERO-MÉNDEZ, D.; CERRILLO, I.; ORTEGA, Á.; RODRÍGUEZ-GRIÑOLO, M. R.; ESCUDERO-LÓPEZ, B.; MARTÍN, F.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S. β -Cryptoxanthin is more bioavailable in humans from fermented orange juice than from orange juice. **Food Chemistry**, vol. 262, p. 215–220, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.04.083. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.083>.

HOSSEINI, E.; GROOTAERT, C.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Propionate as a health-promoting microbial metabolite in the human gut. **Nutrition Reviews**, vol. 69, no. 5, p. 245–258, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00388.x>.

HU, S.; WANG, J.; XU, Y.; YANG, H.; WANG, J.; XUE, C.; YAN, X.; SU, L. Anti-inflammation effects of fucosylated chondroitin sulphate from: *Acaudina molpadioides* by altering gut microbiota in obese mice. **Food and Function**, vol. 10, p. 1736–1746, 2019. <https://doi.org/10.1039/c8fo02364f>.

HUANG, L. Optimization of a new mathematical model for bacterial growth. **Food Control**, vol. 32, no. 1, p. 283–288, 2013. DOI 10.1016/j.foodcont.2012.11.019. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.019>.

HUANG, M. L.; HUANG, J. Y.; KAO, C. Y.; FANG, T. J. Fermented soymilk and soy and cow milk mixture, supplemented with orange peel fiber or *Tremella flava* fermented powder as prebiotics for high exopolysaccharide-producing *Lactobacillus pentosus* SLC 13. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 99, no. 9, p. 4373–4382, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9671>.

HUANG, R.; PAN, M.; WAN, C.; SHAH, N. P.; TAO, X.; WEI, H. Physiological and transcriptional responses and cross protection of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 under acid stress. **Journal of Dairy Science**, vol. 99, no. 2, p. 1002–1010, 2016. DOI 10.3168/jds.2015-9993. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9993>.

HUANG, S.; PANG, D.; LI, X.; YOU, L.; ZHAO, Z.; CHEUNG, P. C. K.; ZHANG, M.; LIU, D. A sulfated polysaccharide from: *Gracilaria Lemaneiformis* regulates cholesterol and bile acid metabolism in high-fat diet mice. **Food and Function**, vol. 10, p. 3224–3236, 2019. <https://doi.org/10.1039/c9fo00263d>.

HUNT, J. R.; HUNT, C. D.; ZITO, C. A.; IDSO, J. P.; JOHNSON, L. K. Calcium requirements of growing rats based on bone mass, structure, or biomechanical strength are similar. **The Journal of Nutrition**, vol. 138, p. 1462–1468, 2008. .

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, vol. 54, no. 4, p. 287–293, 2018. DOI 10.1016/j.ajme.2017.09.001. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001>.

IKWEGBUE, P. C.; MASAMBA, P.; OYINLOYE, B. E.; KAPPO, A. P. Roles of heat shock proteins in apoptosis, oxidative stress, human inflammatory diseases, and cancer. **Pharmaceuticals**, vol. 11, no. 1, p. 1–18, 2018. <https://doi.org/10.3390/ph11010002>.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Leites e derivados. In: ZENEON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (eds.). **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. 4th ed. São Paulo: Núcleo de Informação e Tecnologia - NIT/IAL, 2008. p. 819–877.

IRIONDO-DEHOND, M.; MIGUEL, E.; DEL CASTILLO, M. D. Food byproducts as sustainable ingredients for innovative and healthy dairy foods. **Nutrients**, vol. 10, no. 1358, p. 1–24, 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10101358>.

ISANGA, J.; ZHANG, G. Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 42, p. 1132–1138, 2009. DOI 10.1016/j.lwt.2009.01.014. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.014>.

ISO:20128. Milk products — Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium — Colony-count technique at 37 °C. , p. 12, 2006. Available at: <https://www.iso.org/standard/35292.html>.

ITO, M.; OHISHI, K.; YOSHIDA, Y.; YOKOI, W.; SAWADA, H. Antioxidative effects of lactic acid bacteria on the colonic mucosa of iron-overloaded mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 51, no. 15, p. 4456–4460, 2003. <https://doi.org/10.1021/jf0261957>.

JIANG, L.; LV, J.; LIU, J.; HAO, X.; REN, F.; GUO, H. Donkey milk lysozyme ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis by improving intestinal barrier function and gut microbiota composition. **Journal of Functional Foods**, vol. 48, p.

144–152, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.07.005>.

JIMENEZ-ESCRIG, A. Polyphenol and carotenoid protection in biological systems through the modulation of antioxidant enzymes. **Current Enzyme Inhibition**, vol. 2, no. 3, p. 231–248, 2006. <https://doi.org/10.2174/157340806777934793>.

KAMIMURA, B. A.; CABRAL, L.; NORONHA, M. F.; BAPTISTA, R. C.; NASCIMENTO, H. M.; SANT'ANA, A. S. Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms. **Food Microbiology**, vol. 89, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103453>.

KANIS, J. A.; MCCLOSKEY, E. V.; JOHANSSON, H.; COOPER, C.; RIZZOLI, R.; REGINSTER, J. Y. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. **Osteoporosis International**, vol. 24, p. 23–57, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00198-012-2074-y>.

KAPILA, S.; KAPILA, R.; REDDI, S.; SINHA, P. R. Oral administration of probiotic *Lactobacillus casei* spp. *casei* ameliorates oxidative stress in rats. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, vol. 3, no. 9, p. 670–684, 2014. .

KÅRLUND, A.; GÓMEZ-GALLEGO, C.; KORHONEN, J.; PALO-OJA, O. M.; EL-NEZAMI, H.; KOLEHMAINEN, M. Harnessing microbes for sustainable development: Food fermentation as a tool for improving the nutritional quality of alternative protein sources. **Nutrients**, vol. 12, p. 1–26, 2020. <https://doi.org/10.3390/nu12041020>.

KAUSHIK, R.; SACHDEVA, B.; ARORA, S.; KAPILA, S.; WADHWA, B. K. Bioavailability of vitamin D2 and calcium from fortified milk. **Food Chemistry**, vol. 147, p. 307–311, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.150>.

KHORSHIDIAN, N.; YOUSEFI, M.; MORTAZAVIAN, A. M. Fermented milk: The most popular probiotic food carrier. **Advances in Food and Nutrition Research**. 1st ed. [S. l.]: Elsevier Inc., 2020. p. 91–114. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2020.06.007>.

KIERS, D.; LEIJTE, G. P.; GERRETSEN, J.; ZWAAG, J.; KOX, M.; PICKKERS, P. Comparison of different lots of endotoxin and evaluation of in vivo potency over time in the experimental human endotoxemia model. **Innate Immunity**, vol. 25, no. 1, p. 34–45, 2019. <https://doi.org/10.1177/1753425918819754>.

KIM, H. I.; KIM, J.-K.; KIM, J.-Y.; JANG, S.-E.; HAN, M. J.; KIM, D.-H.

Lactobacillus plantarum LC27 and *Bifidobacterium longum* LC67 simultaneously alleviate high-fat diet-induced colitis, endotoxemia, liver steatosis, and obesity in mice.

Nutrition Research, vol. 67, p. 78–89, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.03.008>.

KIOUKIA-FOUGIA, N.; GEORGIADIS, N.; TSAROUHAS, K.; VASILAKI, F.; FRAGIADAKI, P.; MEIMETI, E.; TSITSIMPIKOU, C. Synthetic and natural nutritional supplements: Health “allies” or risks to public health? **Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery**, vol. 10, p. 72–85, 2016. <https://doi.org/10.2174/1872213x10666160923163700>.

KLENIEWSKA, P.; HOFFMANN, A.; PNIEWSKA, E.; PAWLICZAK, R. B. The influence of probiotic *Lactobacillus casei* in combination with prebiotic inulin on the antioxidant capacity of human plasma. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, , p. 1–10, 2016. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2016/1340903>.

KŁOBUKOWSKI, J. A.; SKIBNIEWSKA, K. A.; KOWALSKI, I. M. Calcium bioavailability from dairy products and its release from food by in vitro. **Journal of Elementology**, vol. 19, no. 1, p. 277–288, 2014. <https://doi.org/10.5601/jelem.2014.19.1.436>.

KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação , persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 44, p. 329–347, 2008. .

KOSKENNIEMI, K.; LAAKSO, K.; KOPONEN, J.; KANKAINEN, M.; GRECO, D.; AUVINEN, P.; SAVIJOKI, K.; NYMAN, T. A.; SURAKKA, A.; SALUSJÄRVI, T.; DE VOS, W. M.; TYNKKYNEN, S.; KALKKINEN, N.; VARMANEN, P. Proteomics and transcriptomics characterization of bile stress response in probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Molecular and Cellular Proteomics**, vol. 10, no. 2, 2011. <https://doi.org/10.1074/mcp.M110.002741>.

KROYER, G. T. Impact of food processing on the environment: overview. **Food Science and Technology**, vol. 28, no. 6, p. 547–552, 1995. .

KRUGER, J.; TAYLOR, J. R. N.; FERRUZZI, M. G.; DEBELO, H. What is food-to-food fortification? A working definition and framework for evaluation of efficiency and implementation of best practices. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 19, p. 3618–3658, 2020. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12624>.

KUKKONEN, K.; SAVILAHTI, E.; HAAHTELA, T.; JUNTUNEN-BACKMAN,

K.; KORPELA, R.; POUSSA, T.; TUURE, T.; KUITUNEN, M. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, vol. 119, no. 1, p. 192–198, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2006.09.009>.

KUMAR, M.; KUMAR, A.; NAGPAL, R.; MOHANIA, D.; BEHARE, P.; VERMA, V.; KUMAR, P.; PODDAR, D.; AGGARWAL, P. K.; HENRY, C. J. K.; JAIN, S.; YADAV, H. Cancer-preventing attributes of probiotics : An update. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 61, no. 5, p. 473–496, 2010. <https://doi.org/10.3109/09637480903455971>.

KUN, S.; REZESSY-SZABÓ, J. M.; NGUYEN, Q. D.; HOSCHKE, Á. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. **Process Biochemistry**, vol. 43, no. 8, p. 816–821, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.03.008>.

KURUTAS, E. B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: Current state. **Nutrition Journal**, vol. 15, no. 71, p. 1–22, 2016. DOI 10.1186/s12937-016-0186-5. Available at: <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0186-5>.

KWAW, E.; MA, Y.; TCHABO, W.; APALIYA, M. T.; WU, M.; SACKKEY, A. S.; XIAO, L.; TAHIR, H. E. Effect of *Lactobacillus* strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. **Food Chemistry**, vol. 250, no. January, p. 148–154, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2018.01.009. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.009>.

KYOMUGASHO, C.; GWALA, S.; CHRISTIAENS, S.; JAMSAZZADEH KERMANI, Z.; VAN LOEY, A. M.; GRAUWET, T.; HENDRICKX, M. E. Pectin nanostructure influences pectin-cation interactions and in vitro-bioaccessibility of Ca²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺ and Mg²⁺-ions in model systems. **Food Hydrocolloids**, vol. 62, p. 299–310, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.07.030>.

LAGE, N. N.; LOPES, J. M. M.; PEREIRA, R. R.; DA COSTA GUERRA, J. F.; PEREIRA, M. de F. A.; SILVA, M.; DE FREITAS BONOMO, L.; DE LIMA, W. G.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. Antioxidant potential of Buriti (*Mauritia flexuosa*) pulp flour in diabetic rats. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, vol. 68, no. 1, p. 59–70, 2018. .

LAGKOUVARDOS, I.; LESKER, T. R.; HITCH, T. C. A.; GÁLVEZ, E. J. C.;

SMIT, N.; NEUHAUS, K.; WANG, J.; BAINES, J. F.; ABT, B.; STECHER, B.; OVERMANN, J.; STROWIG, T.; CLAVEL, T. Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family. **Microbiome**, vol. 7, no. 28, p. 1–15, 2019. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0637-2>.

LAHTINEN, S. J. Probiotic viability – does it matter? **Microbial Ecology in Health & Disease**, vol. 23, 2012. <https://doi.org/10.3402/mehd.v23i0.18567>.

LAMBERT, M. N. T.; THYBO, C. B.; LYKKEBOE, S.; RASMUSSEN, L. M.; FRETTE, X.; CHRISTENSEN, L. P.; JEPPESEN, P. B. Combined bioavailable isoflavones and probiotics improve bone status and estrogen metabolism in postmenopausal osteopenic women: A randomized controlled trial. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 106, p. 909–920, 2017. <https://doi.org/10.3945/ajcn.117.153353>.

LANNEAU, D.; BRUNET, M.; FRISAN, E.; SOLARY, E.; FONTENAY, M.; GARRIDO, C. Heat shock proteins: Essential proteins for apoptosis regulation. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol. 12, no. 3, p. 743–761, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2008.00273.x>.

LAYDEN, B. T.; ANGUEIRA, A. R.; BRODSKY, M.; DURAI, V.; LOWE, W. L. Short chain fatty acids and their receptors: New metabolic targets. **Translational Research**, vol. 161, no. 3, p. 131–140, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.10.007>.

LEBLANC, J. G.; CHAIN, F.; MARTÍN, R.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G.; COURAU, S.; LANGELLA, P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. **Microbial Cell Factories**, vol. 16, no. 79, p. 1–10, 2017. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0691-z>.

LEE, J. Y.; PAJARILLO, E. A. B.; KIM, M. J.; CHAE, J. P.; KANG, D. K. Proteomic and transcriptional analysis of *Lactobacillus johnsonii* PF01 during bile salt exposure by itraq shotgun proteomics and quantitative RT-PCR. **Journal of Proteome Research**, vol. 12, no. 1, p. 432–443, 2013. <https://doi.org/10.1021/pr300794y>.

LEE, M.-W.; LEE, H. J.; BACH, J. H.; PARK, S. C.; PARK, J. S.; LEE, K.-G.; YEO, J.-H.; LEE, W. B.; LEE, S. H.; KIM, S. S. Down-regulated reactive oxygen species by HSP90 in 3HK-induced SKN-SH cell death. **Journal of Thermal Biology**, vol. 30, no. 1, p. 43–49, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2004.06.005>.

LEE, S. G.; YANG, M.; WANG, Y.; VANCE, T.; LLOYD, B.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Impact of orange juice consumption on bone health of the U.S. population in the national health and nutrition examination survey 2003-2006. **Journal of Medicinal Food**, vol. 17, no. 10, p. 1142–1150, 2014. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.0072>.

LEI, X. G.; ZHU, J. H.; CHENG, W. H.; BAO, Y.; HO, Y. S.; REDDI, A. R.; HOLMGREN, A.; ARNÉR, E. S. J. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: Basic mechanisms and health implications. **Physiological Reviews**, vol. 96, no. 1, p. 307–364, 2016. <https://doi.org/10.1152/physrev.00010.2014>.

LEITE, A. V.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; EBERLIN, M. N.; PASTORE, G. M.; MARÓSTICA, M. R. Antioxidant potential of rat plasma by administration of freeze-dried jaboticaba peel (*Myrciaria jaboticaba Vell Berg*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 59, p. 2277–2283, 2011. .

LEMMENS, L.; COLLE, I.; VAN BUGGENHOUT, S.; PALMERO, P.; VAN LOEY, A.; HENDRICKX, M. Carotenoid bioaccessibility in fruit- and vegetable-based food products as affected by product (micro)structural characteristics and the presence of lipids: A review. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 38, no. 2, p. 125–135, 2014. DOI 10.1016/j.tifs.2014.05.005. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.005>.

LEVERRIER, P.; DIMOVA, D.; PICHEREAU, V.; AUFRAY, Y.; BOYAVAL, P.; JAN, G. Susceptibility and adaptive response to bile salts in *Propionibacterium freudenreichii*: Physiological and proteomic analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 69, no. 7, p. 3809–3818, 2003. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.3809-3818.2003>.

LI, D.; CHEN, H.; MAO, B.; YANG, Q.; ZHAO, J.; GU, Z.; ZHANG, H.; CHEN, Y. Q.; CHEN, W. Microbial biogeography and core microbiota of the rat digestive tract. **Scientific Reports**, vol. 7, p. 1–16, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep45840>.

LI, H.; LIU, F.; LU, J.; SHI, J.; GUAN, J.; YAN, F.; LI, B.; HUO, G. Probiotic mixture of *Lactobacillus plantarum* strains improves lipid metabolism and gut microbiota structure in high fat diet-fed mice. **Frontiers in Microbiology**, vol. 11, p. 1–17, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00512>.

LI, J.; WU, T.; LI, N.; WANG, X.; CHEN, G.; LYU, X. Bilberry anthocyanin extract promotes intestinal barrier function and inhibits digestive enzyme activity by

regulating the gut microbiota in aging rats. **Food and Function**, vol. 10, p. 333–343, 2019. <https://doi.org/10.1039/c8fo01962b>.

LI, L.; RAO, S.; CHENG, Y.; ZHUO, X.; DENG, C.; XU, N.; ZHANG, H.; YANG, L. Microbial osteoporosis: The interplay between the gut microbiota and bones via host metabolism and immunity. **MicrobiologyOpen**, vol. 8, p. 1–15, 2019. <https://doi.org/10.1002/mbo3.810>.

LI, R.; DING, Q.; ZHAO, X. Impact of milk fortification on the microbiological and physicochemical properties of set-type skimmed yoghurt using three commercial soluble prebiotics. **Foods**, vol. 8, no. 181, p. 1–11, 2019. .

LI, S.; TANG, S.; HE, Q.; HU, J.; ZHENG, J. Changes in proteolysis in fermented milk produced by *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus plantarum* or *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* during refrigerated storage. **Molecules**, vol. 24, p. 1–13, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24203699>.

LICANDRO, H.; HO, P. H.; NGUYEN, T. K. C.; PETCHKONGKAEW, A.; NGUYEN, H. Van; CHU-KY, S.; NGUYEN, T. V. A.; LORN, D.; WACHÉ, Y. How fermentation by lactic acid bacteria can address safety issues in legumes food products? **Food Control**, vol. 110, p. 1–8, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106957>.

LICHT, T. R.; HANSEN, M.; BERGSTRÖM, A.; POULSEN, M.; KRATH, B. N.; MARKOWSKI, J.; DRAGSTED, L. O.; WILCKS, A. Effects of apples and specific apple components on the cecal environment of conventional rats: Role of apple pectin. **BMC Microbiology**, vol. 10, no. 13, p. 1–11, 2010. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-13>.

LIGUORI, I.; RUSSO, G.; CURCIO, F.; BULLI, G.; ARAN, L.; DELLA-MORTE, D.; GARGIULO, G.; TESTA, G.; CACCIATORE, F.; BONADUCE, D.; ABETE, P. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, vol. 13, p. 757–772, 2018. <https://doi.org/10.2147/CIA.S158513>.

LIM, S. M. Microbiological, physicochemical, and antioxidant properties of plain yogurt and soy yogurt. **Korean Journal of Microbiology**, vol. 49, no. 4, p. 403–414, 2013. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3074>.

LIMA, K. G. de C.; KRUGER, M. F.; BEHRENS, J.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. de M. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the

presence of *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 42, no. 2, p. 491–495, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.08.011>.

LIN, H.-C.; HSU, C.-H.; CHEN, H.-L.; CHUNG, M.-Y.; HSU, J.-F.; LIEN, R.; TSAO, L.-Y.; CHEN, C.-H.; SU, B.-H. Oral probiotics prevent necrotizing enterocolitis in very low birth weight preterm infants: a multicenter, randomized, controlled trial. **Pediatrics**, vol. 122, no. 4, p. 693–700, 2008. DOI 10.1542/peds.2007-3007. Available at: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/abstract/122/4/693>.

LIU, Y.; CHENG, H.; LIU, H.; MA, R.; MA, J.; FANG, H. Fermentation by multiple bacterial strains improves the production of bioactive compounds and antioxidant activity of Goji juice. **Molecules**, vol. 24, no. 19, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24193519>.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, vol. 4, no. 8, p. 118–126, 2010. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>.

LÓPEZ-HUERTAS, E.; TEUCHER, B.; BOZA, J. J.; MARTÍNEZ-FÉREZ, A.; MAJSK-NEWMAN, G.; BARÓ, L.; CARRERO, J. J.; GONZÁLEZ-SANTIAGO, M.; FONOLLÁ, J.; FAIRWEATHER-TAIT, S. Absorption of calcium from milks enriched with fructooligosaccharides, caseinophosphopeptides, tricalcium phosphate, and milk solids. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 83, no. 2, p. 310–316, 2006. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.2.310>.

LORIEAU, L.; LE ROUX, L.; GAUCHERON, F.; LIGNEUL, A.; HAZART, E.; DUPONT, D.; FLOURY, J. Bioaccessibility of four calcium sources in different whey-based dairy matrices assessed by in vitro digestion. **Food Chemistry**, vol. 245, p. 454–462, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.108>.

LOUIS, P.; FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, vol. 19, no. 1, p. 29–41, 2017. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13589>.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**, vol. 11, p. 1–17, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00036-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00036-X).

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 71, no. 12, p. 8228–8235, 2005. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>.

LU, Y.; HU, F.; MIYAKAWA, T.; TANOKURA, M. Complex mixture analysis of organic compounds in yogurt by NMR spectroscopy. **Metabolites**, vol. 6, no. 19, p. 1–11, 2016. <https://doi.org/10.3390/metabo6020019>.

LU, Yi; ISHIKAWA, H.; KWON, Y.; HU, F.; MIYAKAWA, T.; TANOKURA, M. Real-Time monitoring of chemical changes in three kinds of fermented milk products during fermentation using quantitative difference Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 66, no. 6, p. 1479–1487, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05279>.

LUTGENDORFF, F.; NIJMEIJER, R. M.; SANDSTROM, P. A.; TRULSSON, L. M.; MAGNUSSON, K.-E.; TIMMERMAN, H. M.; MINNEN, L. P. van; RIJKERS, G. T.; GOOSZEN, H. G.; AKKERMANS, L. M. A.; SODERHOLM, J. D. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. **Plos One**, vol. 4, no. 2, p. 1–13, 2009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004512>.

LUX, P. E.; CARLE, R.; ZACARÍAS, L.; RODRIGO, M. J.; SCHWEIGGERT, R. M.; STEINGASS, C. B. Genuine carotenoid profiles in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Navel] peel and pulp at different maturity stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 67, no. 47, p. 13164–13175, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06098>.

M'HIRI, N.; IOANNOU, I.; GHOU, M.; BOUDHRIQUA, N. M. Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review. **Food Reviews International**, vol. 33, no. 6, p. 587–619, 2017. DOI 10.1080/87559129.2016.1196489. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2016.1196489>.

M'HIRI, N.; IOANNOU, I.; GHOU, M.; MIHOUBI BOUDHRIQUA, N. Phytochemical characteristics of citrus peel and effect of conventional and nonconventional processing on phenolic compounds: A review. **Food Reviews International**, vol. 33, no. 6, p. 587–619, 2017. DOI 10.1080/87559129.2016.1196489. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/87559129.2016.1196489>.

MA, J.; XU, C.; LIU, F.; HOU, J.; SHAO, H.; YU, W. Stress adaptation and cross-protection of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0628. **CyTA - Journal of Food**, vol. 19, no. 1, p. 72–80, 2021. DOI 10.1080/19476337.2020.1859619. Available at:

<https://doi.org/10.1080/19476337.2020.1859619>.

MACOUZET, M.; LEE, B. H.; ROBERT, N. Production of conjugated linoleic acid by probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 106, p. 1886–1891, 2009. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04164.x>.

MADHU, A. N.; AMRUTHA, N.; PRAPULLA, S. G. Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, vol. 4, no. 2, p. 90–97, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12602-012-9099-6>.

MAGLARA, A. A.; VASILAKI, A.; JACKSON, M. J.; MCARDLE, A. Damage to developing mouse skeletal muscle myotubes in culture: Protective effect of heat shock proteins. **Journal of Physiology**, vol. 548, no. 3, p. 837–846, 2003. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.034520>.

MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, vol. 97, p. 2578–2590, 2014a. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7551>.

MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, vol. 97, no. 5, p. 2578–2590, 2014b. DOI 10.3168/jds.2013-7551. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7551>.

MAPELLI-BRAHM, P.; BARBA, F. J.; REMIZE, F.; GARCIA, C.; FESSARD, A.; MOUSAVI KHANEGHAH, A.; SANT'ANA, A. S.; LORENZO, J. M.; MONTESANO, D.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 99, p. 389–401, 2020. DOI 10.1016/j.tifs.2020.03.013. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.013>.

MARCO, M. L.; HEENEY, D.; BINDA, S.; CIFELLI, C. J.; COTTER, P. D.; FOLIGNÉ, B.; GÄNZLE, M.; KORT, R.; PASIN, G.; PIHLANTO, A.; SMID, E. J.; HUTKINS, R. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. **Current Opinion in Biotechnology**, vol. 44, p. 94–102, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>.

MARTIN, F. P. J.; WANG, Y.; SPRENGER, N.; HOLMES, E.; LINDON, J. C.; KOCHHAR, S.; NICHOLSON, J. K. Effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* treatment on the host gut tissue metabolic profiles probed via magic-angle-spinning NMR spectroscopy. **Journal of Proteome Research**, vol. 6, no. 4, p. 1471–1481,

2007. <https://doi.org/10.1021/pr060596a>.

MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; GÓMEZ, R. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. **International Dairy Journal**, vol. 17, p. 116–122, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.02.003>.

MASOOD, M. I.; QADIR, M. I.; SHIRAZI, J. H.; KHAN, I. U. Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings. **Critical reviews in microbiology**, vol. 37, no. 1, p. 91–98, 2011. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2010.536522>.

MATAR, C.; AMIOT, J.; SAVOIE, L.; GOULET, J. The effect of milk fermentation by *Lactobacillus helveticus* on the release of peptides during in vitro digestion. **Journal of Dairy Science**, vol. 79, no. 6, p. 971–979, 1996. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(96)76448-2. Available at: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76448-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76448-2).

MATEJČEKOVÁ, Z.; DUJMIC, E.; LIPTÁKOVÁ, D.; VALÍK, L. Modeling of lactic acid fermentation of soy formulation with *Lactobacillus plantarum* HM1. **Food Science and Technology International**, vol. 25, no. 2, p. 141–149, 2018. <https://doi.org/10.1177/1082013218803257>.

MATEJČEKOVÁ, Z.; LIPTÁKOVÁ, D.; SPODNIÁKOVÁ, S.; VALÍK, L. Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. **Acta Chimica Slovaca**, vol. 9, no. 2, p. 104–108, 2016. <https://doi.org/10.1515/acs-2016-0018>.

MATEJČEKOVÁ, Z.; LIPTÁKOVÁ, D.; VALÍK, L. Functional probiotic products based on fermented buckwheat with *Lactobacillus rhamnosus*. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 81, p. 35–41, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.018>.

MATEJČEKOVÁ, Z.; LIPTÁKOVÁ, D.; VALÍK, L. Fermentation of milk- and water-based amaranth mash. **Acta Chimica Slovaca**, vol. 8, no. 2, p. 140–145, 2015. <https://doi.org/10.1515/acs-2015-0024>.

MATEJČEKOVÁ, Z.; SOLTÉSZOVÁ, F.; ACAI, P.; LIPTÁKOVÁ, D.; VALÍK, L. Application of *Lactobacillus plantarum* in functional products based on fermented buckwheat. **Journal of Food Science**, vol. 83, no. 4, p. 1053–1062, 2018. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14090>.

MATTHES, H.; KRUMMENERL, T.; GIENSCH, M.; WOLFF, C.; SCHULZE, J. Clinical trial: probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally

administered *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). **BMC complementary and alternative medicine**, vol. 10, p. 13, 2010. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-10-13>.

MAUS, J. E.; INGHAM, S. C. Employment of stressful conditions during culture production to enhance subsequent cold- and acid-tolerance of bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 95, p. 146–154, 2003. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01954.x>.

MCCLEMENTS, D. J. Enhanced delivery of lipophilic bioactives using emulsions: A review of major factors affecting vitamin, nutraceutical, and lipid bioaccessibility. **Food and Function**, vol. 9, no. 1, p. 22–41, 2018. <https://doi.org/10.1039/c7fo01515a>.

MCGOWAN, C.; DONALDSON, W. E. Changes in organ nonprotein sulfhydryl and glutathione concentrations during acute and chronic administration of inorganic lead to chicks. **Biological Trace Element Research**, vol. 10, no. 1, p. 37–46, 1986. <https://doi.org/10.1007/BF02795317>.

MCNULTY, N. P.; YATSUNENKO, T.; HSIAO, A.; FAITH, J. J.; MUEGGE, B. D.; GOODMAN, A. L.; HENRISSAT, B.; OOZEER, R.; COOLS-PORTIER, S.; GOBERT, G.; CHERVAUX, C.; KNIGHTS, D.; LOZUPONE, C. A.; KNIGHT, R.; DUNCAN, A. E.; BAIN, J. R.; MUEHLBAUER, M. J.; NEWGARD, C. B.; HEATH, A. C.; GORDON, J. I. The impact of a consortium of fermented milk strains on the gut microbiome of gnotobiotic mice and monozygotic twins. **Science Translational Medicine**, vol. 3, no. 106, p. 1–14, 2011. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3002701>.

MEEHAN, C. J.; BEIKO, R. G. A phylogenomic view of ecological specialization in the Lachnospiraceae, a family of digestive tract-associated bacteria. **Genome Biology and Evolution**, vol. 6, no. 3, p. 703–713, 2014. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu050>.

MENG, Y.; LI, X.; ZHANG, J.; WANG, C.; LU, F. Effects of different diets on microbiota in the small intestine mucus and weight regulation in rats. **Scientific Reports**, vol. 9, p. 1–12, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44994-7>.

MENKOVSKA, M.; TOMOVSKA, J.; GJORGIEVSKI, N. Fermentation of milk with a view of antioxidant activity. **International Journal of Biotechnology and Bioengineering**, vol. 3, no. 7, p. 254–257, 2017. <https://doi.org/10.25141/2475-3432-2017-7.0245>.

MEYBODI, N. M.; MORTAZAVIAN, A. M.; ARAB, M.; NEMATOLLAHI, A.

Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. **International Dairy Journal**, vol. 109, p. 1–10, 2020. DOI 10.1016/j.idairyj.2020.104793. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>.

MILAGRES, R. C. R. M.; NUNES, L. C.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. A deficiência de vitamina A em crianças no Brasil e no mundo. **Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 12, no. 5, p. 1253–1266, 2007. .

MILANEZ, J. T.; NEVES, L. C.; COLOMBO, R. C.; SHAHAB, M.; ROBERTO, S. R. Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, vol. 227, no. December 2016, p. 10–21, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.045>.

MILANI, J.; MALEKI, G. Hydrocolloids in Food Industry. *In*: VALDEZ, B. (ed.). **Food Industrial Processes - Methods and Equipment**. [S. l.]: IntechOpen, 2012. p. 17–38. <https://doi.org/10.5772/2491>.

MIQUEL, E.; ALEGRÍA, A.; BARBERÁ, R.; FARRÉ, R. Casein phosphopeptides released by simulated gastrointestinal digestion of infant formulas and their potential role in mineral binding. **International Dairy Journal**, vol. 16, no. 9, p. 992–1000, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.010>.

MISHRA, V.; SHAH, C.; MOKASHE, N.; CHAVAN, R.; YADAV, H.; PRAJAPATI, J. Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 63, no. 14, p. 3615–3626, 2015. <https://doi.org/10.1021/jf506326t>.

MOHAMMADI, R.; SOHRABVANDI, S.; MORTAZAVIAN, A. M. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. **Engineering in Life Sciences**, vol. 12, no. 4, p. 399–409, 2012. <https://doi.org/10.1002/elsc.201100125>.

MONK, J. M.; LEPP, D.; WU, W.; PAULS, K. P.; ROBINSON, L. E.; POWER, K. A. Navy and black bean supplementation primes the colonic mucosal microenvironment to improve gut health. **Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 49, p. 89–100, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.08.002>.

MONTALTO, M.; D'ONOFRIO, F.; GALLO, A.; CAZZATO, A.; GASBARRINI, G. Intestinal microbiota and its functions. **Digestive and Liver Disease Supplements**, vol. 3, p. 30–34, 2009. [https://doi.org/10.1016/S1594-5804\(09\)60016-4](https://doi.org/10.1016/S1594-5804(09)60016-4).

MORIFUJI, M.; ICHIKAWA, S.; KITADE, M.; FUKASAWA, T.; ASAMI, Y.; MANABE, Y.; SUGAWARA, T. Exopolysaccharides from milk fermented by lactic acid bacteria enhance dietary carotenoid bioavailability in humans in a randomized crossover trial and in rats. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 111, no. 4, p. 903–914, 2020. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqaa020>.

MORRISON, D. J.; PRESTON, T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. **Gut Microbes**, vol. 7, no. 3, p. 189–200, 2016. <https://doi.org/10.1080/19490976.2015.1134082>.

MOURA, C. S.; LOLLO, P. C. B.; MORATO, P. N.; AMAYA-FARFAN, J. Dietary nutrients and bioactive substances modulate heat shock protein (HSP) expression: A review. **Nutrients**, vol. 10, no. 683, p. 1–13, 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10060683>.

MOURA, C. S.; LOLLO, P. C. B.; MORATO, P. N.; ESMERINO, E. A.; MARGALHO, L. P.; SANTOS-JUNIOR, V. A.; COIMBRA, P. T.; CAPPATO, L. P.; SILVA, M. C.; GARCIA-GOMES, A. S.; GRANATO, D.; BOLINI, H. M. A.; ANA, A. S. S.; CRUZ, A. G.; AMAYA-FARFAN, J. Assessment of antioxidant activity, lipid profile, general biochemical and immune system responses of Wistar rats fed with dairy dessert containing *Lactobacillus acidophilus* La-5. **Food Research International**, vol. 90, p. 275–280, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.042>.

MOURA, C. S.; LOLLO, P. C. B.; MORATO, P. N.; NISISHIMA, L. H.; CARNEIRO, E. M.; AMAYA-FARFAN, J. Whey protein hydrolysate enhances HSP90 but does not alter HSP60 and HSP25 in skeletal muscle of rats. **Plos One**, vol. 9, no. 1, p. 1–9, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083437>.

MOZZETTI, V.; GRATTEPANCHE, F.; BERGER, B.; REZZONICO, E.; ARIGONI, F.; LACROIX, C. Fast screening of bifidobacterium longum sublethal stress conditions in a novel twostage continuous culture strategy. **Beneficial Microbes**, vol. 4, no. 2, p. 167–178, 2013. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0026>.

MUN, S.; PARK, S.; KIM, Y. R.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of methylcellulose on attributes of β -carotene fortified starch-based filled hydrogels: Optical, rheological, structural, digestibility, and bioaccessibility properties. **Food Research International**, vol. 87, p. 18–24, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.06.008>.

MUTSOKOTI, L.; PANOZZO, A.; PALLARES PALLARES, A.; JAISWAL, S.; VAN LOEY, A.; GRAUWET, T.; HENDRICKX, M. Carotenoid bioaccessibility and the

relation to lipid digestion: A kinetic study. **Food Chemistry**, vol. 232, p. 124–134, 2017. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.04.001. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.001>.

NAGPAL, R.; KUMAR, A.; KUMAR, M.; BEHARE, P. V.; JAIN, S.; YADAV, H. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: A review. **FEMS Microbiology Letters**, vol. 334, no. 1, p. 1–15, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012.02593.x>.

NAGPAL, R.; WANG, S.; AHMADI, S.; HAYES, J.; GAGLIANO, J.; SUBASHCHANDRABOSE, S.; KITZMAN, D. W.; BECTON, T.; READ, R.; YADAV, H. Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. **Scientific Reports**, vol. 8, p. 1–15, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30114-4>.

NARVA, M.; COLLIN, M.; LAMBERG-ALLARDT, C.; KÄRKKÄINEN, M.; POUSSA, T.; VAPAATALO, H.; KORPELA, R. Effects of long-term intervention with *Lactobacillus helveticus*-fermented milk on bone mineral density and bone mineral content in growing rats. **Annals of Nutrition and Metabolism**, vol. 48, no. 4, p. 228–234, 2004. <https://doi.org/10.1159/000080455>.

NASCIMENTO-SILVA, N. R. R.; SILVA, F. A.; SILVA, M. R. Physicochemical composition and antioxidants of buriti (*Mauritia flexuosa* Linn . F .) – pulp and sweet. **Journal of Bioenergy and Food Science**, vol. 07, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.18067/jbfs.v7i1.279>.

NASSERI, A. T.; THIBAUT, J.-F.; RALET, M.-C. Citrus pectin: Structure and application in acid dairy drinks. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**. 2 Special. [S. I.]: Global Science Books, 2008. p. 60–70.

NESTLE, M. **Food politics: How the food industry influences nutrition and health**. Berkeley: University of California Press, 2013.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P. An overview of the brazilian citriculture. Frankfurt, Germany, , p. 15, 2011. Available at: http://www.ifama.org/files/conf/2011/Symposium Papers/284_Symposium Paper.pdf.

NG, E. W.; YEUNG, M.; TONG, P. S. Effects of yogurt starter cultures on the survival of *Lactobacillus acidophilus*. **International Journal of Food Microbiology**, vol. 145, no. 1, p. 169–175, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.006>.

NG, S. C.; HART, A. L.; KAMM, M. A.; STAGG, A. J.; KNIGHT, S. C.

Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. **Inflammatory Bowel Diseases**, vol. 15, no. 2, p. 300–310, 2009. <https://doi.org/10.1002/ibd.20602>.

NGOUNOU, C. J.; NDJOUENKEU, R.; MBOFUNG, C. M. F.; NOUBI, L. Mise en evidence de la biodisponibilité du calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé de zébu. **Journal of Food Engineering**, vol. 57, p. 301–304, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00302-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00302-3).

NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E.; KINROSS, J.; BURCELIN, R.; GIBSON, G.; JIA, W.; PETTERSSON, S. Host-gut microbiota metabolic interactions. **Science**, vol. 336, p. 1262–1268, 2012. .

NIESENBAUM, R. A. The integration of conservation, biodiversity, and sustainability. **Sustainability**, vol. 11, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.3390/su11174676>.

NISHITANI, Y.; SASAKI, E.; FUJISAWA, T.; OSAWA, R. Genotypic analyses of lactobacilli with a range of tannase activities isolated from human feces and fermented foods. **Systematic and Applied Microbiology**, vol. 27, no. 1, p. 109–117, 2004. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00262>.

NKHATA, S. G.; AYUA, E.; KAMAU, E. H.; SHINGIRO, J. B. Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. **Food Science and Nutrition**, vol. 6, p. 2446–2458, 2018. <https://doi.org/10.1002/fsn3.846>.

NOCE, A.; MARRONE, G.; DANIELE, F. Di; OTTAVIANI, E.; JONES, G. W.; BERNINI, R.; ROMANI, A.; ROVELLA, V. Impact of gut microbiota composition on onset and progression of chronic non-communicable diseases. **Nutrients**, vol. 11, p. 1–35, 2019. <https://doi.org/doi:10.3390/nu11051073>.

O'FLAHERTY, S.; CRAWLEY, A. B.; THERIOT, C. M.; BARRANGOUA, R. The Lactobacillus bile salt hydrolase repertoire reveals niche-specific adaptation. **mSphere** 3:e00140-18., , p. 1–13, 2018. .

OAK, S. J.; JHA, R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 59, no. 11, p. 1675–1683, 2019. DOI 10.1080/10408398.2018.1425977. Available at: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>.

OHARA, T.; MORI, T. Antiproliferative effects of short-chain fatty acids on human colorectal cancer cells via gene expression inhibition. **Anticancer Research**,

vol. 39, p. 4659–4666, 2019. <https://doi.org/10.21873/anticanres.13647>.

OLIVEIRA, M. de. Fermented milks: Fermented milks and yogurt. *In*: BATT, C. A.; TORTORELLO, M. Lou (eds.). **Encyclopedia of Food Microbiology**. Second edi. [S. l.]: Elsevier Ltd., 2014. vol. 1, p. 908–922. DOI 10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00121-X>.

OLIVEIRA, S. D. de; ARAÚJO, C. M.; BORGES, G. da S. C.; LIMA, M. dos S.; VIERA, V. B.; GARCIA, E. F.; DE SOUZA, E. L.; DE OLIVEIRA, M. E. G. Improvement in physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant activity of acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit by-products fermented with potentially probiotic lactobacilli. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 134, no. 110200, p. 1–9, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110200>.

OLOO, B. O.; SHITANDI, A.; MAHUNGU, S.; MALINGA, J. B.; ROSE, O. B. Effects of lactic acid fermentation on the retention of beta-carotene content in orange fleshed sweet potatoes. **International Journal of Food Studies**, vol. 3, no. 1, p. 13–33, 2014. <https://doi.org/10.7455/ijfs/3.1.2014.a2>.

OZCAN, T.; YILMAZ-ERSAN, L.; AKPINAR-BAYIZIT, A.; DELIKANLI, B. Antioxidant properties of probiotic fermented milk supplemented with chestnut flour (*Castanea sativa* Mill). **Journal of Food Processing and Preservation**, vol. 41, no. 5, 2017. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13156>.

ÖZER, B.; ATASOY, F. Effect of addition of amino acids, treatment with β -galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 55, no. 4, p. 166–170, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00041.x>.

PACHECO, M. T.; MORENO, F. J.; VILLAMIEL, M. Chemical and physicochemical characterization of orange by-products derived from industry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 99, no. 2, p. 868–876, 2019. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9257>.

PAPADIMITRIOU, K.; ALEGRÍA, Á.; BRON, P. A.; DE ANGELIS, M.; GOBBETTI, M.; KLEEREBEZEM, M.; LEMOS, J. A.; LINARES, D. M.; ROSS, P.; STANTON, C.; TURRONI, F.; VAN SINDEREN, D.; VARMANEN, P.; VENTURA, M.; ZÚÑIGA, M.; TSAKALIDOU, E.; KOK, J. Stress physiology of lactic acid bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, vol. 80, no. 3, p. 837–890, 2016. <https://doi.org/10.1128/mmmbr.00076-15>.

PARADA, J.; AGUILERA, J. M. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. **Journal of Food Science**, vol. 72, no. 2, p. 21–32, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>.

PARLINDUNGAN, E.; MAY, B. K.; JONES, O. A. H. Metabolic insights into the effects of nutrient stress on *Lactobacillus plantarum* B21. **Frontiers in Molecular Biosciences**, vol. 6, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00075>.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; AH KANG, S.; KIM, H. Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 100, p. 1171–1185, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02963.x>.

PATEL, A.; SHAH, N.; PRAJAPATI, J. B. Biosynthesis of vitamins and enzymes in fermented foods by lactic acid bacteria and related genera - A promising approach. **Croatian Journal of Food Science and technology**, vol. 5, p. 85–91, 2013. .

PENEDO, L. A.; NUNES, J. C.; GAMA, M. A. S.; LEITE, P. E. C.; QUIRICO-SANTOS, T. F.; TORRES, A. G. Intake of butter naturally enriched with cis9, trans11 conjugated linoleic acid reduces systemic inflammatory mediators in healthy young adults. **Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 24, p. 2144–2151, 2013. DOI 10.1016/j.jnutbio.2013.08.006. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.08.006>.

PÉNICAUD, C.; ACHIR, N.; DHUIQUE-MAYER, C.; DORNIER, M.; BOHUON, P. Degradation of β -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. **Fruits**, vol. 66, no. 6, p. 417–440, 2011. <https://doi.org/10.1051/fruits/2011058>.

PENNA, A. L. B.; PAULA, A. T. De; CASAROTTI, S. N.; SILVA, L. F.; DIAMANTINO, V. R.; TODOROV, S. D. Overview of the functional lactic acid bacteria in fermented milk products. In: RAI, V. R.; BAI, J. A. (eds.). **Beneficial Microbes in Fermented and Functional Foods**. 1st ed. New York: CRC Press, 2014. p. 113–148.

PEREIRA, F. C.; WASMUND, K.; COBANKOVIC, I.; JEHLICH, N.; HERBOLD, C. W.; LEE, K. S.; SZIRANYI, B.; VESELY, C.; DECKER, T.; STOCKER, R.; WARTH, B.; VON BERGEN, M.; WAGNER, M.; BERRY, D. Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces *Clostridiodes difficile* colonization. **Nature Communications**, vol. 11, p. 1–15, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18928-1>.

PICARD, D. Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation.

Cellular and molecular life sciences, vol. 59, p. 1640–1648, 2002. <https://doi.org/10.1007/PL00012491>.

PIHLANTO, A.; VIRTANEN, T.; KORHONEN, H. Angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. **International Dairy Journal**, vol. 20, no. 1, p. 3–10, 2010. DOI 10.1016/j.idairyj.2009.07.003. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.07.003>.

PINHEIRO, M. M.; CICONELLI, R. M.; JACQUES, N. D. O.; GENARO, P. S.; MARTINI, L. a; FERRAZ, M. B. O impacto da osteoporose no Brasil: dados regionais das fraturas em homens e mulheres adultos - The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Revista Brasileira de Reumatologia**, vol. 50, no. 2, p. 113–120, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0482-50042010000200002>.

PINTO, G.; CAIRA, S.; CUOLLO, M.; LILLA, S.; CHIANESE, L.; ADDEO, F. Chapter 1: Bioactive casein phosphopeptides in dairy products as nutraceuticals for functional foods. **Milk Protein**. [S. l.]: InTech, 2012. p. 3–44. <https://doi.org/10.5772/50725>.

PIZZINO, G.; IRRERA, N.; CUCINOTTA, M.; PALLIO, G.; MANNINO, F.; ARCORACI, V.; SQUADRITO, F.; ALTAVILLA, D.; BITTO, A. Oxidative stress: Harms and benefits for human health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, , p. 1–13, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.

PLAZA-DIÁZ, J.; ROBLES-SÁNCHEZ, C.; ABADIÁ-MOLINA, F.; MORÓN-CALVENTE, V.; SAÉZ-LARA, M. J.; RUIZ-BRAVO, A.; JIMÉNEZ-VALERA, M.; GIL, Á.; GÓMEZ-LLORENTE, C.; FONTANA, L. Adamdec1, Ednrb and Ptgs1/Cox1, inflammation genes upregulated in the intestinal mucosa of obese rats, are downregulated by three probiotic strains. **Scientific Reports**, vol. 7, p. 1–10, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02203-3>.

PRIYADARSHANI, A. M. B. A review on factors influencing bioaccessibility and bioefficacy of carotenoids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 57, no. 8, p. 1710–1717, 2017. DOI 10.1080/10408398.2015.1023431. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2015.1023431>.

PRYNNE, C. J.; MISHRA, G. D.; O'CONNELL, M. A.; MUNIZ, G.; LASKEY, M. A.; YAN, L.; PRENTICE, A.; GINTY, F. Fruit and vegetable intakes and bone mineral status: A cross-sectional study in 5 age and sex cohorts. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 83, p. 1420–1428, 2006.

<https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1420>.

QIU, C.; ZHAO, M.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion. **Food Research International**, vol. 74, p. 131–139, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.022>.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, vol. 41, p. 590–596, 2013. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>.

QUATRIN, A.; RAMPELOTTO, C.; PAULETTO, R.; MAURER, L. H.; NICHELLE, S. M.; KLEIN, B.; RODRIGUES, R. F.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; FONSECA, B. de S.; DE MENEZES, C. R.; MELLO, R. de O.; RODRIGUES, E.; BOCHI, V. C.; EMANUELLI, T. Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, vol. 65, p. 1–14, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103714>.

RACHNER, T. D.; KHOSLA, S.; HOFBAUER, L. C. Osteoporosis: Now and the future. **The Lancet**, vol. 377, no. 9, p. 1276–1287, 2011. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62349-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62349-5).

RAES, K.; KNOCKAERT, D.; STRUIJS, K.; VAN CAMP, J. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and anti-nutritional factors in the plant. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 37, no. 1, p. 32–41, 2014. DOI 10.1016/j.tifs.2014.02.002. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.02.002>.

RAJENDRAN, P.; NANDAKUMAR, N.; RENGARAJAN, T.; PALANISWAMI, R.; GNANADHAS, E. N.; LAKSHMINARASIAH, U.; GOPAS, J.; NISHIGAKI, I. Antioxidants and human diseases. **Clinica Chimica Acta**, vol. 436, p. 332–347, 2014. DOI 10.1016/j.cca.2014.06.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.06.004>.

RAKHMANOVA, A.; KHAN, Z. A.; SHAH, K. A mini review fermentation and preservation: Role of lactic acid bacteria. **MOJ Food Processing & Technology**, vol. 6, no. 5, p. 414–417, 2018. <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2018.06.00197>.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional,

biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 43, no. 5, p. 819–827, 2010. DOI 10.1016/j.lwt.2010.01.012. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.012>.

RANADHEERA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. In vitro analysis of gastrointestinal tolerance and intestinal cell adhesion of probiotics in goat's milk ice cream and yogurt. **Food Research International**, vol. 49, no. 2, p. 619–625, 2012. DOI 10.1016/j.foodres.2012.09.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.007>.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, vol. 43, no. 1, p. 1–7, 2010. DOI 10.1016/j.foodres.2009.09.009. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>.

RAVANFAR, R.; LAWRENCE, P.; KRINER, K.; ABBASPOURRAD, A. Catalyzed oxidation of carotenoids by lactoperoxidase in the presence of ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 67, no. 6, p. 1742–1748, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06558>.

REIS, J. A.; PAULA, A. T.; CASAROTTI, S. N.; PENNA, A. L. B. Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. **Food Engineering Reviews**, vol. 4, no. 2, p. 124–140, 2012. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>.

REKHA, C. R.; VIJAYALAKSHMI, G. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 109, no. 4, p. 1198–1208, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04745.x>.

REZAC, S.; KOK, C. R.; HEERMANN, M.; HUTKINS, R. Fermented foods as a dietary source of live organisms. **Frontiers in Microbiology**, vol. 9, p. 1–29, 2018. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01785>.

RIBAYA-MERCADO, J. D.; SOLON, F. S.; SOLON, M. A.; CABAL-BARZA, M. A.; PERFECTO, C. S.; TANG, G.; SOLON, J. A. A.; FIELD, C. R.; RUSSELL, R. M. Bioconversion of plant carotenoids to vitamin A in filipino school-aged children varies inversely with vitamin A status. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 72, no. 2, p. 455–465, 2000. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.2.455>.

RINNINELLA, E.; CINTONI, M.; RAOUL, P.; LOPETUSO, L. R.; SCALDAFERRI, F.; PULCINI, G.; MIGGIANO, G. A. D.; GASBARRINI, A.; MELE, M.

C. Food components and dietary habits: Keys for a healthy gut microbiota composition. **Nutrients**, vol. 11, p. 1–23, 2019. <https://doi.org/doi:10.3390/nu11102393>.

RÍOS-COVIÁN, D.; RUAS-MADIEDO, P.; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G.; SALAZAR, N. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. **Frontiers in Microbiology**, vol. 7, p. 1–9, 2016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00185>.

RIQUELME, N.; ROBERT, P.; TRONCOSO, E.; ARANCIBIA, C. Influence of the particle size and hydrocolloid type on lipid digestion of thickened emulsions. **Food and Function**, vol. 11, no. 7, p. 5955–5964, 2020. <https://doi.org/10.1039/d0fo01202e>.

RIZZOLI, Rene. Dairy products, yogurts, and bone health. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 99, p. 1256–1262, 2014. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.073056.1>.

RIZZOLI, René. Postmenopausal osteoporosis: Assessment and management. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, vol. 32, p. 739–757, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.09.005>.

RIZZOLI, René; BIVER, E. Chapter 29 - Yogurt Consumption and Impact on Bone Health. *In*: SHAH, Nagendra P. (ed.). **Yogurt in Health and Disease Prevention**. [S. l.]: Academic Press, 2017. p. 507–524. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805134-4.00029-8>.

RODRIGUES, F. C.; CASTRO, A. S. B.; RODRIGUES, V. C.; FERNANDES, S. A.; FONTES, E. A. F.; DE OLIVEIRA, T. T.; MARTINO, H. S. D.; FERREIRA, C. L. D. L. F. Yacon flour and *Bifidobacterium longum* modulate bone health in rats. **Journal of Medicinal Food**, vol. 15, no. 7, p. 664–670, 2012. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0296>.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides**. Brasília: MMA/SBF, 2008. vol. 53, .

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenóides: tabela brasileira de composição de carotenóides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente – MMA/Secretaria de Biodiversidade e Florestas - SBF, 2008.

RODRÍGUEZ, L. G. R.; GASGA, V. M. Z.; PESCUA, M.; NIEUWENHOVE, C. Van; MOZZI, F.; BURGOS, J. A. S. Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the

development of novel fruit-based functional beverages. **Food Research International**, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109854>.

ROMELLE, F. D.; RANI, A.; MANOHAR, R. S. Chemical composition of some selected fruit peels. **European Journal of Food Science and Technology**, vol. 4, no. 4, p. 12–21, 2016. Available at: www.eajournals.org.

ROMERO, A. B. da R.; MARTINS, M. D. C. D. C.; NUNES, P. H. M.; FERREIRA, N. R. T.; BRITO, A. K. da S.; DA CUNHA, P. F. M.; DE LIMA, A.; DE ASSIS, R. C.; ARAÚJO, E. M. In vitro and in vivo antioxidant activity of Buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.). **Nutricion Hospitalaria**, vol. 32, no. 5, p. 2153–2161, 2015. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.5.9603>.

ROSENFELDT, V.; MICHAELSEN, K. F.; JAKOBSEN, M.; LARSEN, C. N.; MOLLER, P. L.; TVEDE, M.; WEYREHTER, H.; VALERIUS, N. H.; PAERREGAARD, A. Effect of probiotic *Lactobacillus* strains on acute diarrhea in a cohort of nonhospitalized children attending day-care centers. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, vol. 21, no. 5, p. 417–419, 2002. DOI 10.1097/01.inf.0000014471.82190.59. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12150179.

ROSENZWEIG, R.; NILLEGODA, N. B.; MAYER, M. P.; BUKAU, B. The Hsp70 chaperone network. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 20, no. 11, p. 665–680, 2019. DOI 10.1038/s41580-019-0133-3. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-019-0133-3>.

ROSS, a. C.; HARRISON, E. H. Vitamin A: Nutrition Aspects of Retinoids and Carotenoids. **Handbook of Vitamins**, vol. 11, no. 2, p. 1–39, 2007. <https://doi.org/10.1201/9781420005806.ch1>.

ROSS, A. C.; HARRISON, E. H. Vitamin A: Nutrition aspects of retinoids and carotenoids. In: ZEMPLIEN, J.; RUCKER, R. B.; MCCORMICK, D. B.; SUTTIE, J. W. (eds.). **Handbook of Vitamins**. 4th ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 1–39.

ROSSO, V. V. de; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **J. Agric. Food Chem.**, vol. 55, p. 5062–5072, 2007. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf0705421>.

ROZENBERG, S.; BODY, J. J.; BRUYÈRE, O.; BERGMANN, P.; BRANDI, M. L.; COOPER, C.; DEVOGELAER, J. P.; GIELEN, E.; GOEMAERE, S.; KAUFMAN,

J. M.; RIZZOLI, R.; REGINSTER, J. Y. Effects of dairy products consumption on health: Benefits and beliefs — A commentary from the belgian bone club and the European society for clinical and economic aspects of osteoporosis, osteoarthritis and musculoskeletal diseases. **Calcified Tissue International**, vol. 98, no. 1, p. 1–17, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00223-015-0062-x>.

RUBASHVILI, I.; TSITSAGI, M.; EBRALIDZE, K.; TSITSISHVILI, V.; EPRIKASHVILI, L.; CHKHAIDZE, M.; ZAUTASHVILI, M. Extraction and analysis of the major carotenoids of agro-industrial waste materials using sequential extraction techniques and high performance liquid chromatography. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, vol. 13, no. 2, p. 1–14, 2018. <https://doi.org/10.29333/ejac/82931>.

RUIZ, L.; MARGOLLES, A.; SÁNCHEZ, B. Bile resistance mechanisms in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. **Frontiers in Microbiology**, vol. 4, p. 1–8, 2013. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00396>.

RUIZ, L.; RUAS-MADIEDO, P.; GUEIMONDE, M.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G.; MARGOLLES, A.; SÁNCHEZ, B. How do bifidobacteria counteract environmental challenges? Mechanisms involved and physiological consequences. **Genes and Nutrition**, vol. 6, p. 307–318, 2011. <https://doi.org/10.1007/s12263-010-0207-5>.

RUIZ, L.; ZOMER, A.; O'CONNELL-MOTHERWAY, M.; VAN SINDEREN, D.; MARGOLLES, A. Discovering novel bile protection systems in *Bifidobacterium breve* UCC2003 through functional genomics. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 78, no. 4, p. 1123–1131, 2012. <https://doi.org/10.1128/AEM.06060-11>.

SAAD, N.; DELATTRE, C.; URDACI, M.; SCHMITTER, J. M.; BRESSOLIER, P. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 50, no. 1, p. 1–16, 2013. DOI 10.1016/j.lwt.2012.05.014. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>.

SAARELA, M.; RANTALA, M.; HALLAMAA, K.; NOHYNEK, L.; VIRKAJÄRVI, I.; MÄTTÖ, J. Stationary-phase acid and heat treatments for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 96, p. 1205–1214, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02286.x>.

SACCARO, D. M.; HORITA, C. Y.; TAMIME, A. Y.; OLIVEIRA, M. N. de.

Evaluation of different selective media for enumeration of probiotic micro-organisms in combination with yogurt starter cultures in fermented milk. **African Journal of Microbiology Research**, vol. 5, no. 23, p. 3901–3906, 16 Mar. 2011. DOI 10.5897/AJMR-11-117. Available at: [http://www.academicjournals.org/ajmr/abstracts/abstract/2012/16Mar/Saccaro et al.htm](http://www.academicjournals.org/ajmr/abstracts/abstract/2012/16Mar/Saccaro%20et%20al.htm).

SACCARO, Daniela M.; TAMIME, A. Y.; PILLEGGI, A. L. O. P. S.; OLIVEIRA, M. N. The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 62, no. 3, p. 397–404, 2009a. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00497.x>.

SACCARO, Daniela M.; TAMIME, A. Y.; PILLEGGI, A. L. O. P. S.; OLIVEIRA, M. N. The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. **International Journal of Dairy Technology**, vol. 62, no. 3, p. 397–404, 2009b. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00497.x>.

SAH, B. N. P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O. N. Effect of pineapple waste powder on probiotic growth, antioxidant and antimutagenic activities of yogurt. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 53, no. 3, p. 1698–1708, 2016a. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2100-0>.

SAH, B. N. P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O. N. Effect of probiotics on antioxidant and antimutagenic activities of crude peptide extract from yogurt. **Food Chemistry**, vol. 156, p. 264–270, 2014. DOI 10.1016/j.foodchem.2014.01.105. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.105>.

SAH, B. N. P.; VASILJEVIC, T.; MCKECHNIE, S.; DONKOR, O. N. Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel. **Journal of Dairy Science**, vol. 98, no. 9, p. 5905–5916, 2015. DOI 10.3168/jds.2015-9450. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9450>.

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

SAHA, D.; BHATTACHARYA, S. Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. **Journal of Food Science and Technology**, vol. 47, no. 6, p. 587–597, 2010. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, vol. 76, p. 735–750, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>.

SAMPAIO, M. P.; CARRAZZA, L. R. **Manual Tecnológico de Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Buriti (Maurita flexuosa)**. 1st ed. Brasília, Distrito Federal: Instituto Sociedade, População e Natureza (ISPN), 2012.

SARANGARAJAN, R.; MEERA, S.; RUKKUMANI, R.; SANKAR, P.; ANURADHA, G. Antioxidants: Friend or foe? **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, vol. 10, no. 12, p. 1111–1116, 2017. DOI 10.1016/j.apjtm.2017.10.017. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.10.017>.

SARDESAI, V. M. . Osteoporosis. **Introduction to Clinical Nutrition, Revised and Expanded**. 3rd ed. [S. l.]: CRC Press, 2003. DOI 10.1201/9780203912393.ch18. Available at: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9780203912393.ch18>.

SCHALOW, S.; BALOUFAUD, M.; COTTANCIN, T.; FISCHER, J.; DRUSCH, S. Orange pulp and peel fibres: pectin-rich by-products from citrus processing for water binding and gelling in foods. **European Food Research and Technology**, vol. 244, no. 2, p. 235–244, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2950-y>.

SCHIASSI, M. C. E. V.; SOUZA, V. R. de; LAGO, A. M. T.; CAMPOS, L. G.; QUEIROZ, F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, vol. 245, p. 305–311, 2018. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.10.104. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>.

SCHUCHARDT, J. P.; HAHN, A. Intestinal absorption and factors influencing bioavailability of magnesium - An update. **Current Nutrition & Food Science**, vol. 13, no. 4, p. 260–278, 2017. <https://doi.org/10.2174/1573401313666170427162740>.

SCOTT, K. J.; RODRIQUEZ-AMAYA, D. Pro-vitamin A carotenoid conversion factors: retinol equivalents - fact or fiction? **Food Chemistry**, vol. 69, p.

125–127, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00256-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00256-3).

SEDLÁČKOVÁ, P.; HORÁČKOVÁ, Š.; SHI, T.; KOSOVÁ, M.; PLOCKOVÁ, M. Two different methods for screening of bile salt hydrolase activity in *Lactobacillus* strains. **Czech Journal of Food Sciences**, vol. 33, no. 1, p. 13–18, 2015. <https://doi.org/10.17221/299/2014-CJFS>.

SENDRA, E.; SAYAS-BARBERÁ, M. E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. Effect of food composition on probiotic bacteria viability. **Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Bioactive Foods in Health Promotion**. [S. l.]: Elsevier Inc., 2016. p. 257–269. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802189-7.00017-4>.

SENDRA, Esther; FAYOS, P.; LARIO, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; SAYAS-BARBERÁ, E.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. **Food Microbiology**, vol. 25, no. 1, p. 13–21, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.09.003>.

SENF, S. M. Skeletal muscle heat shock protein 70: Diverse functions and therapeutic potential for wasting disorders. **Frontiers in Physiology**, vol. 4, p. 1–6, 2013. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00330>.

SENONER, T.; DICHTL, W. Oxidative stress in cardiovascular diseases: Still a therapeutic target? **Nutrients**, vol. 11, no. 9, p. 1–25, 2019. <https://doi.org/10.3390/nu11092090>.

SERAFINI, M.; PELUSO, I. Functional foods for health: The interrelated antioxidant and anti-inflammatory role of fruits, vegetables, herbs, spices and cocoa in humans. **Current Pharmaceutical Design**, vol. 22, no. 44, p. 6701–6715, 2016. <https://doi.org/10.2174/1381612823666161123094235>.

SERRAZANETTI, D. I.; GOTTARDI, D.; MONTANARI, C.; GIANOTTI, A. Dynamic stresses of lactic acid bacteria associated to fermentation processes. In: KONGO, M. (ed.). **Lactic acid bacteria - R&D for food, health and livestock purposes**. [S. l.]: InTech, 2013a. p. 539–570.

SERRAZANETTI, D. I.; GOTTARDI, D.; MONTANARI, C.; GIANOTTI, A. Dynamic Stresses of Lactic Acid Bacteria Associated to Fermentation Processes. In: KONGO, J. M. (ed.). **Lactic Acid Bacteria - R & D for Food, Health and Livestock Purposes**. Rijeka: InTech, 2013b. p. 539–570. DOI 10.5772/51049. Available at: <http://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/dynamic-stresses-of-lactic-acid-bacteria-associated-to-fermentation-processes>.

SERRAZANETTI, D. I.; GUERZONI, M. E.; CORSETTI, A.; VOGEL, R. Metabolic impact and potential exploitation of the stress reactions in lactobacilli. **Food Microbiology**, vol. 26, no. 7, p. 700–711, 2009. DOI 10.1016/j.fm.2009.07.007. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.007>.

SERRAZANETTI, D. I.; NDAGIJIMANA, M.; SADO-KAMDEM, S. L.; CORSETTI, A.; VOGEL, R. F.; EHRMANN, M.; GUERZONI, M. E. Acid stress-mediated metabolic shift in *Lactobacillus sanfranciscensis* LSCE1. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 77, no. 8, p. 2656–2666, 2011. <https://doi.org/10.1128/AEM.01826-10>.

SETCHELL, K. D. R.; HEUBI, J. E.; SHAH, S.; LAVINE, J. E.; SUSKIND, D.; AL-EDREESI, M.; POTTER, C.; RUSSELL, D. W.; O'CONNELL, N. C.; WOLFE, B.; JHA, P.; ZHANG, W.; BOVE, K. E.; KNISELY, A. S.; HOFMANN, A. F.; ROSENTHAL, P.; BULL, L. N. Genetic defects in bile acid conjugation cause fat-soluble vitamin deficiency. **Gastroenterology**, vol. 144, no. 5, p. 945–955, 2013. DOI 10.1053/j.gastro.2013.02.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.004>.

SETTACHAIMONGKON, S.; VAN VALENBERG, H. J. F.; GAZI, I.; NOUT, M. J. R.; VAN HOOIJDONK, T. C. M.; ZWIETERING, M. H.; SMID, E. J. Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. **Food Microbiology**, vol. 59, p. 14–22, 2016. DOI 10.1016/j.fm.2016.04.008. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2016.04.008>.

SETTACHAIMONGKON, S.; VAN VALENBERG, H. J. F.; WINATA, V.; WANG, X.; NOUT, M. J. R.; VAN HOOIJDONK, T. C. M.; ZWIETERING, M. H.; SMID, E. J. Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. **Food Microbiology**, vol. 49, p. 104–115, 2015. DOI 10.1016/j.fm.2015.01.011. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.011>.

SHAH, N. P. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, vol. 83, no. 4, p. 894–907, 2000. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8. Available at: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8).

SHANNON, C. E. A Mathematical theory of communication. **The Bell System Technical Journal**, vol. 27, p. 379–423, 1948. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb00917.x>.

SHARMA, N.; ANGURAL, S.; RANA, M.; PURI, N.; KONDEPUDI, K. K.; GUPTA, N. Phytase producing lactic acid bacteria: Cell factories for enhancing micronutrient bioavailability of phytate rich foods. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 96, p. 1–12, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.001>.

SHASTRI, P.; MCCARVILLE, J.; KALMOKOFF, M.; BROOKS, S. P. J.; GREEN-JOHNSON, J. M. Sex differences in gut fermentation and immune parameters in rats fed an oligofructose-supplemented diet. **Biology of Sex Differences**, vol. 6, no. 13, p. 1–12, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13293-015-0031-0>.

SHIBY, V. K.; MISHRA, H. N. Fermented milks and milk products as functional foods — A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 53, p. 482–496, 2013. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.547398>.

SHTRIKER, M. G.; HAHN, M.; TAIEB, E.; NYSKA, A.; MOALLEM, U.; TIROSH, O.; MADAR, Z. Fenugreek galactomannan and citrus pectin improve several parameters associated with glucose metabolism and modulate gut microbiota in mice. **Nutrition**, vol. 46, p. 134–142, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.07.012>.

SILVA-ESPINOZA, M. A.; AYED, C.; FOSTER, T.; CAMACHO, M. del M.; MARTÍNEZ-NAVARRETE, N. The impact of freeze-drying conditions on the physico-chemical properties and bioactive compounds of a freeze-dried orange puree. **Foods**, vol. 9, no. 32, p. 1–15, 2020. .

SILVA-MAIA, J. K. da; BATISTA, A. G.; CORREA, L. C.; LIMA, G. C.; JUNIOR, S. B.; JUNIOR, M. R. M. Aqueous extract of berry (*Plinia jaboticaba*) byproduct modulates gut microbiota and maintains the balance on antioxidant defense system in rats. **Journal of Food Biochemistry**, vol. 43, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12705>.

SILVA, J. G. S.; ORLANDO, E. A.; REBELLATO, A. P.; PALLONE, J. A. L. Optimization and Validation of a Simple Method for Mineral Potential Evaluation in Citrus Residue. **Food Analytical Methods**, vol. 10, no. 6, p. 1899–1908, 2017. DOI 10.1007/s12161-016-0748-3. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12161-016-0748-3>.

SILVA, J. G. S.; REBELLATO, A. P.; GREINER, R.; PALLONE, J. A. L. Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. **Food Research International**, vol. 97, p. 162–169, 2017a. DOI 10.1016/j.foodres.2017.04.005. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.005>.

SILVA, J. G. S.; REBELLATO, A. P.; GREINER, R.; PALLONE, J. A. L. Bioaccessibility of calcium, iron and magnesium in residues of citrus and characterization of macronutrients. **Food Research International**, vol. 97, p. 162–169, 2017b. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.005>.

SINGH, B. P.; VIJ, S.; HATI, S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. **Peptides**, vol. 54, p. 171–179, 2014. DOI 10.1016/j.peptides.2014.01.022. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2014.01.022>.

SIVAMARUTHI, B. S.; KESIKA, P.; CHAIYASUT, C. A mini-review of human studies on cholesterol-lowering properties of probiotics. **Scientia Pharmaceutica**, vol. 87, no. 4, 2019. <https://doi.org/10.3390/scipharm87040026>.

SIVIERI, K.; MORALES, M. L. V.; ADORNO, M. A. T.; SAKAMOTO, I. K.; SAAD, S. M. I.; ROSSI, E. A. *Lactobacillus acidophilus* CRL 1014 improved “gut health” in the SHIME® reactor. **BMC Gastroenterology**, vol. 13, no. 100, p. 1–9, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-13-100>.

SKRZYDLEWSKA, E.; OSTROWSKA, J.; FARBISZEWSKI, R.; MICHALAK, K. Protective effect of green tea against lipid peroxidation in the rat liver, blood serum and the brain. **Phytomedicine**, vol. 9, no. 6, p. 232–238, 2002. .

SO, D.; WHELAN, K.; ROSSI, M.; MORRISON, M.; HOLTMANN, G.; KELLY, J. T.; SHANAHAN, E. R.; STAUDACHER, H. M.; CAMPBELL, K. L. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: A systematic review and meta-analysis. **American Journal of Clinical Nutrition**, vol. 107, p. 965–983, 2018. <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy041>.

SODINI, I.; LUCAS, A.; OLIVEIRA, M. N.; REMEUF, F.; CORRIEU, G. Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. **Journal of Dairy Science**, vol. 85, no. 10, p. 2479–2488, 2002. DOI 10.3168/jds.S0022-0302(02)74330-0. Available at: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74330-0](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74330-0).

SOMMER, A.; WEST, K. P. **Vitamin a deficiency: health, survival, and vision**. New York: Oxford University Press, 1996.

SOTLER, R.; POLJŠAK, B.; DAHMANE, R.; JUKIĆ, T.; JUKIĆ, D. P.; ROTIM, C.; TREBŠE, P.; STARC, A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. **Acta Clinica Croatica**, vol. 58, no. 4, p. 726–736, 2019. <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.04.20>.

SOUKOULIS, C.; PANAGIOTIDIS, P.; KOURELI, R.; TZIA, C. Industrial yogurt manufacture: Monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. **Journal of Dairy Science**, vol. 90, no. 6, p. 2641–2654, 2007. DOI 10.3168/jds.2006-802. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2006-802>.

SPINA, L.; CAVALLARO, F.; FARDOWZA, N. I.; LAGOUSSIS, P.; BONA, D.; CISCATO, C.; RIGANTE, A.; VECCHI, M. Butyric acid: Pharmacological aspects and routes of administration. **Digestive and Liver Disease Supplements**, vol. 1, p. 7–11, 2007. [https://doi.org/10.1016/S1594-5804\(08\)60004-2](https://doi.org/10.1016/S1594-5804(08)60004-2).

SRISUKCHAYAKUL, P.; CHARALAMPOPOULOS, D.; KARATZA, K. A. Study on the effect of citric acid adaptation toward the subsequent survival of *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826 in low pH fruit juices during refrigerated storage. **Food Research International**, vol. 111, p. 198–204, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.018>.

SRIVASTAVA, R. K. Enhanced shelf life with improved food quality from fermentation processes. **Journal of Food Technology and Preservation**, vol. 2, no. 3, p. 1–7, 2018. Available at: <http://www.alliedacademies.org/food-technology-and-preservation/>.

STANTON, C.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; VAN SINDEREN, D. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. **Current Opinion in Biotechnology**, vol. 16, p. 198–203, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.008>.

STOJANOV, S.; BERLEC, A.; ŠTRUKELJ, B. The influence of probiotics on the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. **Microorganisms**, vol. 8, p. 1–16, 2020. <https://doi.org/doi.org/10.3390/microorganisms8111715>.

STOUT, M. A.; PARK, C. W.; DRAKE, M. A. The effect of bleaching agents on the degradation of vitamins and carotenoids in spray-dried whey protein concentrate. **Journal of Dairy Science**, vol. 100, no. 10, p. 7922–7932, 2017. DOI 10.3168/jds.2017-12929. Available at: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12929>.

SUGIMOTO, S.; AL-MAHIN, A.; SONOMOTO, K. Molecular chaperones in lactic acid bacteria: physiological consequences and biochemical properties. **Journal of bioscience and bioengineering**, vol. 106, no. 4, p. 324–36, 2008. DOI 10.1263/jbb.106.324. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19000607>.

SULEK, K.; VIGSNES, L. K.; SCHMIDT, L. R.; HOLCK, J.; FRANDSEN,

H. L.; SMEDSGAARD, J.; SKOV, T. H.; MEYER, A. S.; LICHT, T. R. A combined metabolomic and phylogenetic study reveals putatively prebiotic effects of high molecular weight arabino-oligosaccharides when assessed by in vitro fermentation in bacterial communities derived from humans. **Anaerobe**, vol. 28, p. 68–77, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.05.007>.

SUN, N.; WU, H.; DU, M.; TANG, Y.; LIU, H.; FU, Y.; ZHU, B. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 58, p. 140–148, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.004>.

SUN, Y.; O'RIORDAN, M. X. D. Regulation of bacterial pathogenesis by intestinal short-chain fatty acids. **Advances in Applied Microbiology**, vol. 85, p. 93–118, 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407672-3.00003-4>.

SUVARNA, V. C.; NIVETHA, N.; SHRADDHA, A. J.; ABHISHEK, R. U. Enhancement of bioavailable iron and calcium contents in fermented linseed (*Linum usitatissimum* L.) beverages. **Asian Journal of Dairy and Food Research**, vol. 37, no. 4, p. 331–334, 2018. <https://doi.org/10.18805/ajdfr.dr-1397>.

TAKANO, T. Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, vol. 82, p. 333–340, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1020600119907>.

TANG, A. L.; SHAH, N. P.; WILCOX, G.; WALKER, K. Z.; STOJANOVSKA, L. Fermentation of calcium-fortified soymilk with *Lactobacillus*: Effects on calcium solubility, isoflavone conversion, and production of organic acids. **Journal of Food Science**, vol. 72, no. 9, p. 431–436, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00520.x>.

TANG, Y. C.; CHEN, B. H. Pigment change of freeze-dried carotenoid powder during storage. **Food Chemistry**, vol. 69, no. 1, p. 11–17, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00216-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00216-2).

TANGYU, M.; MULLER, J.; BOLTEN, C. J.; WITTMANN, C. Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. **Applied Microbiology and Biotechnology**, vol. 103, p. 9263–9275, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10175-9>.

TEJADA-ORTIGOZA, V.; GARCIA-AMEZQUITA, L. E.; KAZEM, A. E.; CAMPANELLA, O. H.; PILAR CANO, M.; HAMAKER, B. R.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; WELTI-CHANES, J. In vitro fecal fermentation of high pressure-treated fruit peels

used as dietary fiber sources. **Molecules**, vol. 24, p. 1–16, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24040697>.

TERPOU, A.; PAPADAKI, A.; LAPPA, I. K.; KACHRIMANIDOU, V.; BOSNEA, L. A.; KOPSAHELIS, N. Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. **Nutrients**, vol. 11, p. 1–32, 2019. Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/7/1591>.

THAWEESANG, S.; LEENANON, B. Survival of *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 in bile salt stress conditions. **Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences**, vol. 18, no. 3, p. 569–579, 2016. .

THIENNIMITR, P.; YASOM, S.; TUNAPONG, W.; CHUNCHAI, T.; WANCHAI, K.; PONGCHAIDECHA, A.; LUNGKAPHIN, A.; SIRILUN, S.; CHAIYASUT, C.; CHATTIPAKORN, N.; CHATTIPAKORN, S. C. *Lactobacillus paracasei* HII01, xylooligosaccharides, and synbiotics reduce gut disturbance in obese rats. **Nutrition**, vol. 54, p. 40–47, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.03.005>.

TIAN, H.; SHEN, Y.; YU, H.; HE, Y.; CHEN, C. Effects of 4 probiotic strains in coculture with traditional starters on the flavor profile of yogurt. **Journal of Food Science**, vol. 82, no. 7, p. 1693–1701, 2017. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13779>.

TONOLO, F.; FOLDA, A.; CESARO, L.; SCALCON, V.; MARIN, O.; FERRO, S.; BINDOLI, A.; RIGOBELLO, M. P. Milk-derived bioactive peptides exhibit antioxidant activity through the Keap1-Nrf2 signaling pathway. **Journal of Functional Foods**, vol. 64, no. 103696, p. 1–8, 2020. DOI 10.1016/j.jff.2019.103696. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103696>.

TORRES-LEÓN, C.; RAMÍREZ-GUZMAN, N.; LONDOÑO-HERNANDEZ, L.; MARTINEZ-MEDINA, G. A.; DÍAZ-HERRERA, R.; NAVARRO-MACIAS, V.; ALVAREZ-PÉREZ, O. B.; PICAZO, B.; VILLARREAL-VÁZQUEZ, M.; ASCACIO-VALDES, J.; AGUILAR, C. N. Food waste and byproducts: An opportunity to minimize malnutrition and hunger in developing countries. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, vol. 2, p. 1–17, 2018. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00052>.

TOTI, E.; CHEN, C. O.; PALMERY, M.; VALENCIA, D. V.; PELUSO, I. Non-provitamin A and provitamin A carotenoids as immunomodulators: Recommended dietary allowance, therapeutic index, or personalized nutrition? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, , p. 1–20, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/4637861>.

TULCHINSKY, T. H. Micronutrient deficiency conditions: Global health issues. **Public Health Reviews**, vol. 32, no. 1, p. 243–255, 2010. .

TURRONI, S.; VITALI, B.; BENDAZZOLI, C.; CANDELA, M.; GOTTI, R.; FEDERICI, F.; PIROVANO, F.; BRIGIDI, P. Oxalate consumption by lactobacilli: Evaluation of oxalyl-CoA decarboxylase and formyl-CoA transferase activity in *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Applied Microbiology**, vol. 103, p. 1600–1609, 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03388.x>.

TYSSANDIER, V.; LYAN, B.; BOREL, P. Main factors governing the transfer of carotenoids from emulsion lipid droplets to micelles. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol. 1533, no. 3, p. 285–292, 2001. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(01\)00163-9](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(01)00163-9).

ULLAH, A.; KHAN, A.; KHAN, I. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, vol. 24, no. 5, p. 547–553, 2016. DOI 10.1016/j.jsps.2015.03.013. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>.

UNNO, Tatsuya; CHOI, J. H.; HUR, H. G.; SADOWSKY, M. J.; AHN, Y. T.; HUH, C. S.; KIM, G. B.; CHA, C. J. Changes in human gut microbiota influenced by probiotic fermented milk ingestion. **Journal of Dairy Science**, vol. 98, p. 3568–3576, 2015. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8943>.

UNNO, Tomonori; HISADA, T.; TAKAHASHI, S. Hesperetin modifies the composition of fecal microbiota and increases cecal levels of short-chain fatty acids in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 63, p. 7952–7957, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02649>.

UPADRASTA, A.; STANTON, C.; HILL, C.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P. Chapter 17 - Improving the stress tolerance of probiotic cultures: Recent trends and future directions. In: DOYLE, M. P. (ed.). **Stress Responses of Lactic Acid Bacteria**. New York: Springer, 2011. vol. 1, p. 395–438. Available at: <http://ir.obihiro.ac.jp/dspace/handle/10322/3933>.

USDA. Citrus: World markets and trade. 2020. **United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service**. Available at: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/%0Acitrus.pdf>. Accessed on: 28 Jan. 2021.

UVERE, P. O.; ONYEKWERE, E. U.; NGODDY, P. O. Production of maize-bambara groundnut complementary foods fortified pre-fermentation with processed foods rich in calcium, iron, zinc and provitamin A. **Journal of the Science of Food**

and Agriculture, vol. 90, p. 566–573, 2010. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3846>.

VACCA, M.; CELANO, G.; CALABRESE, F. M.; PORTINCASA, P.; GOBBETTI, M.; DE ANGELIS, M. The controversial role of human gut *Lachnospiraceae*. **Microorganisms**, vol. 8, p. 1–25, 2020. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8040573>.

VAN DE GUCHTE, M.; SERROR, P.; CHERVAUX, C.; SMOKVINA, T.; EHRLICH, S. D.; MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, vol. 82, p. 187–216, 2002a. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>.

VAN DE GUCHTE, M.; SERROR, P.; CHERVAUX, C.; SMOKVINA, T.; EHRLICH, S. D.; MAGUIN, E. Stress responses in lactic acid bacteria. **Antonie van Leeuwenhoek**, vol. 82, p. 187–216, 2002b. <https://doi.org/10.1023/A:1020631532202>.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, vol. 11, p. 463–471, 1963. .

VASILJEVIC, T.; SHAH, N. P. Probiotics — From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, vol. 18, p. 714–728, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>.

VEDAMUTHU, E. R. Chapter 6: Starter cultures for yogurt and fermented milks. *In*: CHANDAN, R. C. (ed.). **Manufacturing yogurt and fermented milks**. [S. l.]: Blackwell Publishing, 2006. p. 89–115.

VEIGA, P.; PONS, N.; AGRAWAL, A.; OOZEER, R.; GUYONNET, D.; BRAZEILLES, R.; FAURIE, J. M.; VAN HYLCKAMA Vlieg, J. E. T.; HOUGHTON, L. A.; WHORWELL, P. J.; EHRLICH, S. D.; KENNEDY, S. P. Changes of the human gut microbiome induced by a fermented milk product. **Scientific Reports**, vol. 4, p. 1–9, 2014. <https://doi.org/10.1038/srep06328>.

VIEIRA, G. A. L.; CABRAL, L.; OTERO, I. V. R.; FERRO, M.; FARIA, A. U. de; OLIVEIRA, V. M. de; BACCI, M.; SETTE, L. D. Marine associated microbial consortium applied to RBBR textile dye detoxification and decolorization: Combined approach and metatranscriptomic analysis. **Chemosphere**, vol. 267, p. 1–12, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129190>.

VONG, M. H.; STEWART, M. L. In vitro bacterial fermentation of tropical fruit fibres. **Beneficial Microbes**, vol. 4, no. 3, p. 291–295, 2013.

<https://doi.org/10.3920/BM2013.0006>.

WAN, M. L. Y.; LING, K. H.; EL-NEZAMI, H.; WANG, M. F. Influence of functional food components on gut health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 59, no. 12, p. 1927–1936, 2019. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1433629>.

WANG, K.; LI, W.; RUI, X.; CHEN, X.; JIANG, M.; DONG, M. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol. 63, p. 133–139, 2014. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.036. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.10.036>.

WANG, M.; CHEN, Y.; WANG, Y.; LI, Y.; ZHENG, H.; MA, F.; MA, C.; ZHANG, X.; LU, B.; XIE, Z.; LIAO, Q. The effect of probiotics and polysaccharides on the gut microbiota composition and function of weaned rats. **Food and Function**, vol. 9, p. 1864–1877, 2018. <https://doi.org/10.1039/c7fo01507k>.

WANG, Y.; WU, Y.; WANG, Y.; XU, H.; MEI, X.; YU, D.; WANG, Y.; LI, W. Antioxidant properties of probiotic bacteria. **Nutrients**, vol. 9, no. 521, p. 1–15, 2017. <https://doi.org/10.3390/nu9050521>.

WCRF/AICR. **World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective**. [S. l.: s. n.], 2018. Available at: <http://gco.iarc.fr/today%0Adietandcancerreport.org>.

WCRF/AICR. **World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective**. Washington: DC: AICR, 2007.

WHO/FAO. Guidelines on food fortification with micronutrients. **Unscn.Org**, p. 341, 2006a. DOI 10.1242/jeb.02490. Available at: http://www.unscn.org/layout/modules/resources/files/fortification_eng.pdf.

WHO/FAO. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. Geneva: WHO Press, World Health Organization, 2006b. <https://doi.org/10.1242/jeb.02490>.

WHO. **Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005**. Geneva: World Health Organization, 2009.

WIDYASTUTI, Y.; ROHMATUSSOLIHAT; FEBRISANTOSA, A. The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. **Food and Nutrition Sciences**, vol. 05, p.

435–442, 2014. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.54051>.

WILDE, P. J.; CHU, B. S. Interfacial & colloidal aspects of lipid digestion. **Advances in Colloid and Interface Science**, vol. 165, no. 1, p. 14–22, 2011. DOI 10.1016/j.cis.2011.02.004. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2011.02.004>.

WINTERBOURN, C. C.; HAWKINS, R. E.; BRIAN, M.; CARRELL, R. W. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, vol. 85, no. 2, p. 337–341, 1975. .

WISE, B. M.; GALLAGHER, N. B.; BRO, R.; SHAVER, J. M.; WINDIG, W.; KOCH, R. S. **PLS Toolbox**. [S. l.: s. n.], 2006. DOI 10.1515/ling-2015-0006. Available at: http://mitr.p.lodz.pl/raman/jsurmacki/pliki/zajecia/LMDiT/cw4i5/LMDiT_PLS_Manual_4.pdf.

WISHART, D. S.; TZUR, D.; KNOX, C.; EISNER, R.; GUO, A. C.; YOUNG, N.; CHENG, D.; JEWELL, K.; ARNDT, D.; SAWHNEY, S.; FUNG, C.; NIKOLAI, L.; LEWIS, M.; COUTOULY, M. A.; FORSYTHE, I.; TANG, P.; SHRIVASTAVA, S.; JERONCIC, K.; STOTHARD, P.; ... QUERENGESSER, L. HMDB: The human metabolome database. **Nucleic Acids Research**, vol. 35, no. suppl. 1, p. 521–526, 2007. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl923>.

WONG, J. M. W.; DE SOUZA, R.; KENDALL, C. W. C.; EMAM, A.; JENKINS, D. J. A. Colonic health: Fermentation and short chain fatty acids. **Journal of Clinical Gastroenterology**, vol. 40, no. 3, p. 235–243, 2006. <https://doi.org/10.1097/00004836-200603000-00015>.

WRIGHT, N. C.; LOOKER, A. C.; SAAG, K. G.; CURTIS, J. R.; DELZELL, E. S.; RANDALL, S.; DAWSON-HUGHES, B. The recent prevalence of osteoporosis and low bone mass in the united states based on bone mineral density at the femoral neck or lumbar spine. **Journal of Bone and Mineral Research**, vol. 29, no. S1, p. 2520–2526, 2014. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2269>.

XAVIER, A. A. O.; MERCADANTE, A. Z.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. Fat content affects bioaccessibility and efficiency of enzymatic hydrolysis of lutein esters added to milk and yogurt. **Food Research International**, vol. 65, p. 171–176, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.06.016>.

XU, X.; JIA, X.; MO, L.; LIU, C.; ZHENG, L.; YUAN, Q.; ZHOU, X. Intestinal microbiota: a potential target for the treatment of postmenopausal osteoporosis. **Bone Research**, vol. 5, p. 1–18, 2017. <https://doi.org/10.1038/boneres.2017.46>.

YEO, S. K.; LIONG, M. T. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and bioconversion of isoflavones by probiotics in soymilk supplemented with prebiotics. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol. 61, no. 2, p. 161–181, 2010. <https://doi.org/10.3109/09637480903348122>.

YOON, K.; KIM, N. The effect of microbiota on colon carcinogenesis. **Journal of Cancer Prevention**, vol. 23, no. 3, p. 117–125, 2018. <https://doi.org/10.15430/jcp.2018.23.3.117>.

YOUSEF, A. E.; COURTNEY, P. D. Basics of stress adaptation and implications in new-generation foods. *In*: YOUSEF, A. E.; JUNEJA, V. K. (eds.). **Microbial stress adaptation and food safety**. New York: CRC Press, 2003.

ZERBINI, C. A. F.; SZEJNFELD, V. L.; ABERGARIA, B. H.; MCCLOSKEY, E. V.; JOHANSSON, H.; KANIS, J. A. Incidence of hip fracture in Brazil and the development of a FRAX model. **Archives of Osteoporosis**, vol. 10, no. 1, p. 28, 25 Dec. 2015. DOI 10.1007/s11657-015-0224-5. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11657-015-0224-5>.

ZHANG, C.; YANG, L.; GU, R.; DING, Z.; GUAN, C.; LU, M.; GU, R. Mild heat stress limited the post-acidification caused by *Lactobacillus rhamnosus* hsrlyfm 1301 in fermented milk. **Biotechnology Letters**, vol. 41, p. 633–639, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10529-019-02669-3>.

ZHANG, J.; WANG, X.; VIKASH, V.; YE, Q.; WU, D.; LIU, Y.; DONG, W. ROS and ROS-Mediated cellular signaling. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, , p. 1–18, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/4350965>.

ZHANG, L.; LI, N.; CAICEDO, R.; NEU, J. Alive and dead *Lactobacillus rhamnosus* GG decrease tumor necrosis factor- α -induced interleukin-8 production in Caco-2 cells. **The Journal of nutrition**, vol. 135, no. 7, p. 1752–1756, 2005. <https://doi.org/10.1093/ajcn/135/7/1752> [pii].

ZHANG, W.; LI, F.; NIE, L. Integrating multiple “omics” analysis for microbial biology: application and methodologies. **Microbiology**, vol. 156, p. 287–301, 2010. <https://doi.org/10.1099/mic.0.034793-0>.

ZHAO, G.; NYMAN, M.; JÖNSSON, J. Å. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. **Biomedical chromatography**, vol. 20, p. 674–682, 2006. <https://doi.org/10.1002/bmc.580>.

ZHENG, J.; WITTOUCK, S.; SALVETTI, E.; FRANZ, C. M. A. P.; HARRIS,

H. M. B.; MATTARELLI, P.; O'TOOLE, P. W.; POT, B.; VANDAMME, P.; WALTER, J.; WATANABE, K.; WUYTS, S.; FELIS, G. E.; GÄNZLE, M. G.; LEBEER, S. 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*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, vol. 70, p. 2782–2858, 2020. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>.

ANEXO 1

Certificado CEUA



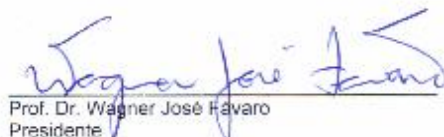
CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **ProbiOmics - impactos tecnológicos e à saúde da alteração do metaboloma de micro-organismos probióticos submetidos a condições de estresse (Parte 3)**, registrada com o nº **5131-1/2019**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Anderson de Souza Sant'Ana** e **Juliana Silva da Graça**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da **LEI Nº 11.794, DE 8 DE OUTUBRO DE 2008**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, do **DECRETO Nº 6.899, DE 15 DE JULHO DE 2009**, e com as normas editadas pelo **Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em **14 de fevereiro de 2019**.

Finalidade:	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	01/03/2019 - 01/12/2019
Vigência da autorização para manipulação animal:	01/03/2019 - 01/12/2019
Espécie / linhagem/ raça:	Rato heterogêneo / HanUnib: WH (Wistar)
No. de animais:	60
Idade/Peso:	21 dias / 150 g
Sexo:	machos
Origem:	CEMIB/UNICAMP
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério do Laboratório de Ensaios Biológicos, FEA/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização junto ao **IBAMA**, **SISBIO** ou **CIBIO** e é **restrita** a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, 26 de fevereiro de 2019.


Prof. Dr. Wagner José Favaro
Presidente


Rosângela dos Santos
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

ANEXO 2

Certificado de Cadastro SISGEN



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
 Cadastro nº AB10756

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **AB10756**
 Usuário: **UNICAMP**
 CPF/CNPJ: **46.068.425/0001-33**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Mauritia flexuosa
Streptococcus thermophilus
Lactobacillus delbrueckii
Lactobacillus acidophilus
Mauritia flexuosa

Fonte do CTA

CTA de origem identificável diretamente com provedor

Provedor

Rafael Moreno Ribeiro do Nascimento

Título da Atividade: **ProbiOmics – impactos tecnológicos e à saúde da alteração do metaboloma de micro-organismos probióticos submetidos a condições de estresse**

Equipe

Juliana Silva da Graça **UNICAMP**

Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

Identificação do meio onde foi divulgado: **Resumo em forma de pôster em congresso int**

Data do Cadastro: **05/11/2018 14:27:13**

Situação do Cadastro: **Concluído**