

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA CRISTINA SILVEIRA MARTINS

BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E
FUNCIONALIDADE DO CLADÓDIO DE MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): avaliação do efeito prebiótico, do potencial
nutricional e viabilidade tecnológica no processamento de iogurte
caprino

JOÃO PESSOA – PB

2022

ANA CRISTINA SILVEIRA MARTINS

**BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E
FUNCIONALIDADE DO CLADÓDIO DE MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): avaliação do efeito prebiótico, do potencial
nutricional e viabilidade tecnológica no processamento de iogurte
caprino**

JOÃO PESSOA – PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M386b Martins, Ana Cristina Silveira.

Bioprospecção de compostos bioativos e funcionalidade do cladódio de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) : avaliação do efeito prebiótico, do potencial nutricional e viabilidade tecnológica no processamento de iogurte caprino / Ana Cristina Silveira Martins. - João Pessoa, 2022.

165 f. : il.

Orientação: Maria Elieidy Gomes de Oliveira.
Tese (Doutorado) - UFPB/CT.

1. Cactaceae. 2. Leite caprino - Derivados. 3. Bactérias ácido-láticas. 4. Composição nutricional. 5. Iogurte caprino. I. Oliveira, Maria Elieidy Gomes de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 582.661.56(043)

ANA CRISTINA SILVEIRA MARTINS

**BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E
FUNCIONALIDADE DO CLADÓDIO DE MANDACARU
(*Cereus jamacaru* DC.): avaliação do efeito prebiótico, do potencial
nutricional e viabilidade tecnológica no processamento de iogurte
caprino**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Elieidy Gomes de Oliveira

JOÃO PESSOA – PB

2022

ANA CRISTINA SILVEIRA MARTINS

BIOPROSPECÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E FUNCIONALIDADE DO CLADÓDIO DE MANDACARU (*Cereus jamacaru* DC.): avaliação do efeito prebiótico, do potencial nutricional e viabilidade tecnológica no processamento de iogurte caprino

Tese aprovada em 25/03/2022.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Maria Eliedy Gomes de Oliveira – DN/CCS/UFPB

Presidente da Banca Examinadora

Orientadora



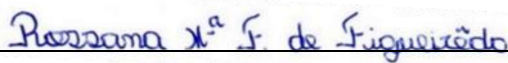
Profa. Dra. Juliana Késsia Barbosa Soares – UAS/CES/UFCG

Examinador Interno



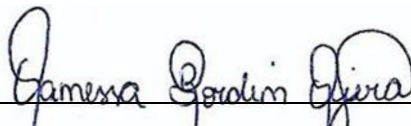
Profa. Dra. Estefânia Fernandes Garcia – DGAS/CTDR/UFPB

Examinador Externo



Profa. Dra. Rossana Maria Feitosa de Figueiredo – UAEEA/CTRN/UFCG

Examinador Externo a Instituição



Profa. Dra. Vanessa Bordin Viera – UAS/CES/UFCG

Examinador Externo a Instituição

A Deus e Nossa Senhora Aparecida, por iluminar meu caminho
e me dar forças para seguir sempre em frente,

Dedico.

RESUMO

Neste estudo foi elaborada e caracterizada quanto as propriedades tecnológicas, nutricionais, bioativas e prebióticas da farinha do cladódio do mandacaru (FM), bem como a sua viabilidade tecnológica no processamento de iogurte caprino. A FM foi avaliada quanto aos parâmetros microbiológicos, tecnológicos, físicos, físico-químicos, perfis de açúcares e de ácidos orgânicos e potencial antioxidante. Além disso, a FM digerida e liofilizada foi avaliada quanto às propriedades prebióticas, a partir das medidas de efeitos estimuladores do crescimento e metabolismo de cepas de *Lactobacillus*, bem como, sobre a composição e atividade metabólica da microbiota colônica humana *in vitro*. Por fim, foram elaboradas quatro formulações de iogurte caprino adicionados de geleia de tamarindo (GT) e FM em diferentes concentrações: IC (iogurte controle, sem FM e GT); IG (iogurte adicionado de 10% de GT); IGF1% (iogurte adicionado de 10% de GT e 1% de FM) e a formulação IGF2% (iogurte adicionado de 10% de GT e 2% de FM), que foram caracterizadas após os tempos de 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C). Os iogurtes foram avaliados quanto aos aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, microbiológicos e antioxidantes. A FM se revelou um produto com ausência de contaminação por possíveis patógenos. O perfil granulométrico apresentou um tamanho de partículas entre 20-60 µm. FM apresentou baixa atividade de água (0,423) e teor de umidade, alto teor de cinzas, proteínas e carboidratos totais e baixo teor de lipídeos. Essa matriz mostrou-se como excelente fonte de fibra alimentar insolúvel e minerais, com destaque para o cálcio. No método cromatográfico por HPLC foram identificados glicose, como o açúcar predominante e quatro ácidos orgânicos, com destaque para o ácido málico, seguido do cítrico. Foram detectados 18 compostos fenólicos, destacando-se quantidades relevantes de kaempferol, miricetina e resveratrol. O conteúdo de flavonoides totais representou 1,18% do total de fenólicos presentes. A MF apresentou escores probióticos positivos e contagens de células viáveis de *Lactobacillus* em diferentes meios de cultivo, que variou de $> 6,2$ (tempo 0) – $7,24$ (tempo 48) log UFC/mL, resultando em uma diminuição do pH, aumento da produção de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta (acético e propiônico) e consumo de açúcares. A FM causou alteração na abundância relativa de microrganismos gram-positivos em detrimento dos gram-negativos avaliados após 48 h de fermentação colônica. Os índices prebióticos foram positivos após 24 e 48 h de fermentação colônica *in vitro*, demonstrando uma intensa atividade metabólica, com um aumento da produção de AGCG, diminuição do pH e consumo de açúcar. Quanto aos iogurtes caprinos, houve uma redução da sinerese e viscosidade aparente ao longo do armazenamento, com maiores reduções para as formulações adicionadas de GT e FM. Durante o armazenamento, observou-se redução do pH e do teor de açúcares com concomitante aumento da acidez. Após 28 dias de armazenamento refrigerado observou-se um aumento na contagem de *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus bulgaricus* na formulação IGF2%. Os resultados dos conteúdos totais de fenólicos, flavonoides e ABTS foram maiores na formulação IGF2%, após 28 dias de armazenamento. Os dados supracitados demonstram que o *Cereus jamacaru* DC. é uma excelente matriz alimentar para o desenvolvimento de farinha. Além disso, sugere-se que a FM é um ingrediente potencialmente prebiótico e constatou-se que o desenvolvimento de iogurte caprino adicionado da FM apresentou-se como uma opção nutritiva para aplicações práticas da indústria de produtos lácteos caprinos.

Palavras-chaves: *cactaceae*; secagem; derivado lácteo caprino; bactérias ácido-láticas; composição nutricional.

ABSTRACT

In this study, was elaborated and characterized regarding the technological, nutritional, bioactive and prebiotic properties of the Mandacaru cladode Flour (MF), as well as its technological feasibility in the processing of goat yogurt. MF was evaluated in terms of microbiological, technological, physical, physical-chemical parameters, sugar and organic acid profiles and antioxidant potential. In addition, digested and lyophilized FM was evaluated for prebiotic properties, based on measures of stimulating effects on the growth and metabolism of *Lactobacillus* strains, as well as on the composition and metabolic activity of the human colonic microbiota *in vitro*. Finally, four formulations of goat Yogurt were made with Tamarind Jelly (TJ) and FM at different concentrations: CY (Control Yogurt, without FM and GT); YJ (Yoghurt added 10% TJ); IJF1% (Yogurt added with 10% TJ and 1% MF) and the formulation YJF2% (Yogurt added with 10% TJ and 2% MF), which were characterized after the refrigerated storage times of 1, 14 and 28 days at (4 ± 1 °C). Yogurts were evaluated for technological, physical, physical-chemical, microbiological and antioxidant aspects. MF proved to be a product with no contamination by possible pathogens. The granulometric profile showed a particle size between 20-60 μm . MF showed low water activity (0.423) and moisture content, high ash, protein and total carbohydrates and low lipid content. This matrix proved to be an excellent source of insoluble dietary fiber and minerals, especially calcium. In the HPLC chromatography method, glucose was identified as the predominant sugar and four organic acids, with emphasis on malic acid, followed by citric acid. Eighteen phenolic compounds were detected, highlighting relevant amounts of kaempferol, myricetin and resveratrol. The total flavonoid content represented 1.18% of the total phenolics present. FM showed positive probiotic scores and viable *Lactobacillus* cell counts in different culture media, which ranged from > 6.2 (time 0) – 7.24 (time 48) log CFU/mL, resulting in a decrease in pH, increased production of lactic acid and short-chain fatty acids (acetic and propionic) and consumption of sugars. MF caused a change in the relative abundance of gram-positive microorganisms to the detriment of gram-negative microorganisms evaluated after 48 h of colonic fermentation. The prebiotic indices were positive after 24 and 48 h of *in vitro* colonic fermentation, demonstrating an intense metabolic activity, with an increase in SCFA production, pH decrease and sugar consumption. As for goat yogurts, there was a reduction in syneresis and apparent viscosity during storage, with greater reductions for the formulations added with TJ and MF. During storage, there was a reduction in pH and sugar content with concomitant increase in acidity. After 28 days of cold storage, an increase in the count of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* was observed in the YJF2% formulation. The results of the total contents of phenolics, flavonoids and ABTS were higher in the YJF2% formulation, after 28 days of storage. The aforementioned data demonstrate that *Cereus jamacaru* DC. is an excellent food matrix for flour development. Furthermore, it is suggested that MF is a potentially prebiotic ingredient and it was found that the development of goat yoghurt added to MF was presented as a nutritious option for practical applications in the goat dairy industry.

Key-words: *cactaceae*; drying; goat milk derivative; lactic acid bacteria; nutritional composition.

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS DA TESE

Figura 1 -	Foto do cladódio do <i>Cereus jamacaru</i> DC.....	21
Figura 2 -	Desenho experimental do estudo.....	33
Figura 3 -	Fluxograma de processamento da FM.....	36
Figura 4 -	Fluxograma de processamento dos iogurtes caprinos adicionados de geleia de tamarindo e FM.....	49

FIGURAS DO ARTIGO 1

Figura 1 -	Micrografias da FM com aumentos de 100x a 4000x realizadas com MEV	94
Figura 2 -	Tamanho dos grãos da FM (1000x).....	95

FIGURAS DO ARTIGO 2

Figura 1 -	Contagens viáveis (—) de <i>L. acidophilus</i> LA-05® (A), <i>L. fermentum</i> 139 (B) e <i>L. fermentum</i> 296 (C) e pH (-) em meio com glicose (20 g / L, Δ), FOS (20 g / L, ○), MF (20 g / L, □) ou sem carbono fonte (◆) durante um cultivo de 48 h.....	130
Figura 2 -	Abundância relativa de diferentes grupos bacterianos mensurados por hibridização <i>in situ</i> de fluorescência combinada com Citometria de fluxo multiparamétrica em sistema de fermentação colônica <i>in vitro</i> com farinha digerida do cladódio do mandacaru e frutooligossacarídeos (FOS), bem como, controle negativo (sem adição de substrato fermentável) inoculado com inóculo fecal humano, no tempo zero (basal) e após 24 e 48 horas de incubação (37°C).....	131

FIGURAS DO ARTIGO 3

Figura 1 -	Valores médios de viscosidade aparente dos iogurtes caprinos durante 28 dias armazenamento refrigerado.....	164
Figura 2 -	Valores médios de pH (a), acidez (b) e açúcares totais (c) dos iogurtes caprinos durante 28 dias armazenamento refrigerado.....	165
Figura 3 -	Contagem total de <i>Streptococcus thermophilus</i> (a) e <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (b) nos iogurtes caprinos durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	166

LISTA DE TABELAS

TABELAS DO ARTIGO 1

Tabela 1 -	Características físicas, físico-químicas e potencial antioxidante (média $\pm$ desvio padrão) do cladódio do mandacaru (<i>Cereus jamacaru</i> DC.) <i>in natura</i> usado na elaboração da FM.....	90
Tabela 2 -	Composição físico-química e perfil de minerais da FM.....	91
Tabela 3 -	Perfil de açúcares e ácidos orgânicos da FM.....	92
Tabela 4 -	Perfil de fenólicos, teor de vitamina C e atividades antioxidantes da FM.....	93

TABELAS DO ARTIGO 2

Tabela 1 -	Escores da atividade prebiótica (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) de frutooligossacarídeos (FOS) e farinha do cladódio do mandacaru (MF) digerida em <i>L. acidophilus</i> LA-05®, <i>L. fermentum</i> 139 e <i>L. fermentum</i> 296.....	122
Tabela 2 -	Teores de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) e açúcares (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) em meios com glicose (20 g/L), frutooligossacarídeos (FOS, 20 g/L) e farinha do cladódio do mandacaru digerida (MF, 20 g/L) inoculado com de <i>L. acidophilus</i> LA-05®, <i>L. fermentum</i> 139 e <i>L. fermentum</i> 296.....	123
Tabela 3 -	Índice prebiótico (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) da MF, frutooligossacarídeos (FOS) e controle negativo (sem substrato) após 24 e 48 horas de fermentação colônica <i>in vitro</i>	124
Tabela 4 -	Determinação de pH (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) em meios com MF digeridas, frutooligossacarídeos (FOS) e controle negativo (sem adição de substrato fermentável) no tempo zero e após 24 e 48 horas de fermentação colônica <i>in vitro</i>	126
Tabela 5 -	Teores de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) e açúcares (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) durante a fermentação colônica <i>in vitro</i> com fezes humanas inoculada com farinha do cladódio do mandacaru (MF) e	

	frutooligossacarídeos (FOS), bem como em um controle negativo (sem substrato fermentável adicionado) no tempo zero (linha de base) e após 24 e 48 horas de incubação.....	127
Tabela 6 -	Teores de compostos fenólicos (mg/L, média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e atividade antioxidante durante a fermentação colônica in vitro com fezes humanas inoculada com farinha do cladódio do mandacaru (MF) e frutooligossacarídeos (FOS), bem como em um controle negativo (sem substrato fermentável adicionado) no tempo zero (linha de base) e após 24 e 48 horas de incubação.....	129

TABELAS DO ARTIGO 3

Tabela 1 -	Características físico-químicas e potencial antioxidante (média $\pm$ desvio padrão) da geleia de tamarindo.....	158
Tabela 2 -	Valores médios ($\pm$ desvio padrão) de Sinerese e cor de iogurtes caprinos durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	159
Tabela 3 -	Valores médios ($\pm$ desvio padrão) das variáveis físicas e físico-químicas de iogurtes caprino durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	160
Tabela 4 -	Perfil de açúcares e ácidos orgânicos de iogurtes caprino durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	161
Tabela 5 -	Perfil de compostos fenólicos, fenólicos totais, flavonoides e atividade antioxidante de iogurtes caprino durante 28 dias de armazenamento refrigerado.....	162

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a_a	Atividade de água
ABTS	Captura do radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Analytical Chemist
BAL	Bactérias ácido lácticas
BHI	“Brain heart infusion”
CFM	Citometria de Fluxo Multiparamétrica
CCV	Contagens de células viáveis
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CT	Centro de Tecnologia
EGA	Equivalente de ácido gálico
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Hibridização por Fluorescência <i>in situ</i>
FM	Farinha do cladódio do mandacaru
FOS	Fruto-oligossacarídeos
FRAP	Poder antioxidante de redução do ferro
g	Grama
h	Hora
HPLC	High performance liquid chromatography
I1%	Iogurte adicionado 10% de geleia de tamarindo e 1% FM
I2%	Iogurte adicionado 10% de geleia de tamarindo e 2% FM
IC	Iogurte Controle
IG	Iogurte adicionado 10% de geleia de tamarindo
INTM	Instituto Nacional de Tecnologia em União e Revestimento de Materiais
ISAPPO	Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos
LAPPA	Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícola
LABROM	Laboratório de Bromatologia dos Alimentos
LB	Laboratório de Bromatologia

LEA	Laboratório Experimental de Alimentos
LTA	Laboratório de Tecnologia de Alimentos
Min	Minuto
mL	Mililitro
MRS	de Man, Rogosa e Sharpe
NMP	Número Mais Provável
nº	Número
°C	Grau Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
PANC	Planta alimentícia não convencional
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
RMF	Resíduo mineral fixo
rpm	Rotação por minuto
SISGEN	Sistema de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados
TGI	Trato gastrointestinal
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
2	REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1	PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC).....	20
2.2	ALIMENTOS FUNCIONAIS	22
2.2.1	Prebiótico.....	23
2.2.2	Bactérias ácido-láticas e Probióticos	25
2.3	TAMARINDO (<i>TAMARINDUS INDICA</i> LINN)	27
2.4	IOGURTE CAPRINO	28
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	MATÉRIAS-PRIMAS E LOCAL DE EXECUÇÃO.....	31
3.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO CLADÓDIO DO MANDACARU <i>IN NATURA</i>	33
3.3	ELABORAÇÃO DA FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU (FM). 36	
3.3.1	Processamento da FM e delineamento experimental	36
3.3.2	Caracterização da FM.....	37
3.3.2.1	Controle de qualidade da FM	37
3.3.2.2	Caracterização tecnológica, física e físico-química da FM.....	37
3.3.2.3	Perfil de açúcares e ácidos orgânicos da FM.....	38
3.3.2.4	Potencial antioxidante da FM.....	38
3.4	AVALIAÇÃO DO EFEITO PREBIÓTICO DA FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU DIGERIDA E LIOFILIZADA	39
3.4.1	Preparação da amostra	39
3.4.2	Microrganismos e condições de cultura.....	39
3.4.3	Preparação de meios de cultivo	40
3.4.4	Determinação dos escores da atividade prebiótica	41
3.4.5	Determinação de atividade metabólica probiótica	42
3.4.5.1	Enumeração de contagens de células viáveis.....	42
3.4.5.2	Avaliação dos parâmetros da atividade metabólica bacteriana	42
3.5	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS PREBIÓTICOS UTILIZANDO INÓCULO FECAL.....	43
3.5.1	Preparação das amostras fecais e pré-cultura	43
3.5.2	Preparação do meio de fermentação.....	43
3.5.3	Enumeração bacteriana por fluorescência de hibridização <i>in situ</i> (FISH) acoplado com citometria de fluxo multiparamétrica	44
3.5.4	Determinação de índices prebióticos.....	46
3.5.5	Monitoramento de indicadores de atividade metabólica	47
3.6	DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE CAPRINO ADICIONADO DE GELEIA DE TAMARINDO E FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU	48
3.6.1	Elaboração da geleia de tamarindo.....	48
3.6.2	Elaboração dos iogurtes caprinos e delineamento experimental	48
3.6.3	Caracterização tecnológica, física, físico-química e microbiológica dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira	50

3.6.4	Perfil dos açúcares e ácidos orgânicos dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira	51
3.6.5	Potencial antioxidante dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira	51
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
4.1	ARTIGO 1 – PROPRIEDADES FÍSICAS, NUTRICIONAIS E BIOATIVAS DE FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU (<i>CEREUS JAMACARU</i> DC.): UMA PLANTA ALIMENTÍCIA NÃO CONVENCIONAL DO SEMIÁRIDO NORDESTINO BRASILEIRO	66
4.2	ARTIGO 2 – POTENCIAIS PROPRIEDADES PREBIÓTICAS DA FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU (<i>CEREUS JACAMARU</i> DC.), UMA PLANTA COMESTÍVEL NÃO CONVENCIONAL DO BIOMA CAATINGA.....	66
4.3	ARTIGO 3 – EFEITOS DA ADIÇÃO DE FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU (<i>CEREUS JAMACARU</i> DC.) E GELEIA DE TAMARINDO SOBRE AS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS, NUTRICIONAIS, MICROBIOLÓGICAS E ANTIOXIDANTES DE IOGURTE CAPRINO	66
5	APÊNDICE	166

1 INTRODUÇÃO

O estudo sobre compostos bioativos naturalmente presentes em alimentos, como os probióticos e prebióticos, tem sido destaque nos últimos anos (CHUGH; KAMAL-ELDIN, 2020; NERI *et al.*, 2020; VERBEKE *et al.*, 2017). Os probióticos são micro-organismos que, quando administrados em quantidades adequadas, fornecem benefícios à saúde (FAO/WHO, 2001). Para que este efeito benéfico ocorra, esses micro-organismos devem sobreviver à passagem pelo estômago e colonizar o cólon (CASAROTTI; PENNA, 2015). Já os prebióticos são componentes alimentícios utilizados seletivamente por micro-organismos hospedeiros, não digeríveis pelo organismo humano, bem como por enzimas digestivas de origem animal, mas fermentáveis, que estimulam a ação de bactérias benéficas existentes no organismo humano, bem como ofertando benefícios ao hospedeiro (GIBSON *et al.*, 2017).

Há evidências que algumas bactérias ácido-láticas (BAL) de frutas e vegetais possuem potencial probiótico (GARCIA *et al.*, 2018) e que essas matrizes são fontes de fruto-oligossacarídeos, carboidratos fermentáveis, que podem estimular a multiplicação de BAL (MASSA *et al.*, 2020) e cuja constituição em fibras e compostos fenólicos podem potencializar o efeito protetor sobre BAL em processos biotecnológicos de secagem, como a liofilização (ARAÚJO *et al.*, 2020). Outros estudos apontam cactáceas como fonte de grande diversidade de bactérias que vivem em associação e também com alto teor de fibras solúveis e insolúveis, o que pode potencializar suas funcionalidades (LYRA *et al.*, 2013; SÁNCHEZ-ZAPATA *et al.*, 2013). Dentre as espécies de cactáceas destaca-se o *Cereus jamacaru* DC., popularmente conhecido como mandacaru (ABUD *et al.*, 2013), cujos estudos dessa magnitude com avaliação de efeito prebiótico especificamente nessa matriz ainda são inéditos.

O *Cereus jamacaru* DC. é um cacto colunar, multirramificado, provido de espinhos e flores brancas, seus frutos são oblongos, com casca grossa e vermelha, polpa branca com inúmeras sementes pequenas e pretas, succulenta, friável e igualmente doce e comestível (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Trata-se de uma cactácea muito utilizada como fitoterápico na medicina tradicional (DAVET *et al.*, 2009; VATTA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2015), com importância econômica e ambiental (SILVA; ALVES, 2009; LUCENA *et al.*, 2013) e que possui elevado valor nutricional, sendo uma potente matriz a ser estudada quanto à sua viabilidade na indústria alimentícia como ingrediente e/ou alimento

funcional (LINA; ELOISA, 2018; ABUD *et al.*, 2013). Muito embora alguns estudos já tenham evidenciado o potencial nutricional e bioativo do mandacaru (DUTRA *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2018; SANTOS NETO *et al.*, 2019; SANTOS *et al.*, 2020), a sua alta perecibilidade na forma *in natura*, dificultam a sua comercialização e uso pelos consumidores, sendo necessário o emprego de tecnologias para o aumento de sua vida, a exemplo de processos de desidratação. Nesse contexto, a utilização de cactáceas pode ser uma alternativa para a geração de possíveis aplicações tecnológicas agregadas de valor funcional, pela presença de compostos bioativos e ingredientes prebióticos.

A associação de matrizes lácteas fermentadas adicionadas de ingredientes com potenciais bioativos, a exemplo da geleia de tamarindo e de farinha de cactácea, consiste em uma inovação que a indústria alimentícia vem investindo para atender à demanda do mercado consumidor cada vez mais exigente, não só por produtos com tecnologia diferenciada, mais que além de nutrir proporcione efeitos benéficos para a saúde (BESSA *et al.* 2020; DANTAS *et al.* 2022; FAZILAH *et al.*, 2018). Nos últimos anos, vem sendo demonstrado o potencial do leite de cabra para elaboração de derivados fermentados por bactérias ácido lácticas probióticas e ingredientes prebióticos comerciais com impactos positivos sobre os aspectos de composição nutricional, químico, microbiológico e sensorial (BARBOSA *et al.*, 2016; BEZERRA *et al.*, 2016; BEZERRIL *et al.*, 2020; MACHADO *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2017), não tendo sido ainda avaliados os efeitos de uso de ingredientes vegetais alternativos com potencial funcional nessa matriz, a exemplo do mandacaru.

Diante do exposto, considerando que o cladódio do mandacaru e o leite de cabra são matrizes amplamente conhecidas na região Nordeste do Brasil, e que possuem importância nutricional, econômica, ambiental e medicinal para a população do Sertão e Semiárido Nordestino e que o interesse dos consumidores mundiais por alimentos benéficos à saúde vem aumentando. Neste estudo objetivou-se elaborar e caracterizar as propriedades tecnológicas, nutricionais, bioativas e prebióticas da farinha do cladódio do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), bem como a sua viabilidade tecnológica no processamento de iogurte caprino.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)

Dentre os diversos tipos de espécies vegetais, existe um grupo de plantas comestíveis, espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas, não inseridas na alimentação habitual, que foi denominado em 2008, pelo biólogo e professor Valdely Ferreira Kinupp, como Plantas Alimentares Não Convencionais (PANC) (LEAL *et al.*, 2018; KINUPP, 2018).

As PANC dispõem de uma ou várias partes que podem ser usualmente utilizadas na alimentação humana como hortaliças, raízes, talos, folhas, tubérculos, brotos, frutos, flores e sementes (FAO, 1992). Sendo uma alternativa sustentável da biodiversidade (MAZON *et al.*, 2020).

Para o crescimento e/ou desenvolvimento das PANC não são utilizados aditivos químicos, e quando inseridas na alimentação, trazem efeitos benéficos à saúde (AZAM *et al.*, 2014). Essas plantas, são popularmente conhecidas como matos ou inço e se desenvolvem espontaneamente na natureza (KINUPP, 2018) e são reconhecidas pelas suas propriedades fitoquímicas (vitaminas, carotenóides, flavonoides e minerais), medicamentosas e pela sua composição nutricional (MAZON *et al.*, 2020; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Em estudos, algumas propriedades das plantas não convencionais e sua utilização foram avaliadas, constatando propriedades antioxidantes; podendo ser utilizadas como conservantes naturais na indústria alimentícia e farmacêutica (JARADAT *et al.*, 2016), de comercialização (NIDAL *et al.*, 2015), como fitoquímicos constituintes e na alimentação humana; em preparações como em saladas, sopas e tortas rústicas. Consideradas espécies promissoras na área de tecnologia de alimentos, e utilizadas como alimentos funcionais e nutraceuticos pelas suas características inerentes (GUARRERA *et al.*, 2016; JACOB *et al.*, 2020).

Dentre as PANC destacam-se as cactáceas, plantas com flor e seus embriões apresentam cotilédones. Possuem cladódios (hastes) e sua família é composta por aproximadamente 100 gêneros e 1.500 espécies, amplamente distribuídas, encontradas predominantemente em regiões de clima seco (adaptáveis ao clima por possuírem tecidos para estocarem água) e em terrenos baldios, roças secas, jardins, quintais, etc. (BARTHLOTT; HUNT, 1993; COSTA, 1997).

As cactáceas são espécies adaptáveis em diversos habitats, arbustivas, ramificadas, compostas de artículos, e pode alcançar alturas de até 10 m, diâmetro de 60 cm, coroa larga, glabra, caules suculentos, afilos, cobertos por espinhos de diversas formas, tamanhos e dimensões (ABUD *et al.*, 2010).

A espécie *Cereus jamacaru* DC., conhecida popularmente como mandacaru, mandacaru-de-boi, ou cardeiro, é uma planta típica do Nordeste brasileiro, sendo bem distribuída, com uma média de até 13,3 toneladas por hectare, encontrada principalmente na Bahia, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas e Sergipe (SCHEINVAR, 1985). Nasce em solos pedregosos, possui polpa porosa e com espinhos, que frutificam nos meses mais chuvosos, entre fevereiro e maio, e podem atingir de 3 a 7 m de altura (ROCHA; AGRA, 2002) (Figura 1). Utilizado principalmente na alimentação animal em período de seca, é também usada para fins ornamentais (BRAGA, 1960; DAVET *et al.*, 2009; MEIADO *et al.*, 2010).

Figura 1- Foto do cladódio do *Cereus jamacaru* DC.



Fonte: Autores (2020).

O mandacaru possui valor marcante na cultura, economia e apresenta um papel importante na conservação da biodiversidade da caatinga. Utilizado como fonte de alimentos e na medicina, na prevenção de doenças; como em infecção urinária, inflamação renal e reumatismo (FABRICANTE *et al.*, 2010; GUEDES *et al.*, 2009; LUCENA *et al.*, 2013), além de apresentar elevado valor nutricional, contendo carboidratos, fibras solúveis e insolúveis, vitaminas, compostos antioxidantes e propriedade funcional (PEREIRA *et al.*, 2013).

Destaca-se em sua composição, características nutricionais marcantes de alimentos funcionais, principalmente na quantidade de fibras alimentares solúveis e insolúveis que promovem saciedade, redução da absorção de gordura na dieta, promovendo a perda de peso e controle da obesidade. No cólon, as fibras solúveis são fermentadas pelas bactérias intestinais, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico). As fibras insolúveis contribuem para o aumento do volume do bolo fecal, redução do tempo de trânsito intestinal, retardo da absorção de glicose e retardo da hidrólise do amido (GODARD *et al.*, 2010; HERNÁNDEZ-URBIOLA *et al.*, 2011; PEREIRA *et al.*, 2013).

As pesquisas sobre a potencialidade e uso do cladódio do mandacaru são escassas, ou sua fabricação pelo agronegócio. Além disso, há necessidade de estudos científicos sobre a usabilidade pós-colheita, principalmente no que se refere ao escurecimento enzimático, fator limitante para a valorização da cadeia produtiva dessa fruta. Isso sugere que novos estudos devem ser incentivados sobre o uso sustentável dessa espécie frutífera tendo em vista sua valorização cultural do Nordeste e sua contribuição de recursos extras para a população que vive na região, principalmente em épocas de seca.

2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

O termo, alimentos funcionais, foi introduzido inicialmente no Japão na década de 1980, referindo-se à alimentos inseridos em uma dieta normal que trazem benefícios adicionais a saúde. A inserção destes alimentos, teve como princípio a redução de gastos com a saúde pública e o aumento da longevidade (DOYON; LABRECQUE, 2008).

A alegação de propriedade funcional e/ou de saúde, no Brasil, refere-se a nutriente ou não-nutriente que exerce papel metabólico e/ou fisiológico, atuando no crescimento, desenvolvimento e manutenção do organismo humano (BRASIL, 2004; LEAN, 2019).

A portaria 398/99 define alimento funcional como todo o alimento ou nutrientes que traz benefícios adicionais à saúde humana quando consumidos na dieta usual (BRASIL, 1999).

Muitas substâncias presentes nos alimentos potencialmente funcionais possuem compostos bioativos, caracterizado como composto que traz atividade biológica e efeito fisiológico no organismo vivo (FAZILAH *et al.*, 2018). As frutas e os vegetais naturalmente possuem nutrientes e compostos bioativos, tais como: flavonóides, antocianinas, taninos, betalaínas, carotenóides, esteróis vegetais e glucosinolatos, exercendo funções específicas no organismo humano, efeitos fisiológicos e celulares (WALIA *et al.*, 2019).

Os compostos bioativos das plantas são produzidos como metabólitos secundários, podendo ter efeitos farmacológicos ou toxicológico em humanos e animais. Tais efeitos, podem ser benéficos ou não, a depender do tipo de substância, quantidade e biodisponibilidade (BERNHOF, 2010; OH; JUN, 2014). Esses compostos ativos podem ser: as bactérias probióticas, substratos para o seu crescimento (prebióticos) e metabolismo das bactérias (TOMASIK; TOMASIK, 2020).

Os alimentos funcionais instituem prioridade de pesquisa em todo mundo com objetivo de demonstrar suas propriedades e os efeitos que estes produtos possuem. Podendo atuar em diversas áreas do organismo, tais como: sistema gastrointestinal, sistema cardiovascular, metabolismo de substratos, crescimento e desenvolvimento, na diferenciação celular, no comportamento das funções fisiológicas e como antioxidantes (REES *et al.*, 2018).

Nesse contexto, estudos sobre compostos bioativos naturalmente presentes em alimentos, como os probióticos e prebióticos têm sido destaque em pesquisas (GARCIA *et al.*, 2016; SCOTT *et al.*, 2019).

2.2.1 Prebiótico

De acordo com a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPPO) a nova definição de prebiótico foi instituída em 2017 e caracteriza-o como um composto que pode ser utilizado de forma seletiva por microrganismos e podem atuar de forma benéfica à saúde humana. Porém, desde seu surgimento em 1995, ocorreram diversas mudanças, mesmo não tendo muitos prebióticos validados (GIBSON *et al.*, 2017).

Os prebióticos não são digeríveis pelas enzimas digestivas de origem animal, fermentáveis, estimulam a ação de bactérias benéficas existentes no organismo humano, ofertando benefícios ao hospedeiro. Estes ingredientes propiciam o crescimento e/ou atividade seletiva de determinadas bactérias no cólon, promovendo mudanças específicas na composição e atividade da microbiota (SCOTT *et al.*, 2019).

Os prebióticos podem ser encontrados naturalmente nas frutas, vegetais, e plantas alimentares, como: tomate, alcachofra, banana, aspargo, frutas, alho, cebola, chicória, verduras, legumes, além de aveia, linhaça, cevada e trigo (CRITTENDEN; PLAYNE, 2008). Podendo também serem produzidos artificialmente, a exemplo da lactulose, galactooligossacarídeos, frutooligossacarídeos, maltooligossacarídeos, ciclodextrinas e lactossacaros (JAKUBCZYK; KOSIKOWSKA, 2000). Ambos, reduzem o índice glicêmico de alguns alimentos, sendo potencialmente capazes de melhorar a absorção de cálcio, ferro e magnésio (DUARTE *et al.*, 2017).

Os prebióticos, naturais ou artificiais, atuam modificando potencialmente a microbiota intestinal, estimulando o crescimento e a atividade de bactérias benéficas; melhorando a funcionalidade intestinal, mediados por uma variedade de mecanismos, incluindo alterações na composição do microbioma e níveis de metabólitos microbianos (GIBSON *et al.*, 2017).

O termo usado para componentes alimentares que não são digeridos no trato gastrointestinal é o de fibras prebióticas e dietéticas. A principal diferença entre estes termos encontra-se no fato dos prebióticos serem fermentados por grupos estritamente definidos de micro-organismos, e a fibra alimentar não é digerida no estômago ou no intestino delgado (GIBSON *et al.*, 2017; ZAMAN *et al.*, 2015).

Dentre aos principais benefícios associados ao consumo de prebióticos pode-se citar: a melhora na biodisponibilidade de minerais e cálcio, modulação do sistema imune, modulação do pH intestinal, redução da gravidade ou infecções do trato gastrintestinal e reajuste de desordens do metabolismo, referente à obesidade e redução do risco de câncer (CHARALAMPOPOULOS; RASTALL, 2011; SOCHA *et al.*, 2002).

Ressalta-se que os prebióticos não são alergênicos e seu consumo a longo prazo possui propriedades profiláticas, não possuindo efeitos adversos quando ingeridos nas dosagens adequadas (CUKROWSKA, 2018).

Estudos realizados por Ribeiro *et al.* (2020) e Duarte *et al.* (2017) avaliando suco liofilizado de cladódios de *Pilosocereus gounellei* e subproduto agroindustrial do caju (*Anacardium occidentale* L.), respectivamente, evidenciaram efeitos prebióticos

potenciais, considerando ingredientes promissores na aplicação industrial. Araújo *et al.* (2020) demonstraram efeito protetor dos subprodutos de frutas sobre cepas probióticas, estabilidade durante o processo de liofilização e armazenamento das cepas probióticas testadas, indicando assim, efeito protetor sobre as BAL.

2.2.2 Bactérias ácido-láticas e Probióticos

As bactérias ácido-láticas (BAL) ou bactérias lácticas fazem parte de um grupo heterogêneo de micro-organismos Gram positivos, catalase negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados, com morfologia de cocos ou bastões e produtores de ácido láctico como produto da sua fermentação (KLEIN *et al.*, 1998).

De acordo com o seu metabolismo, as BAL podem se agrupar como homofermentativas ou heterofermentativas, com base no produto final da sua fermentação. As homofermentativas produzem ácido láctico pela fermentação da glicose e as heterofermentativas, além da produção de ácido láctico, formam outras substâncias, como dióxido de carbono, ácido acético, e etanol, a partir da fermentação da glicose (CARR *et al.*, 2002).

Dentre os gêneros de BAL mais importantes, tem-se os *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium* e *Tetragenococcus* (KLEIN *et al.*, 1998). Os gêneros de BAL caracterizam-se por serem exigentes nutricionalmente e por demandarem moléculas orgânicas complexas (BURGAIN *et al.*, 2014).

As BAL se desenvolvem bem em plantas e vegetais, frutas, alimentos fermentados e mucosas. São bactérias exigentes em termos de nutrientes, pois precisam de meios ricos em carboidratos, vitaminas, aminoácidos e lipídeos para seu crescimento (DALLAL *et al.*, 2017).

Evidências científicas relatam o interesse da utilização de novos isolados de BAL para empregar como probióticos ou em outras aplicações (GARCIA *et al.*, 2016; PUEBLA-BARRAGAN; REID, 2019). Além disso, evidenciam os benefícios à saúde, abrangendo função imunomoduladora e na prevenção de diabetes, obesidade e câncer (KANG *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2020).

O termo probiótico, é de origem grega e significa ‘para a vida’, e tem sido empregado ao longo dos últimos anos. Tal termo, inicialmente proposto como descritivo de compostos ou extratos de tecidos capazes de estimular o crescimento microbiano

(LILLY; STILLWELL, 1965). Posteriormente, foi definido como organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio microbiano intestinal. Embora o termo e a definição de probiótico tenham origem nos anos 90, atualmente ainda há interesse por micro-organismos potencialmente benéficos à saúde (PARKER, 1974; TOMASIK; TOMASIK, 2020).

Os probióticos são caracterizados como micro-organismos vivos, capazes de alcançar o trato gastrointestinal e alterar a composição da microbiota, produzindo benefícios adicionais à saúde quando consumidos em quantidades adequadas. Esses efeitos estão diretamente relacionados ao tipo da cepa utilizada, geralmente melhorando a microbiota intestinal (AGOSTONI *et al.*, 2004; FAO; WHO, 2001; LEBEER *et al.*, 2018).

A microbiota intestinal refere-se a microrganismos que colonizam todo o trato gastrointestinal (DOĞAN *et al.*, 2019). Dentre os micro-organismos probióticos, encontram-se bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Enterococcus*. Os micro-organismos mais utilizados na fermentação de produtos probióticos são os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MUSTAFA *et al.*, 2019).

No Brasil, os probióticos quando inseridos em alimentos são regulamentados pela Anvisa e para serem utilizados devem ser avaliados quanto a sua identidade (gênero, espécie e linhagens), segurança e efeitos benéficos (BRASIL, 2019). O Decreto-Lei n. 986 de outubro de 1969, relata que os probióticos não são atribuídos à efeitos terapêuticos e/ou medicamentosos (BRASIL, 1969).

A utilização das culturas probióticas no desenvolvimento de novos produtos, atuam como agentes tecnológicos; melhorando as características organolépticas dos alimentos, trazendo benefícios à saúde do consumidor (KANDYLIS *et al.*, 2016). Para que isso ocorra, é necessário que o micro-organismo apresente algumas características, tais como: ser inócuo e manter-se viável durante toda a passagem pelo trato gastrointestinal, tolerando pH adverso do suco gástrico e resistindo à ação da bile e das secreções pancreática e intestinal; não transportar genes transmissores de resistência a antibióticos; possuir propriedades antimutagênicas e anticarcinogênicas, assim como resistir a fagos e ao oxigênio (KERRY *et al.*, 2018).

Diversas pesquisas referentes aos efeitos associados dos probióticos na prevenção e promoção à saúde vem sendo desenvolvidas, destacando: controle de infecções, efeitos anti-inflamatório, melhora no funcionamento intestinal, alergias alimentares e no

metabolismo de lactose, redução do nível de colesterol sérico, no estímulo da absorção de cálcio, atua também, na digestibilidade de proteínas, na síntese de vitaminas, inibição de patógenos e na modulação do sistema imunológico (AMARA; SHIBL, 2015; ATTRI *et al.*, 2021; JAMES; WANG, 2019).

Os efeitos benéficos dos probióticos tem repercutido no consumo, e, conseqüentemente no desenvolvimento de novos produtos disponíveis no mercado. Algumas fontes alternativas não lácteas, por serem mais baratas e apresentar mais fitoquímicos como os legumes, frutas, leguminosas e cereais tem sido alvo de estudos, embora represente um grande desafio (CASSANI *et al.*, 2020; PANGHAL *et al.*, 2018).

Para exercerem efeito probiótico, os microrganismos adicionados em produtos comercializados devem atender alguns requisitos, incluindo a sua sobrevivência, atividade e estabilidade durante o armazenamento, sem afetar o sabor, aroma e textura dos produtos aos quais forem adicionados. Além destes requisitos tecnológicos, a segurança e funcionalidades destes micro-organismos devem ser avaliados no processo de seleção para sua aplicação (PIMENTEL *et al.*, 2021).

As culturas probióticas são veiculadas em vários produtos alimentares, existindo desafios na inserção, o qual, destaca-se a viabilidade durante todo o trato gastrointestinal (TGI) e as características organolépticas e tecnológicas (KERRY *et al.*, 2018). Para desenvolver tecnologias adequadas, é importante pesquisas serem desenvolvidas no âmbito industrial, que possam levar em consideração a viabilidade e da estabilidade dos microrganismos envolvidos (SARAO; ARORA, 2017).

No âmbito industrial, as culturas lácteas estão comumente empregadas em sistemas de fermentação, como por exemplo: leite fermentados, iogurtes e queijos, bem como nos processamentos de vegetais, produtos cárneos e bebidas. Atuam no melhoramento das características organolépticas do produto e na inibição da competição da microbiota deteriorante e de agentes patogênicos (CARR *et al.*, 2002; CHARLIER *et al.*, 2009).

2.3 TAMARINDO (*Tamarindus indica* Linn)

O tamarindo (*Tamarindus indica* Linn) é um fruto tropical encontrado na África e Ásia, muito apreciado pelo sabor agridoce, devido a combinação dos ácidos e açúcares (OSORIO *et al.*, 2018). Seus frutos apresentam baixa composição de água, elevado teor de proteínas, fibras, glicídios, aminoácidos, compostos bioativos como os antioxidantes,

e elementos minerais: potássio, fósforo, cálcio, magnésio e ferro, e vitaminas C e E (AMPODE; MINANGA, 2021; DEVI, BORUAH; 2020; SULIEMAN *et al.*, 2015). Rico em açúcares, a polpa possui, também, quantidades de ácidos orgânicos dos quais, grande parte se constitui de ácido tartárico, o qual confere a este fruto sabor azedo adocicado, mesmo quando maduro (BANU, 2018; BOHRA, 2019).

Na medicina tradicional, o fruto é utilizado na cicatrização de feridas, contra dores abdominais, diarreia, disenteria, infestação parasitária, febre, malária, anti-inflamatório, analgésico e problemas respiratórios. Também é, comumente, usado em países tropicais por causa de suas propriedades laxantes e afrodisíacas (BORQUAYE *et al.*, 2020; MENEZES *et al.*, 2016).

Os frutos, ricos em sua composição nutricional, podem ser utilizados para a elaboração de produtos de confeitaria, picles, panificação, ensopado, conservas, sorvetes, bebidas, doces, molhos e geleias. Também, possuem potencial de produção na elaboração de produtos industriais, como polpa de tamarindo em pó, concentrado de suco de tamarindo, ácido tartárico, tartaratos, pectina e álcool (ISRAEL *et al.*, 2019; KOUR *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020; YAMATOYA *et al.*, 2020). Portanto, essa espécie requer proteção e conservação, pelo grande potencial devido aos seus benefícios e utilização.

Devido a suas características sensoriais e nutricionais, a geleia de tamarindo apresenta-se como uma alternativa a ser inserida em iogurtes, pois melhora as características tecnológicas e sensoriais do produto final (BESSA *et al.*, 2020).

2.4 IOGURTE CAPRINO

A indústria de laticínios vem investindo no segmento de produtos funcionais, na tentativa de se adaptar às mudanças e exigências do mercado consumidor. Esses alimentos têm incentivado as pesquisas e a indústria alimentícia a buscar novos componentes naturais, desenvolver novos ingredientes, permitindo a inovação em produtos alimentícios e a criação de novas (BIMBO *et al.*, 2017).

Há interesse do consumidor em leite de cabra e produtos lácteos, devido aos valores nutritivos e benefícios adicionais à saúde, associados a esses produtos (NOORI *et al.*, 2017). Conforme Costa e Rosa (2016), este alimento pode ser considerado um dos mais completos e com potencial funcional.

A qualidade nutricional do leite de cabra está relacionada à sua composição química, sendo constituída de proteínas de alto valor biológico e ácidos graxos essenciais,

ressaltando-se também o seu conteúdo mineral. Entre os ácidos graxos, destaca-se o ácido linoléico conjugado (CLA), sendo considerado componente nutracêutico da gordura do leite, por apresentar atividades anticarcinogênica e antiteratogênica; habilidade para redução de efeitos catabólicos da estimulação imune; redução de reservas corporais de gordura, e ainda, promoção de crescimento. Atua, também, sobre os efeitos secundários da obesidade e da diabetes. Logo, a importância do leite de cabra na alimentação se deve ao seu alto valor nutritivo, maior digestibilidade e as características terapêuticas e dietéticas (CLARK; GARCÍA, 2017; GARCÍA *et al.*, 2011; KUMAR *et al.*, 2016).

O leite de cabra destaca-se também, por apresentar elementos importantes para a nutrição humana como matérias orgânicas e nitrogenadas; caseína e albumina; gordura insaturada; sais minerais e vitaminas; em soma a presença de fermentos lácticos, os quais apresentam propriedades favoráveis à digestão, bem como para defesa do trato gastrointestinal contra a ação de bactérias patogênicas (HODGKINSON *et al.*, 2018; YADAV *et al.*, 2016;).

A partir dessa matriz, estudos vêm sendo desenvolvidos na elaboração de outros produtos, tais como: iogurtes, queijos e bebidas lácteas, sendo utilizados processos simples e acessíveis aos pequenos produtores, e uma alternativa para o aumento do consumo, bem como, agregação de valor a tais produtos (MACHADO *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2018; MILAN *et al.*, 2018).

O iogurte é um dos lácteos mais consumido pela população e de importância econômica (NOORI *et al.*, 2017). É o produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, realizada com cultivos proto-simbióticos de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, aos quais se podem acompanhar, de forma complementar, outras bactérias ácido-láticas que, por sua atividade contribuem para a determinação das características do produto final (BRASIL, 2000).

Constitui uma rica fonte de proteínas, cálcio, fósforo, vitaminas e carboidratos. O consumo deste produto está relacionado à imagem positiva de alimento saudável e nutritivo, associado a suas propriedades sensoriais. Esse consumo também pode ser atribuído aos benefícios que o iogurte traz ao organismo humano, tais como: facilitar a ação das proteínas e enzimas digestivas, facilitar a absorção de cálcio, fósforo e ferro, ser fonte de galactose – importante na síntese de tecidos nervosos e cerebrosídeos em crianças, além de ser uma forma indireta de se ingerir o leite (FERREIRA *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2017; NOORI *et al.*, 2017).

A elaboração de produtos oriundos de leite de cabra e cladódio do mandacaru apresenta-se como uma alternativa promissora para alimentação, seja por seus elevados valores nutricionais, econômicos, ambientais e medicinais para a população ou por suas propriedades promotoras de saúde, agregando benefícios tecnológicos, bioativos e funcionais, além de contribuir para o crescimento e desenvolvimento econômico das regiões semi áridas do Brasil.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS E LOCAL DE EXECUÇÃO

Os cladódios do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) e tamarindos (*Tamarindus indica* Linn) foram coletados durante três dias não consecutivos, correspondendo a três lotes diferentes com 4 kg cada. Os cladódios foram obtidos na cidade de Cuité-PB [6°29'46.0"S 36°09'34.7"W], com comprimento de aproximadamente 1 metro, selecionados considerando sua integridade física. O material botânico (mandacaru) foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SISGEN) número A1FECD5. Os tamarindos, em estágio de maturação próprio para consumo (após a antese), foram adquiridos no Sítio Aroeira, Paraná-RN [6°25'15.4"S 38°15'49.6"W].

O leite de cabra da raça *Toggenburg* foi coletado de uma pequena produção localizada na cidade de Nova Floresta-PB [6°27'33.2"S 36°12'04.6"W]. O açúcar refinado (União®, São Paulo, Brasil) e a cultura *starter* (Y 472, Sacco®, Lote C156109A, Campinas, São Paulo, Brasil) composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, foram obtidos comercialmente. Foram utilizadas três estirpes, nomeadamente *Lactobacillus acidophilus* LA-05®, (Chr. Hansen, Hørsholm, Dinamarca), *Limosilactobacillus fermentum* 139 e *L. fermentum* 296, com potencial probiótico utilizadas no experimento para a avaliação do efeito prebiótico do cladódio do mandacaru. Os *L. fermentum* 139 e 296 foram previamente isolados e identificados por Garcia *et al.*, (2016) e tiveram seu potencial probiótico avaliado por Albuquerque *et al.*, (2017), derivados de subprodutos de maçã e morango e depositadas no Banco de Cepas pertencente ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos/CCS/UFPB, o *Lactobacillus acidophilus* LA-05® foi obtido comercialmente. *Escherichia coli* ATCC 8739 e *E. coli* ATCC 11775, foram fornecidos pela Coleção de Microrganismos de Referência, Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil), foram usados para preparar o inóculo entérico misto usado em ensaios para determinação de escores de atividade prebiótica..

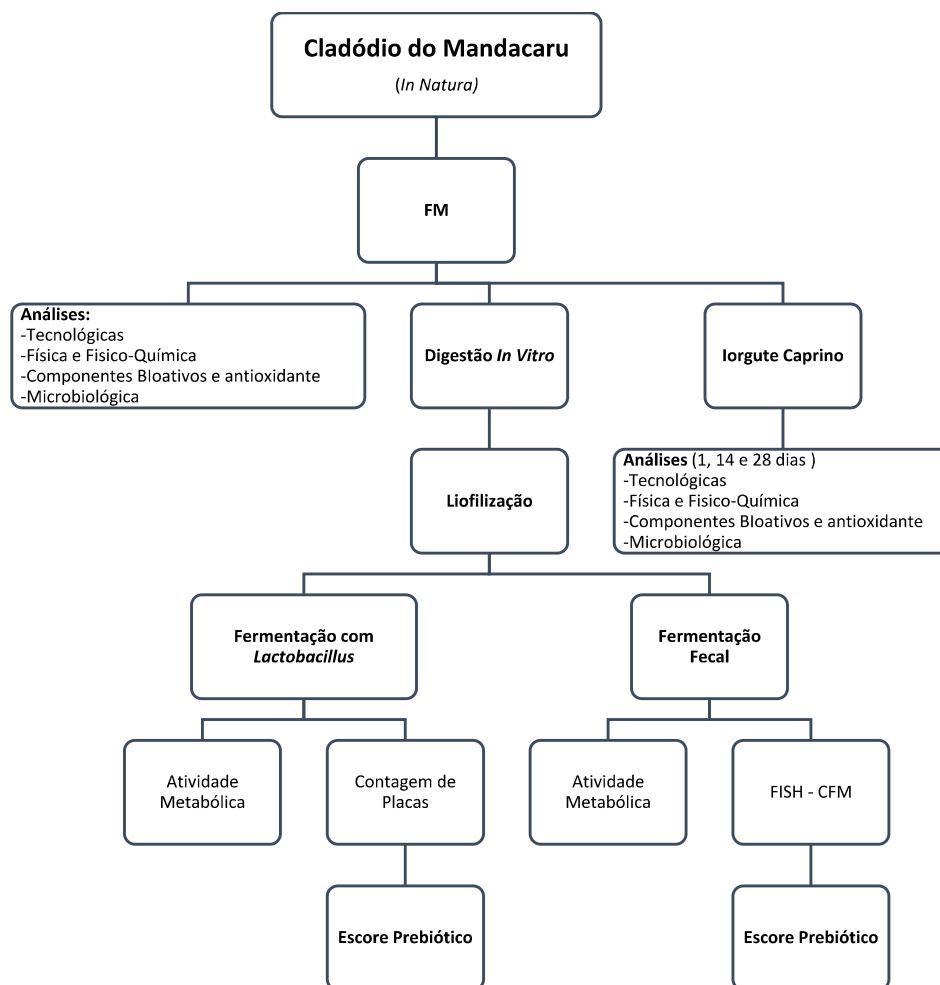
A farinha do cladódio do mandacaru e os iogurtes caprinos foram elaborados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA/CES/UFCG); as análises tecnológicas foram conduzidas no Laboratório de Bromatologia (LB/CCS/UFPB) e no Laboratório de

Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas (LAPPA/UAEA/UFCG); as análises físicas, físico-químicas, determinação de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante foram realizadas no Laboratório de Bromatologia dos Alimentos (LABROM/CES/UFCG); a análise de morfologia e de minerais foram realizadas no Instituto Nacional de Tecnologia em União e Revestimento de Materiais (INTM/UFPE) e as análises microbiológicas (controle de qualidade e viabilidade) foram executadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LABMA/CES/UFCG).

As análises do efeito prebiótico do cladódio do mandacaru, em sua maioria, foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica de Alimentos (LMBA), Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba (UFPB) - Campus I, João Pessoa – PB.

A execução da determinação do perfil de açúcares, ácidos orgânicos e perfil fenólicos ocorreu no Laboratório Experimental de Alimentos (LEA), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Instituto Federal do Sertão Pernambucano (IF Sertão-PE), Petrolina – PE. As análises de quantificação de fibras foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Na Figura 2 está apresentado, de forma resumida, um fluxograma abrangendo o desenho experimental que compõe esse trabalho. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, em dois experimentos diferentes.

Figura 2 - Desenho experimental do estudo.

Fonte: Autores, 2020. FM, Farinha do Cladódio do Mandacaru; CFM, Citometria de Fluxo Multiparamétrica; FISH, Hibridização por Fluorescência *in situ*.

3.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, FÍSICO-QUÍMICA E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO CLADÓDIO DO MANDACARU *IN NATURA*

Os cladódios do mandacaru *in natura* foram avaliados quanto às características físicas e físico-químicas, realizaram-se os seguintes ensaios: medida da atividade de água a 25 °C, por leitura direta no equipamento Aqualab (Meter®, AquaLab Series 4TEV, São José dos Campos, São Paulo, Brasil); umidade por secagem em estufa a 105 °C até obtenção de massa constante; teor de cinzas (resíduo mineral fixo – RMF) foi quantificado por carbonização seguida de incineração em forno mufla (modelo 0612, Jung®, Blumenau - SP, Brasil) a 550 °C; para proteína utilizou-se o método de Micro-Kjeldahl; a determinação de gordura foi pelo método Folch, Less e Sloane-Stanley (1957); e carboidratos totais foi realizada segundo o método de redução de Fehling (AOAC, 2016). Os conteúdos de fibras totais, insolúvel e solúvel foram determinados

usando um método enzimático-gravimétrico (HORWITZ *et al.*, 2005; PROSKY *et al.*, 1995)

Para a avaliação do potencial antioxidante do cladódio *in natura* foram realizados os ensaios de determinação dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e atividade antioxidante. Inicialmente, foi realizada a obtenção dos extratos conforme metodologia de Monteiro *et al.* (2020), com modificações. Para tanto, em um tubo de Falcon foi pesado 1 g da amostra e adicionado 10 mL de metanol (Merck, Darmstadt, Alemanha) a 80%. Os tubos foram cobertos com papel alumínio e colocados em maceração por 24 h em temperatura de $23 \pm 0,5$ °C. Posteriormente, os extratos foram filtrados em papel de filtro qualitativo com diâmetro de 125 mm (Whatman®, GE Healthcare, Chicago, IL, USA) e armazenados em frasco âmbar a $(-18 \pm 0,5$ °C) até o momento das análises.

Para determinar o teor de compostos fenólicos totais utilizou-se a metodologia descrita por Liu *et al.* (2002), com modificações. Resumidamente, 250 µL do extrato foi misturado em tubo de ensaio com 1250 µL do reagente Folin-Ciocalteu a 10%. As soluções foram agitadas por 30 s em Vortex (Logen Scientific, modelo LSM56-II-VM, Fortaleza, Ceará, Brasil) e armazenadas em temperatura ambiente ($23 \pm 0,5$ °C) na ausência da luz por 6 min. Após, foram adicionados 1000 µL da solução de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi levada ao banho maria (Novatecnica®, modelo NT232, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a uma temperatura de 50 ± 1 °C, durante 5 min. Em seguida, a absorbância foi medida a 765 nm utilizando espectrofotômetro (BEL Photonics®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). Também foi realizado um branco com a ausência dos extratos para zerar o espectrofotômetro. O conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras foi determinado utilizando uma curva padrão preparada com ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA). Os resultados foram expressos como miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por cem grama de amostra (mg EAG/100 g).

O teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método proposto por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). Uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionada à 2 mL de água destilada em um tubo de ensaio. Em seguida, adicionaram-se 150 µL de nitrito de sódio a 5%. Após 5 min, 150 µL de cloreto de alumínio a 10% foi adicionado e, após 6 min, 1 mL de hidróxido de sódio a 1 M, seguido pela adição de 1,2 mL de água destilada. A absorbância da amostra foi medida a 510 nm usando um espectrofotômetro (BEL Photonics®) contra um branco na ausência dos extratos. O teor de flavonoides totais do extrato foi determinado usando uma curva padrão de equivalente

de catequina (EC) (Sigma-Aldrich). Os resultados foram expressos como equivalentes de catequina (EC) por 100 g de amostra (mg CE/100 g).

Dois métodos distintos foram empregados para avaliar a atividade antioxidante do cladódio do mandacaru: FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*) e ABTS (2,2-azino-bis (3-etilbenzo-tiazoline)-6-sulfonic acid), cujas metodologias serão descritas a seguir.

Para determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP) foi utilizada a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Pulido *et al.* (2000). O reagente FRAP foi preparado somente no momento da análise, através da mistura de 11 mL de solução tampão acetato de sódio anidro a 0,3 M (pH 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine) a 10 mM/L em uma solução de HCl a 40 mM e cloreto férrico (FeCl_3) a 20 mM. Para a análise, uma alíquota de 200 μL do extrato da amostra foi adicionado a 1800 μL do reagente FRAP em um tubo de ensaio e levados ao banho maria (Novatecnica[®]) a 37 ± 1 °C por 30 min. A absorbância foi medida a 593 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics[®]). A curva padrão foi realizada com Trolox 1 mM e) e os foram expressos em micromoles de capacidade antioxidante equivalente de Trolox (CAET) por 100 grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$).

O método ABTS foi realizado de acordo com a metodologia de Surveswaran *et al.* (2007), com algumas modificações. Inicialmente, formou-se o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ a partir da reação de 5 mL de solução de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (2,2-azino-bis (3-etilbenzo-tiazoline) -6-sulfonic acid) a 7 mM com 88 μL de solução de persulfato de potássio 140 mM (concentração final de 2,45 mM), que foram incubados em temperatura de 25 °C, na ausência de luz, durante 12-16 h. Uma vez formado o radical, o mesmo foi diluído em água destilada até obter o valor de absorbância de 0,800 ($\pm 0,020$) a 734 nm. A partir do extrato foram preparadas quatro diluições diferentes, em triplicata. Em ambiente escuro foi transferido para um tubo de ensaio uma alíquota de 100 μL das diluições do extrato e adicionado 500 μL do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Após, os tubos de ensaio foram mantidos em repouso na ausência de luz por 6 min. Em seguida, realizou-se a leitura da absorbância a 734 nm em espectrofotômetro (BEL Photonics[®]). Também foi feita uma solução “controle” que consistiu em uma alíquota de 100 μL do solvente extrator do extrato adicionada de 500 μL do radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$. A solução “branco” foi o solvente extrator de cada extrato, utilizada para zerar o espectrofotômetro. Os resultados foram expressos

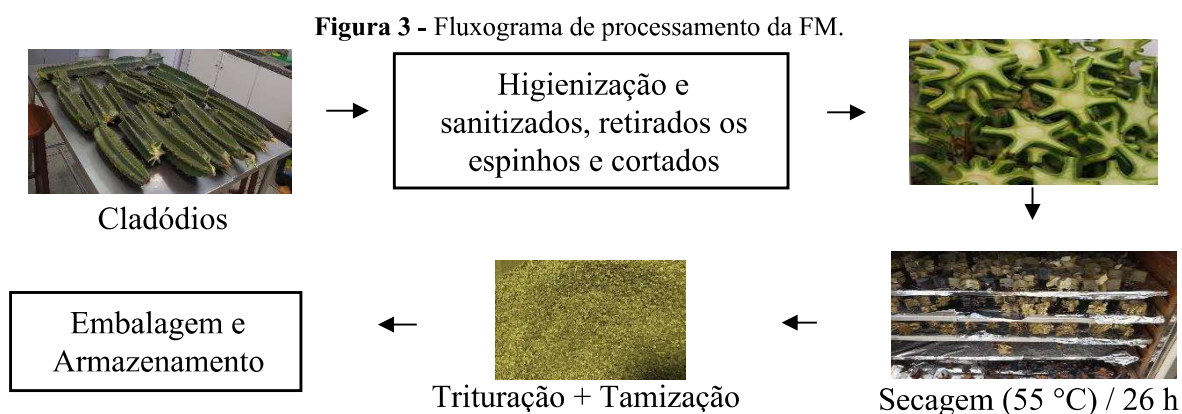
micromoles de capacidade antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) por grama de amostra ($\mu\text{mol TEAC/g}$).

Também foi determinado o conteúdo de ácido ascórbico pelo método de Tillmans, foram pesadas 0,5 g da amostra e homogeneizada com 10 mL de ácido oxálico 2% e com 40 mL de água destilada e, esta solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL. Uma alíquota de 10 mL dessa solução foi titulada com solução de Tillmans e os resultados foram expressos em mg/100g (AOAC, 2019).

3.3 ELABORAÇÃO DA FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU (FM)

3.3.1 Processamento da FM e delineamento experimental

O fluxograma do processamento da FM é apresentado na Figura 3. A farinha foi preparada de acordo com o método descrito por Machado *et al.*, (2021), com modificações. Os cladódios do mandacaru *in natura*, foram higienizados com água corrente e sanitizados com hipoclorito de sódio (100 ppm/ 15 min), em seguida foram tirados os espinhos com uma faca e descartados. Os cladódios sem espinho, foram cortados em fatias de aproximadamente 1 cm de espessura com faca de aço inoxidável estéril. Após, realizou-se a secagem das fatias em estufa com circulação forçada de ar (Quimis, Q314M, Diadema, São Paulo, Brasil) a $55 \pm 1^\circ\text{C}$ até massa constante, o que levou aproximadamente 26 h. Após a secagem, o cladódio do mandacaru foi triturado em um moinho de facas (Wiley, Solab®, Piracicaba, São Paulo). A FM foi tamizada em peneira com malha de 230 mesh em um agitador de peneiras (Bertel®, Caieiras, São Paulo). Por fim, a FM foi embalada em saco de polipropileno e congelada $-20 \pm 1^\circ\text{C}$ até análises posteriores.



Fonte: Autores, 2020. FM, Farinha do Cladódio do Mandacaru.

Após processada em três lotes diferentes e em experimentos separados, a FM foi analisada, em triplicata, quanto aos aspectos tecnológicos, físicos, físico-químicos, microbiológicos, perfil de açúcares e de ácidos orgânicos e potencial antioxidante.

3.3.2 Caracterização da FM

3.3.2.1 Controle de qualidade da FM

Para avaliação das condições higiênico-sanitárias da farinha processada seguiu-se a metodologia recomendada pela American Public Health Association (APHA, 2001), sendo determinado o Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (NMP/g) e termololerantes (NMP/g); contagem de bolores, leveduras, de *Bacillus cereus*, de *Staphylococcus* coagulase positiva e de bactérias aeróbias e mesófilas, expressa em Unidades Formadoras de Colônias por g (UFC/g); e detecção de *Salmonella* sp., de acordo com Brasil (2019).

3.3.2.2 Caracterização tecnológica, física e físico-química da FM

A morfologia da FM foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Brito *et al.* (2020). Para tal, uma camada nanométrica (40–50 nm) de ouro foi depositada sobre a amostra, utilizando um metalizador (Quorum SC7620, Madri, Espanha) (20–1000 µm). As imagens com diferentes ampliações (100x-4000x) foram obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) (TESCAN MIRA3, Brno, República Tcheca), e o tamanho das partículas foram aferidos.

Os parâmetros físicos e físico-químicos foram determinados conforme metodologia já descrita no item 3.2.

Os minerais foram quantificados de acordo com a metodologia descrita por Etienne *et al.* (2017), com modificações. O espectrômetro de energia dispersiva (EDS) (Oxford, Londres, Inglaterra) acoplado a um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (TESCAN MIRA3, Brno, República Tcheca) foi operado a pressões de alto vácuo. As condições operacionais utilizadas para a análise de EDS foram: Zoom (1000x), distância de trabalho (15 mm) e tensão de aceleração (15 Kv). A composição foi explorada, e então os dados foram transferidos para os softwares MS Word e Excel, expressos em percentual (%).

3.3.2.3 Perfil de açúcares e ácidos orgânicos da FM

Para a determinação do conteúdo de açúcares (glicose, frutose, maltose e ramnose) e de ácido orgânicos (cítrico, láctico, málico, succínico, fórmico, acético, butírico e propiônico), inicialmente foi preparado o extrato aquoso da MF. Para tanto, 2 g da amostra foram homogeneizados com 10 mL de água ultrapurificada (Sistema de Purificação de Água Integral Milli-Q®, EMD Millipore, Billerica, MA, EUA) por 10 min em triturador/homogeneizador Turrtec (TE-102 - Tecnal®, Piracicaba, São Paulo, Brasil). A suspensão foi centrifugada (4000 $\times$ g, 15 min, 4 °C) e o sobrenadante foi filtrado com um filtro de 0,45 μ m (Millex Millipore, Barueri, SP, Brasil).

Posteriormente, foi realizada uma injeção do extrato em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com um sistema LC 1260 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) equipado com uma bomba de solvente quaternário (modelo G1311C), desgaseificador, compartimento de coluna termostato (modelo G1316A) e amostrador automático (modelo G1329B) acoplado a um detector de matriz de diodo (DAD) (modelo G1315D) e detector de índice de refração (RID) (modelo G1362A). Durante a análise, a coluna Agilent Hi-Plex H (300 $\times$ 7,7 mm) com tamanho de partícula de 8,0 μ m e coluna de guarda PL Hi-Plex H (5 $\times$ 3 mm) (Agilent Technologies) foram mantidas a 50 °C, o volume de injeção foi de 10 μ L, vazão de 0,5 mL/min, fase móvel H₂SO₄ a 4,0 mM em água ultrapura e corrida de 20 min. Os dados obtidos foram processados usando OpenLAB CDS ChemStation Edition™ (Agilent Technologies). Os picos e as áreas médias de pico foram utilizados para quantificação de amostras de CLAE comparando seus tempos de retenção com os padrões de ácidos orgânicos e açúcares (COELHO et al., 2018; PADILHA et al., 2017; BATISTA et al., 2018; LIMA et al., 2019). Os resultados de açúcares e ácidos orgânicos foram expressos como g por 100 g de amostra (g/100 g).

3.3.2.4 Potencial antioxidante da FM

Foi mensurado a partir dos ensaios de determinação do perfil de fenólicos, determinação do conteúdo total de fenólicos e flavonoides, ácido ascórbico e atividade antioxidante pelos métodos de FRAP e ABTS, conforme já descrito no item 3.2.

3.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO PREBIÓTICO DA FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU DIGERIDA E LIOFILIZADA

3.4.1 Preparação da amostra

Inicialmente, a FM foi submetida ao processo simulado de digestão gastrointestinal *in vitro*. Foi misturado, 10 g da FM foi misturado com 50 mL de água destilada esterilizada e homogeneizados por 5 minutos. Uma mistura de α -amilase (20 mg) e 1 mM de CaCl_2 (6,25 mL, pH 7) foi adicionada à solução e mantida a 37 °C por 30 minutos sob agitação (200 rpm). Após esta etapa, o pH da mistura foi ajustado para 2-2,5 com HCl 1M, adicionado de pepsina (2,7 g em HCl 0,1 M, 25 mL) e mantido a 37 °C durante 2 horas sob agitação (140 rpm). Em seguida, o pH foi ajustado para 6,5 - 7 com NaHCO_3 a 1M e sais de bile (3,5 g) e pancreatina (560 mg) foram misturados com 125 mL de NaHCO_3 0,5M e incorporados à mistura, a qual foi mantida a 37 ± 1 °C por 2 horas sob agitação (60 rpm). Todas as enzimas e reagentes usados para realização da digestão gastrointestinal *in vitro* foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Por fim, o material resultante do processo digestivo foi transferido para um tubo de diálise de celulose regenerada com limite de peso molecular nominal de 1 kDa (Spectrum, New Brunswick, EUA) e dialisada com NaCl 0,01 M a $5 \pm 0,5$ °C para remover monossacarídeos. Após 18 h, os fluidos dialisados foram substituídos e o processo continuou por 2 h. MF digerida dialisada foi congelado (-18°C), liofilizado (temperatura -50 ± 2 °C, pressão de vácuo 76 μHg , velocidade de liofilização 1 mm/h) por 28 h com um liofilizador (Liotop, São Paulo, Brasil), embalados em sacos de BOPP metalizados e armazenados ($4 \pm 0,5$ °C).

3.4.2 Microrganismos e condições de cultura

Três isolados probióticos foram utilizados, nomeadamente *Lactobacillus acidophilus* LA-05®, (Chr. Hansen, Hørsholm, Dinamarca), *Limosilactobacillus fermentum* 139 e *L. fermentum* 296. Cada estirpe foi cultivado duas vezes em caldo de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Hi-Media, Mumbai, Índia) a 37 °C por 20–24 h, centrifugado ($4500 \times g$ 15 min, 4°C; centrífuga MPW-351R, instrumentos médicos MPW, Varsóvia, Polônia), lavada duas vezes e ressuspensa em solução salina estéril (NaCl 8,5 g/l; FMaia Ltd., Minas Gerais, Brasil) para obter suspensões de células com densidade

óptica (OD; Espectrofotômetro, Bel Photonics, São Paulo, Brasil) a 655 nm de 0,6. Essas suspensões forneceram contagens de células viáveis de ~ 7 log unidades formadoras de colônias (UFC)/ml quando semeado em ágar MRS. Cada cepa probiótica foi testada como um único inóculo.

Escherichia coli ATCC 8739 e *E. coli* ATCC 11775, fornecidos pela Coleção de Microrganismos de Referência, Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil), foram usados para preparar o inóculo entérico misto usado em ensaios para determinação de escores de atividade prebiótica. Essas cepas foram cultivadas duas vezes em caldo de infusão cérebro-coração (BHI) (HiMedia) a 37 ° C por 18-20h. Cada cultura foi centrifugada (4500×g 15 min, 4°C), lavada duas vezes e ressuspensa em solução salina estéril para obter uma célula suspensão com uma leitura de OD de 0,05 a 655 nm (OD655). Essas suspensões forneceram contagens de células viáveis de ~ 7 log CFU/ml quando plaqueado em Ágar BHI. O inóculo da mistura entérica foi obtido pela mistura do duas suspensões diferentes de *E. coli* com uma proporção de 1:1.

Os estoques de todas as cepas foram mantidos em caldo MRS ou BHI com glicerol (150 g/l; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) a -20 °C por um máximo de 4 semanas. Caldo MRS e ágar MRS usados para cultivo de *B. animalis* foram sempre suplementados com 0,5 g/l de L-cisteína·HCl (Fluka, St. Gallen, Suíça) e incubados em condições anaeróbicas usando um gerador de gás anaeróbico (AnaeroGen™, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra).

3.4.3 Preparação de meios de cultivo

O caldo MRS com fonte de carbono modificada foi utilizado como meio basal para avaliar os potenciais efeitos prebióticos da FM submetida à digestão *in vitro* (DUARTE et al., 2017). A composição dos caldos MRS modificados utilizados nestes ensaios foram: triptona 10 g/L, extrato de carne 8 g/L, extrato de levedura 4 g/L, hidrogenofosfato dipotássico 2 g/L, tween 80 1 g/L, acetato de sódio 5 g/L, citrato de amônio tribásico 2 g/L, sulfato de magnésio 0,2 g/L, sulfato de manganês 0,04 g/L e 20 g/L da respectiva fonte de carbono.

Para monitorar o crescimento das cepas probióticas testadas, quatro diferentes caldos de cultivo foram preparados com base na única fonte de carbono utilizada na sua composição: 1) caldo contendo glicose (ingrediente não prebiótico - 20 g/L), 2) caldo

contendo fruto-oligossacarídeos (FOS, ingrediente prebiótico - 20 g/L e 3) caldo contendo o FM liofilizado submetido à digestão in vitro: 20 g/L; e 4) caldo sem adição da fonte de carbono.

Todos os ingredientes utilizados para preparar os meios de cultivo foram obtidos da Sigma-Aldrich, com exceção do FOS que foi obtido da Galena Ltd. (Campinas, SP, Brasil).

3.4.4 Determinação dos escores da atividade prebiótica

Uma alíquota de 0,2 mL da suspensão probiótica foi homogeneizada com 10 mL de CMRS com glicose, FOS e MF digerida (20 g/L). Paralelamente, uma alíquota de 0,2 mL da mistura entérica foi homogeneizada com 10 mL de caldo M9 (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) com glicose, FOS e MF digerida (20 g/L). No tempo zero (logo após a homogeneização), e após os tempos (6hs, 12hs, 24hs e 48 hs) de incubação (37 °C), uma alíquota de 1 mL de meio de cultivo foi diluída em série (1:9) em solução salina estéril. Uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi semeada em MRS para enumeração da mistura probiótica e entérica, respectivamente, e incubada a 37 ° C por 24 h. Os resultados foram expressos como log UFC/mL

O índice de atividade prebiótica foi determinado segundo equação recomendada por Zhang et al., (2018), correspondendo à fórmula a seguir (Equação 1):

$$\begin{aligned} \text{Índice de atividade prebiótica} = & \{[\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL cultivada em meio com} \\ & \text{a farinha no intervalo de 48 h}] - [\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL cultivada em meio com} \\ & \text{a farinha no intervalo de zero hora (população inicial)}] / [\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL} \\ & \text{cultivada em meio contendo glicose no intervalo de 48 h}] - [\log \text{ UFC probiótica} \\ & \text{(BAL)/mL cultivadas em meio contendo glicose no intervalo de zero hora (população} \\ & \text{inicial)}]\} - \{[\log \text{ UFC E. coli/mL cultivada em meio com a farinha no intervalo de 48} \\ & \text{h}] - [\log \text{ UFC E. coli/mL cultivada em meio com a farinha no intervalo de zero hora} \\ & \text{(população inicial)}] / \log \text{ UFC E. coli/mL cultivada em meio contendo glicose no} \\ & \text{intervalo de 48 h}] - [\log \text{ UFC E. coli/mL cultivada em meio contendo glicose no} \\ & \text{intervalo de zero hora (população inicial)}]\} \end{aligned} \quad (1)$$

A obtenção de valor de escore de atividade prebiótica positivo indica efeitos estimuladores seletivos do componente examinado sobre o crescimento da cepa

probiótica em detrimento da mistura entérica e, conseqüentemente, potencial atividade prebiótica (ZHANG et al., 2018).

3.4.5 Determinação de atividade metabólica probiótica

3.4.5.1 Enumeração de contagens de células viáveis

A análise do crescimento das cepas probióticas testadas quando cultivadas nos diferentes caldos ocorreram por meio da contagem de células viáveis. Para tanto, 20 mL da suspensão probiótica foi homogeneizada com 100 mL de CMRS com glicose, FOS, MF digerida (20 g/L) e sem fonte de carbono, em diferentes intervalos de tempos (zero hora, ou seja, logo após a homogeneização e após 6, 12, 24 e 48 horas pós-incubação), alíquotas de 100 µL de cada mistura foram seriadamente diluídas em solução salina esterilizada e, subsequentemente, 20 µL de cada diluição foram plaqueados em ágar MRS. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 – 48 horas. Os resultados das contagens de células viáveis foram expressos como log UFC/mL (MASSA et al., 2020).

3.4.5.2 Avaliação dos parâmetros da atividade metabólica bacteriana

As análises dos indicadores de atividade metabólica nos diferentes sistemas de cultivo propostos para avaliação da utilização da MF como fonte de carbono foram realizadas por meio da determinação de valores de pH, quantificação de ácidos orgânicos e consumo de açúcares nos tempos (Albuquerque et al., 2020).

O pH do meio de cultivo foi medido de acordo com metodologia já descrita no tópico 3.2, no tempo zero (logo após a homogeneização) e após 6, 12, 24 e 48 h de incubação. Os teores de açúcares e ácidos orgânicos foram avaliados no tempo zero e após 24 e 48 h de cultivo, conforme já descrito no item 3.3.2.3.

3.5 AVALIAÇÃO DOS EFEITOS PREBIÓTICOS UTILIZANDO INÓCULO FECAL

3.5.1 Preparação das amostras fecais e pré-cultura

Os procedimentos experimentais foram aprovados por um comitê institucional de ética em pesquisa com seres humanos (Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil) e seguiu as orientações do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 466, 2012). As amostras fecais foram coletadas de quatro voluntários adultos saudáveis (dois homens e duas mulheres, de 19 a 36 anos). Como critérios de inclusão, os doadores seguiram uma dieta onívora, sem precedentes de doença no intestino grosso, sem o uso de probióticos ou prebióticos incluídos em alimentos ou concentrados apresentados na forma farmacêutica, além de não ter feito uso de antibióticos ou qualquer outro medicamento de uso controlado por, pelo menos, seis meses antes da coleta (Guergoletto *et al.*, 2016). As amostras fecais foram coletadas em tubos estéreis, dispostos em uma jarra com um sistema gerador de anaerobiose (AnaeroGen, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) e transportadas para o laboratório. As amostras fecais foram verificadas em laboratório quanto à ausência de parasitas e sangue, sendo utilizadas em até 30 minutos após a coleta, para garantir uma microbiota fecal fresca. Amostras fecais frescas de voluntários foram misturadas (1:1:1:1, p/p), diluídas (1:10, p/v) em solução tampão fosfato-salino estéril (PBS; 0,1 mol/L; pH 7,4) e homogeneizadas por 2 min com agitação (200 rpm) (Rodrigues *et al.*, 2016). A mistura fecal (120 g) foi cultivada ($37 \pm 0,5$ °C) em condições anaeróbicas (AnaeroGen) em um meio de pré-cultura formulado com 10 g de triptona, 5 g de extrato de levedura, 10 g de NaCl, 5 g de glicose, 6 g de lactose e água destilada (1 L) previamente esterilizada em autoclave (121 °C, 1 atm, 15 min). Após uma incubação durante a noite, a pré-cultura foi filtrada com uma gaze tripla esterilizada (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021).

3.5.2 Preparação do meio de fermentação

Para o processo de fermentação foi utilizado 1 L de meio de crescimento esterilizado em autoclave (121°C, 1 atm, 15 min), com a seguinte composição: 4,5 g de NaCl, 4,5 g de KCl, 1,5 g de NaHCO₃, 0,69 g de MgSO₄, 0,8 g de L-cisteína HCl, 0,5 g de KH₂PO₄, 0,5 g K₂HPO₄, 0,4 g de sal biliar, 0,08 g CaCl₂, 0,005 g de FeSO₄, 1 mL de

Tween 80 e 4 mL de solução de resazurina (0,025%, como um indicador anaeróbico) e água destilada. A MF digerida foi submetida à fermentação com o pré-cultivo da microbiota fecal humana. O volume final da fermentação foi de 40% do meio de fermentação, 40% da pré-cultura fecal humana e 20% da MF digerida, incubados anaerobicamente a 37 °C por 48 h (HU *et al.*, 2013; ALBUQUERQUE *et al.*, 2021). Um meio de fermentação contendo FOS (20%) e sem substrato adicionado foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente, sendo submetidos aos mesmos procedimentos citados acima. Os ingredientes usados para preparar o meio de fermentação foram obtidos da Sigma-Aldrich.

3.5.3 Enumeração bacteriana por fluorescência de hibridização *in situ* (FISH) acoplado com citometria de fluxo multiparamétrica

A técnica de fluorescência de hibridização *in situ* (FISH) usando sondas de oligonucleotídeos designadas para regiões alvo específicas do gene 16S rRNA de distintos grupos bacterianos em combinação com citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) foram utilizadas para avaliar a capacidade da MF digerida em induzir mudanças na composição da população bacteriana colônica (CONTERNO *et al.*, 2019; MENEZES *et al.*, 2020). Cinco diferentes sondas (Lab 158 específica para *Lactobacillus* – *Enterococcus*, Bif 164 específica para *Bifidobacterium*, Bac 303 específica para *bacteroides* – *Prevotella*, Chis 150 específica para *Clostridium histolyticum* e Erec 482 específica para *Eubacterium rectale* – *Clostridium coccoides*) sintetizadas comercialmente e marcadas com o fluoróforo Cy3 (Sigma-Aldrich) foram utilizadas (Rodrigues *et al.*, 2016; Menezes *et al.*, 2020). O marcador SYBR Green (Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) foi usado para enumerar a população total de bactérias por meio da marcação da fita dupla de DNA (CONTERNO *et al.*, 2019).

No tempo zero (logo após a homogeneização dos componentes do meio de fermentação) e após 24 e 48 h de fermentação, alíquotas de 375 µL das culturas foram fixadas *overnight* a 4 °C com 1125 µL de solução de paraformaldeído filtrada (4%, p/v) para estabilizar a estrutura celular. Após esse período, as alíquotas foram centrifugadas (10000 × g, 5 min, 4 °C), lavadas duas vezes (10000 × g, 5 min, 4 °C) com PBS a 1 M esterilizado, ressuspensas em 300 µL de PBS: etanol 99% (1:1 v/v), filtradas com filtro de membrana tamanho de poro 0,45 µm (Whatman®) e armazenadas a -20 °C.

Para a realização da hibridização *in situ*, 10 μL das células fixadas foram ressuspensas em 190 μL de PBS 1x (Gibco®, Gaithersburg, EUA; pH 7,2), centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C), descartado-se o sobrenadante, ressuspensas em 200 μL de tampão Tris-EDTA (100 mM Tris-HCl e 50 mM EDTA; pH 8) e centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C). As amostras foram tratadas com 200 μL de Tris-EDTA contendo lisozima (1 mg/mL) e incubadas por 10 min no escuro em temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C), para permeabilizar as células que receberam as sondas Lab 158 e Bif 164, seguindo por centrifugação ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C). As amostras foram ressuspensas em 45 μL de tampão de hibridização [0,9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH 7,5), 0,1% (p/v) de dodecil sulfato de sódio (DSS)] e com 5 μL de sonda oligonucleotídica fluorescente (50 ng/ μL) e mantidas sob temperatura de hibridização apropriada para cada sonda (45 ou 50 °C) no escuro por 4 horas.

Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C), ressuspensas em 200 μL de tampão de hibridização sem DSS e mantidas sob temperatura de lavagem apropriada para cada sonda (45 ou 50 °C) no escuro por 30 min, para retirar sondas não ligadas. As amostras foram centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C), ressuspensas em 200 μL de PBS 1x + 20 μL de SYBR Green (1:1000 solução estoque diluída em dimetil sulfoxido $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich), incubadas por 10 min no escuro sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C), centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C) e ressuspensas com 200 μL de PBS 1x.

Uma amostra em branco (sem a sonda oligonucleotídica e sem SYBR Green), e uma amostra marcada somente com SYBR Green, foram preparadas para todas as amostras, seguindo os mesmos passos das amostras hibridizadas, como um controle para definir o limiar das comportas do citômetro de fluxo (BD Accuri C6, New Jersey, EUA), o que permite revelar a potencial autofluorescência das amostras, excluindo os falsos positivos. Na análise de CFM, os sinais fluorescentes das células individuais passam através de uma zona de laser, sendo coletados como sinais logaritmos. Os sinais fluorescentes (mensuramento da área de pulso) foram coletados pelos canais FL1 (SYBR Green) e FL2 (Lab 158, Bif 164, Bac 303, Chis 150 e Erec 482). A aquisição das amostras foi configurada para passar em um baixo fluxo, com nível limite para dispersão direta (FSC) ajustado para 30.000 e com total de 10.000 eventos coletados para cada amostra. Os citogramas de emissão de fluorescência foram gravados com o software BD Accuri C6 (Becton Dickinson and Company). Os resultados foram expressos como abundância relativa (porcentagem) de células hibridizadas com cada sonda Cy3 específica de grupo

bacteriano (registrados como eventos fluorescentes) em relação ao total de bactérias enumeradas com coloração SYBR Green (ALBUQUERQUE *et al.*, 2021; CONTERNO *et al.*, 2019; MENEZES *et al.*, 2021).

3.5.4 Determinação de índices prebióticos

Para obter uma medida comparativa quantitativa geral do equilíbrio entre diferentes populações bacterianas nas amostras de fermentação colônica, bem como para comparar a influência da FM examinada na modulação microbiana seletiva durante a fermentação colônica, um índice prebiótico foi calculado com dados obtidos na análise de FISH-CFM. A equação usada foi adaptada (OWOLABI *et al.*, 2020; PALFRAMAN *et al.*, 2003), em que diferentes populações bacterianas foram enumeradas com cinco sondas oligonucleotídicas usando a técnica de FISH-CFM. Após o cálculo da abundância relativa (porcentagem relativa), onde foi feita uma correlação com o número total (abundância, %) de bactérias enumeradas, a seguinte equação foi aplicada (Equação 2):

$$\text{Índice prebiótico} = \%Lab + \%Bif - \%Bac - \%Chis - \%Erec \quad (2)$$

Onde: %Lab = abundância encontrada para Lab após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Lab no tempo zero; %Bif = abundância encontrada para Bif após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Bif no tempo zero; %Bac = abundância encontrada para Bac após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Bac no tempo zero; %Chis = abundância encontrada para Chis após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Chis no tempo zero; e %Erec = abundância encontrada para Erec após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Erec no tempo zero.

A equação assume que um aumento na população de *Lactobacillus* – *Enterococcus* (hibridizado pela sonda Lab 158) e/ou *Bifidobacterium* (hibridizado pela sonda Bif 164) é um efeito positivo, enquanto um aumento na população de *Bacteroides* – *Prevotella* (hibridizado pela sonda Bac 303), *C. histolyticum* (hibridizado pela sonda Chis 150) e *E. rectale* – *C. coccoides* (hibridizado pela sonda Erec 482) é um efeito negativo. Mudanças na abundância desses grupos são inseridas na equação em relação aos seus níveis iniciais (abundância). Se um grupo bacteriano mostra diferenças negativas

entre o tempo de fermentação e o tempo zero, o sinal (positivo ou negativo) imediatamente anterior a essa sonda é alterado na equação. Isso permite normalizar o uso da equação para um número variado de sondas. A obtenção de um valor de índice prebiótico positivo indica um equilíbrio benéfico dos grupos bacterianos identificados na fermentação colônica induzida pelo substrato examinado e, conseqüentemente, uma potencial atividade prebiótica. Por sua vez, a obtenção de um valor de índice prebiótico negativo indica uma modulação indesejável da microbiota pelo substrato examinado.

3.5.5 Monitoramento de indicadores de atividade metabólica

A atividade metabólica da microbiota colônica em meios com FM digerida e FOS (controle positivo) e controle negativo (meio sem adição de fermento substrato) foi avaliada com medidas de valores de pH, teores de ácidos orgânicos, açúcares, perfil de fenólicos e atividade antioxidante no tempo zero e após 24 e 48 horas de fermentação.

As análises de pH, açúcares e ácidos orgânicos foram realizadas de acordo com a metodologia descrita no tópico 3.2

A atividade antioxidante foi determinada pelo método ABTS e DPPH de acordo com metodologia descrita por Shehata *et al.* (2021) e Lee *et al.* (2020), respectivamente.

O radical cátion ABTS foi gerado pela reação de 5 mL de solução aquosa de ABTS (7 mM) e 88 µL de 140 mM (concentração final de 2,45 mM) de uma solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida no escuro a 29 °C por 14 h antes de ser utilizada e, em seguida, foi diluída com etanol para obter uma absorbância de $0,7 \pm 0,02$ unidades em 734 nm usando um espectrofotômetro UV-vis. Extratos de casca (30 µL) ou substâncias de referência (BHA), foram deixados para reagir com 3 mL da solução de radical ABTS azul-verde resultante em uma condição escura. A diminuição da absorbância em 734 nm foi medida no ponto final de 6 min. A capacidade de eliminação de ABTS do extrato foi comparada com a de BHA e a porcentagem de inibição calculada como:

Atividade sequestrante do radical ABTS (%) $\frac{1}{4} [(Valor\ absoluto\ controle - Valor\ absoluto\ amostra)] / (valor\ absoluto)] \times 100$. Onde o valor absoluto controle é a absorbância do radical ABTS p metanol; valor absoluto da amostra é a absorbância do radical ABTS p extrato da amostra/padrão.

A atividade sequestrante do radical DPPH foi medida usando um método colorimétrico. No total, 0,03 mL de amostras foram reagidos com 0,4 mL de solução de DPPH em metanol. A mistura de reação foi incubada no escuro por 25 min. A atividade de eliminação de DPPH foi medida em um comprimento de onda de 517 nm. Os controles foram preparados da mesma maneira usando etanol em vez de uma amostra. A atividade de eliminação do radical DPPH (%) foi determinada da seguinte forma:

Atividade de eliminação do radical DPPH (%) = $(1 - (\text{absorvância da amostra} / \text{absorvância do controle})) \times 100$.

3.6 DESENVOLVIMENTO DE IOGURTE CAPRINO ADICIONADO DE GELEIA DE TAMARINDO E FARINHA DO CLADÓDIO DO MANDACARU

3.6.1 Elaboração da geleia de tamarindo

A geleia foi processada com base na metodologia descrita por Bezerril *et al.* (2021), com modificações. Os tamarindos (*Tamarindus indica* L.) foram higienizados, em seguida foram descascados, retirada a polpa e descartadas as sementes. na proporção 70:30 (tamarindo:açúcar), acrescentando-se 30% de água potável. Para tanto, a polpa do tamarindo com a água foi homogeneizada em liquidificador industrial (Spolu, SPL - 048W, Brasil) na velocidade 1 com a água e, em seguida, o suco foi filtrado. O suco foi acrescido do açúcar e levado ao fogo baixo (180 ± 1 °C). A verificação do ponto de geleia foi feita com base no teor de sólidos solúveis (BRASIL, 1978), empregando refratômetro digital (Hanna®, modelo HI 96801), até atingir o teor de 62 a 65%, p/p. Por fim, a geleia foi envasada em pote de vidro hermético e estéril, seguido de armazenamento em temperatura de refrigeração (4 ± 1 °C) até análises posteriores.

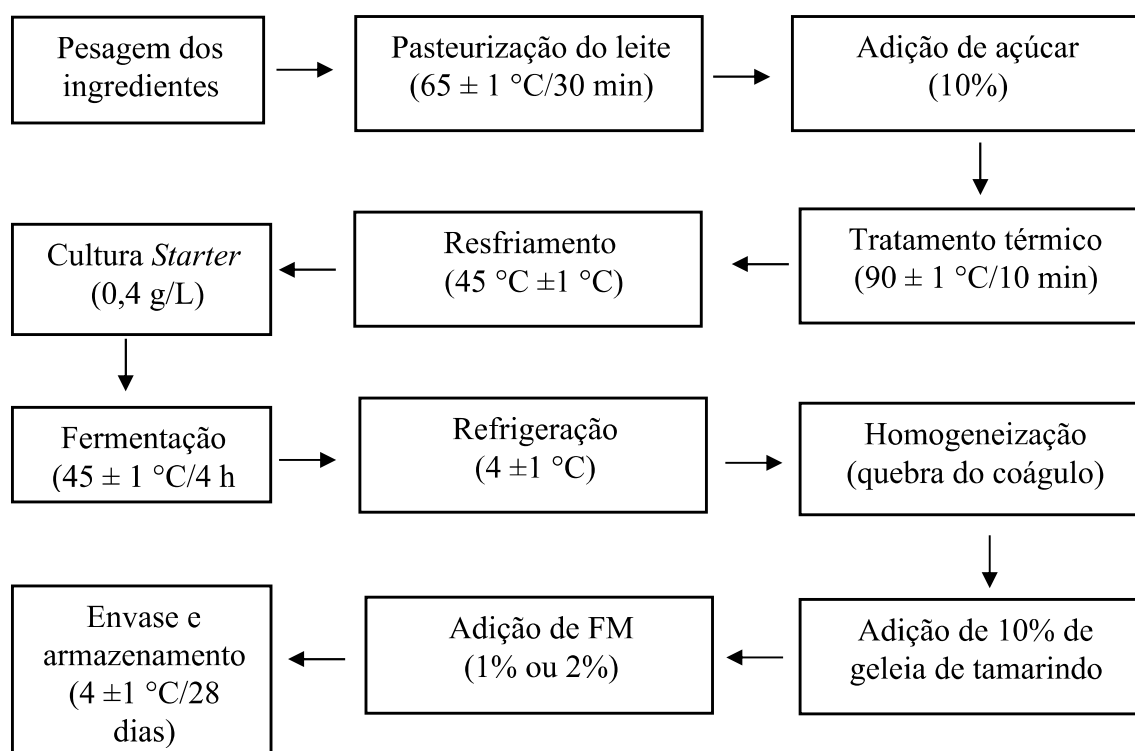
Foram avaliados os parâmetros físicos, físico-químicos e potencial antioxidante ao final do processamento da geleia de tamarindo, de acordo com metodologia descrita no tópico 3.2.

3.6.2 Elaboração dos iogurtes caprinos e delineamento experimental

O fluxograma iogurtes caprinos é apresentado na Figura 5, processados em dois experimentos independentes conforme metodologia adaptada de Machado *et al.* (2017).

Inicialmente, ao leite caprino pasteurizado (65 ± 1 °C/30 min) foi adicionado 10% de sacarose, e, posteriormente, o mesmo foi submetido a um tratamento térmico (90 ± 1 °C/10 min). Em seguida, o leite foi resfriado a 45 ± 1 °C e a cultura *starter*, composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foi inoculada numa concentração de 0,4 g/L. A fermentação foi realizada em incubadora BOD (Marconi®, MA 415, Piracicaba, São Paulo, Brasil) a uma temperatura de 45 ± 1 °C/4 h. O ponto final da fermentação do iogurte foi dado com base na verificação da firmeza do coágulo e determinação do pH, que atingiu no máximo 4,5, por volta de 4-6 hs. O produto, posteriormente, foi resfriado a 4 ± 1 °C e, em seguida, o coágulo foi quebrado mediante agitação manual com bastão de vidro. Procedeu-se, então, a adição de 10% da geleia de tamarindo e de farinha do cladódio do mandacaru (FM), nas concentrações de 1 ou 2%, conforme delineamento descrito a seguir.

Figura 4 - Fluxograma de processamento dos iogurtes caprinos adicionados de geleia de tamarindo e FM.



Fonte: Autores (2022).

Foram processados, em duplicata, os seguintes tratamentos: sendo, **IC** - Iogurte caprino controle, sem adição de geleia de tamarindo e FM; **IG** - Iogurte caprino

adicionado de 10% de geleia de tamarindo; **I1%** - Iogurte caprino adicionado de 10% de geleia de tamarindo e 1% de FM; e **I2%** - Iogurte caprino adicionado de 10% de geleia de tamarindo e 2% de FM.

As amostras de iogurtes caprinos foram analisadas em triplicata após os tempos 1, 14 e 28 dias de armazenamento refrigerado (4 ± 1 °C).

3.6.3 Caracterização tecnológica, física, físico-química e microbiológica dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira

A suscetibilidade a sinérese foi determinada pelo método de drenagem, onde 30 g da amostra foi colocada sobre um papel filtro com diâmetro de 125 mm (Whatman®, nº 3) na parte superior de um funil acoplado a um Erlenmeyer de 100 mL. O índice de sinérese foi avaliado após 5 h de exposição do sistema a uma temperatura de 4 °C (RIENER *et al.*, 2010), calculando-se conforme a Equação 3:

$$SINÉRESE (\%) := \left[\left(\text{massa do soro de leite, após filtração} - \text{massa da amostra de iogurte} \right) \times 100 \right] \quad (3)$$

A determinação da cor instrumental foi realizada em colorímetro (Konica Minolta®, CR 400, Osaka, Japan), utilizando o sistema CIELAB (CIE, 1996). No espaço colorimétrico CIELAB, definido por L*, a*, b*, a coordenada L* corresponde à luminosidade, a* e b* referem-se às coordenadas de cromaticidade verde(-)/vermelho(+) e azul(-)/amarelo(+), respectivamente.

A viscosidade aparente em mPa.s foi determinada utilizando-se o viscosímetro com geometria de cilindros concêntricos (Brookfield, DV-II+ Pro, Middleboro, USA), acoplado a um banho termostático para controle da temperatura (4 °C), usando o *spindle* SC4-27 e sob uma velocidade de rotação constante de 60 rpm.

As avaliações físicas e físico-químicas das amostras envolveram análise dos parâmetros de acidez em ácido láctico, pH, extrato seco total, umidade, cinzas, proteínas e açúcares redutores, conforme metodologias recomendadas pela *Association of Official Analytical Chemist methods* (AOAC, 2016) e a determinação de gordura foi pelo método Folch, Less e Sloane-Stanley (1957).

As análises microbiológicas constaram na avaliação da qualidade higiênico sanitária e na avaliação da viabilidade dos micro-organismos da cultura *starter*. Foram realizados testes de controle de qualidade de contagem de *E. coli*, contagem total de fungos e leveduras em UFC/g, bem como detecção de ausência de *Salmonella* spp./25 g (APHA, 2015). Os testes de viabilidade de bactérias lácticas incluíram *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (APHA, 2015) e *Lactobacillus* subsp. *bulgaricus* (LIMA et al., 2009). Os resultados foram expressos em log de unidade formadora de colônias por g de iogurte (log UFC/g).

3.6.4 Perfil dos açúcares e ácidos orgânicos dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira

Foi determinado conforme metodologia já descrita no item 3.3.

3.6.5 Potencial antioxidante dos iogurtes caprinos durante a vida de prateleira

Foi mensurado a partir dos ensaios de determinação do perfil de fenólicos, conforme metodologia já descrita no item 3.3, determinação do conteúdo total de fenólicos e flavonoides e atividade antioxidante pelos métodos de FRAP e ABTS, conforme já descrito no item 3.2.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e em dois experimentos distintos, sendo os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Os dados foram avaliados pela análise de variância (ANOVA), sendo usado o teste de média de Tukey ao nível de 5% de significância ($p \leq 0,05$). Para realização das análises estatísticas, foi utilizado o software computacional GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F.; PEREIRA, M. D. S.; GONÇALVES, N. R.; PEREIRA, D. D. S.; BEZERRA, A. M. E. Germination and morphology of fruits, seeds and plants of *Cereus jamacaru* DC. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 3, p. 310-315, 2013.
- AGOSTONI, C.; AXELSSON, I.; BRAEGGER, C.; GOULET, O.; KOLETZKO, B.; MICHAELSEN, K.F.; WEAVER, L.T. Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 4, p. 365-374, 2004.
- ALBUQUERQUE, T. M. R.; GARCIA, E. F.; ARAÚJO, A. O.; MAGNANI, M.; SAARELA, M.; SOUZA, E. L. *In vitro* characterization of *Lactobacillus* strains isolated from fruit processing by-products as potential probiotics. **Probiotics and antimicrobial proteins**, v. 10, n. 4, p. 704-716, 2018.
- AMARA, A. A.; SHIBL, A. Role of Probiotics in the health improvement, infection control and disease treatment and management. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, p. 107-114, 2015.
- AMPODE, K.M.; MINANGA, R. Dietary effect of *Tamarindus indica* leaf meal on the growth performance, cell-mediated immunity, carcass yield, and economic traits in broiler chickens. **Minanga R and Ampode KM**, p. 152-163, 2021.
- AOAC. **Official methods of analysis of AOAC international**. 20. ed. Washington: AOAC International, 2016, 3100 p.
- APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 5th. ed. Washington: Armer Public Health assn, 2015. 995 p.
- AQUALAB. **Analizador de atividade de água para avaliar biodegradação (alimentos e fármacos)**: Modelo CX-2. Decagon Devices, Inc. 950 NE Nelson Court Pullman, WA 99163 USA, 2001.
- ARAÚJO, C. M.; SAMPAIO, K. B.; MENEZES, F. N. D. D.; ALMEIDA, E. T. D. C.; LIMA, M. D. S.; VIERA, V. B.; OLIVEIRA, M. E. G. Protective Effects of Tropical Fruit Processing Coproducts on Probiotic *Lactobacillus* Strains during Freeze-Drying and Storage. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 96, 2020.
- ARRUDA, H. S.; PASTORE, G. M. Araticum (*Annona crassiflora* Mart.) as a source of nutrients and bioactive compounds for food and non-food purposes: A comprehensive review. **Food research international**, v. 123, p. 450-480, 2019.
- ATTRI, S.; SINGH, N.; NADDA, A. K; GOEL, G. Probiotics and Their Potential Applications: An Introduction. **Advances in Probiotics for Sustainable Food and medicine**, p. 1-26, 2021.
- AZAM, F. M. S.; BISWAS, A.; MANNAN, A.; AFSANA, N. A.; JAHAN, R.; RAHMATULLAH, M. Are famine food plants also ethnomedicinal plants? An

ethnomedicinal appraisal of famine food plants of two districts of Bangladesh. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 28, 2014

BANU, M.S. CHEMISTRY OF TAMARIND. **Tamarind Science and Technology**, p. 33, 2018.

BARBOSA, I. C.; OLIVEIRA, M. E.; MADRUGA, M. S.; GULLÓN, B.; PACHECO, M. T.; GOMES, A. M.; QUEIROGA, R. C.; BARBOSA, I. C.; OLIVEIRA, M. E.; MADRUGA, M. S.; GULLÓN, B.; PACHECO, M. T.; GOMES, A. M.; QUEIROGA, R. C. Influence of the addition of *Lactobacillus acidophilus* La-05, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12 and inulin on the technological, physicochemical, microbiological and sensory features of creamy goat cheese. **Food & function**, v. 7, n. 10, p. 4356-4371, 2016.

BARTHLOTT, W.; HUNT, D. R. *Cactaceae*. In: The families and genera of vascular plants. **Flowering Plants Dicotyledons**, v. 2, p. 161-197, 1993.

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

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, p. 70-76, 1996.

BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. **Bioactive compounds in plants-benefits and risks for man and animals**, v. 50, p. 11-17, 2010.

BESSA, M. M.; SILVA, A. G. F. Elaboration and physical-chemical and sensory characterization of tamarind prebiotic yogurt. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 4, p. 185-195, 2018.

BEZERRA, T.K. A.; OLIVEIRA A. N. M.; GARCIA, E. F.; GOMES, A. M. P.; EGYPTO, R. D. C. R.; SOUZA, E. L.; MADRUGA, M. S. Effect of supplementation with probiotic lactic acid bacteria, separately or combined, on acid and sugar production in goat ‘coalho’cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 710-718, 2017.

BOHRA, P.; WAMAN, A. A. **Malabar Tamarind: a profitable introduction for the Bay Islands**. 2019.

BORQUAYE, L. S.; DOETSE, M. S.; BAAH, S. O.; MENSAH, J. A. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of ethanolic extracts of *Tamarindus indica* L. (Fabaceae). **Cogent Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 1743403, 2020.

BRASIL. **Decreto-Lei n. 986, de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos**. Brasília, DF, 1969.

BRASIL. **GUIA PARA COMPROVAÇÃO DA SEGURANÇA DE ALIMENTOS E INGREDIENTES**. [S.l.], p. 51. n. 23. 2019.

BRASIL. **Informe Técnico nº 9, de 21 de maio de 2004, Orientação para utilização, em rótulos de alimentos, de alegação de propriedades funcionais de nutrientes com funções plenamente reconhecidas pela comunidade científica**. [S.l.]. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Resolução nº 5, de 13 de novembro de 2000. Oficializa os Padrões de identidade e qualidade de leites fermentados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília - DF, p. 9-12, 13 nov. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 37 de 31 de outubro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite de Cabra**. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 216 de 22 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2004. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/388704/RESOLU%25CC%2587%25CC%2583O-RDC>. Acesso em: 13 de janeiro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2001.

BRASIL. **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos**. ANVISA. Brasília, p. 11. 1999.

BRITO, T. B. N.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G. M.; MOREIRA, R. F. A.; FERREIRA, M. S. L.; FAI, A. E. C. Chemical composition and physicochemical characterization for cabbage and pineapple by-products flour valorization. **LWT - Food Science and Technology**, v. 124, p. 109028, 2020.

BIMBO, F.; BONANNO, A.; NOCELLA, G.; VISCECCHIA, R.; NARDONE, G.; DEVITIIS, B.; CARLUCCI, D. Consumers' acceptance and preferences for nutrition-modified and functional dairy products: A systematic review. **Appetite**, v. 113, p. 141-154, 2017.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. [S.l.]: Editora Universitária UFRN, v. 2, 1960.

BURGAIN, J; SCHER, J; FRANCIUS, G; BORGES, F; CORGNEAU, G; REVOL-JUNELLES, A. M; CAILLIEZ-GRIMAL, C; GAIANI, C. Lactic acid bacteria in dairy

food: Surface characterization and interactions with food matrix components. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 2013, p. 21-35, 2014.

CARR, F.J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The acid lactic bacteria: A literature survey. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 28, n. 4, p. 281-370, 2002.

CASSANI, L.; GOMEZ-ZAVAGLIA, A.; SIMAL-GANDARA, J. Technological strategies ensuring the safe arrival of beneficial microorganisms to the gut: from food processing and storage to their passage through the gastrointestinal tract. **Food Research International**, p. 108852, 2020.

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

CHARALAMPOPOULOS, D.; RASTALL, R. A. Prebiotics in foods. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 1-5, 2011.

CHARLIER, C; CRETENET, M; EVEN, S; LE LOIR, Y. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story new perspectives. **International Journal of Food Microbiology**, v. 131, p. 30-39, 2009.

CHUGH, B.; KAMAL-ELDIN, A. Bioactive compounds produced by probiotics in food products. **Current Opinion in Food Science**, v. 32, p. 76-82, 2020.

CIE Commission Internationale de L'Eclairage (1986). Colorimetry Pub no 15-2(2nd ed.). Paris, France: CIE.

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

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

COSTA, N.M.B.C.; ROSA, C.O.B. **Alimentos funcionais: componentes bioativos efeitos fisiológicos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Rúbio, 2016. 480 p.

COSTA, S.C. **Cacto *Cereus peruvianus*: características estruturais, reológicas e aplicações dos polissacarídeos**. 202 f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

CRITTENDEN, R.; PLAYNE, M. J. Nutrition News. Facts and functions of prebiotics, probiotics and synbiotics. **Handbook of Probiotics and Prebiotics**, p. 535-582, 2008.

CUKROWSKA, B. Microbial and nutritional programming -The importance of the microbiome and early exposure to potential food allergens in the development of allergies. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1541, 2018.

DALLAL, M. M. S; ZAMANIAHARI, S; DAVOODABADI, A; HOSSEINI, M. Identification and characterization of probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional persian pickled vegetables. **GMS hygiene and infection control**, v. 12, 2017.

DAVET, A.; VIRTUOSO, S.; DIAS, J. F.; MIGUEL, M.D.; OLIVEIRA, A. B.; MIGUEL, O. G. Atividade antibacteriana de *Cereus jamacaru* DC., *Cactaceae*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p. 561-564, 2009.

DEVI, B.; BORUAH, T. Tamarind (*Tamarindus indica*). In: **Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits**. Springer, Singapore, 2020. p. 317-332.

DOĞAN, M.; TEKINER, İ. H.; DEMIRKESENBİÇAK, H. Probiotics from food products and gastrointestinal health. *Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases*. **Dietary Interventions in Gastrointestinal Diseases**, p. 169–177, 2019

DOYON, M.; LABRECQUE, J. Functional foods: a conceptual definition. **British Food Journal**, v. 110, n. 11, p. 1133-1149, 2008.

DUARTE, F. N. D.; RODRIGUES, J. B.; LIMA, M. C; LIMA, M. S.; PACHECO, M. T. B.; PINTADO, M. M. E.; AQUINO, J. S.; SOUZA, E. L. Potential prebiotic properties of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) agro-industrial byproduct on *Lactobacillus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 97, n. 11, p. 3712-3719, 2017.

DUTRA, J. C. V.; OLIVEIRA, J. B. H.; SANTOS, V. S.; PEREIRA, P. R. C.; FERREIRA, J. M.; BATITUCCI, M. D. C. P. Fruiting increases total content of flavonoids and antiproliferative effects of *Cereus jamacaru* DC. cladodes in sarcoma 180 cells *in vitro*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 9, n. 2, p. 66, 2019.

ETIENNE, D. T.; ROMUALD, M. M.; YSIDOR, K. N. G.; DAOUDA, S.; ADAMA, C.; MARIUS, B. G. H. Nutritive Contents of Cakes Enriched with Almonds Powder of Terminalia catappa of Côte d'Ivoire. **Asian Research Journal of Agriculture**, p. 1-15, 2017.

FAO/WHO. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Córdoba, 2001. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/009/y6398e.pdf>. Acesso em: 20 dez. 2020.

FABRICANTE, J. R.; BEZERRA, F. T.; SOUZA, V. C.; FEITOSA, S. S.; ANDRADE, L. A.; ALVES, E. U. Influência de temperatura e substrato na germinação e desenvolvimento inicial de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.). **Agropecuária técnica**, v. 31, n. 2, p. 96-101, 2010.

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

FERREIRA, C.L.L.F.; MALTA, H.L.; CARELI, R.T.; DIAS, A.S; GUIMARÃES, A.; JACOB, F.; CUNHA, R.M.; PEREIRA, S.; OLIVEIRA, S. Verificação da qualidade físico-química e microbiológica de alguns iogurtes vendidos na região de Viçosa. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 56, n. 321, p. 152- 158, 2001.

FOLCH, J.; LESS, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

GARCIA, E. F.; LUCIANO, W. A.; XAVIER, D. E.; COSTA, W. C.; SOUSA O. K., FRANCO, O. L.; SOUZA, E. L. Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1371, 2016.

GARCIA, E. F.; LUCIANO, W. A.; XAVIER, D. E.; COSTA, W. C.; OLIVEIRA, K. S, FRANCO, O. L.; MORAIS JÚNIOR, M. A.; LUCENA, B. T. L.; PICÃO, R. C.; MAGNANI, M.; SAARELA, M.; SOUZA, E. L. Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 1371, 2016.

GARCIA, E. F.; OLIVEIRA A. A.; LUCIANO, W. A.; ALBUQUERQUE, T. M. R.; OLIVEIRA A. N. M.; MADRUGA, M. S.; SOUZA, E. L. The performance of five fruit-derived and freeze-dried potentially probiotic *Lactobacillus* strains in apple, orange, and grape juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 5000-5010, 2018.

GARCÍA, V.; ROVIRA, S.; BOUTOIAL, K.; LÓPEZ, M. B. Improvements in goat milk quality: A review. **Small Ruminant Research**, v. 121, n. 1, p. 51-57, 2017.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491, 2017.

GODARD, M.; EWING, B.; PISCHELI. Acute blood glucose lowering effects and long- term safety of *Opuntia* supplementation in prediabetic males and females. **J Ethnopharmacol**, p. 1-2, 2010.

GUARRERA, P. M.; SAVO, V. Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 185, p. 202-234, 2016.

GUEDES, R.S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRUNO, R. D. L. A.; BRAGA JÚNIOR, J. M.; MEDEIROS, M. S. Germinação de sementes de *Cereus jamacaru* DC.

em diferentes substratos e temperaturas. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 31, n. 2, p. 159-164, 2009.

GUERGOLETT, K. B.; COSTABILE, A.; FLORES, G.; GARCIA, S.; GIBSON, G.R. *In vitro* fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. **Food Chemistry**, v.196, p. 251-258, 2016.

HERIGSTAD, B.; HAMILTON, M.; HEERSINK J. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. **Journal of microbiological methods**, v. 44, n. 2, p. 121-129, 2001.

IAL. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. São Paulo: IAL, 2008.

ISRAEL, K. S; MURTHY, C.; HOSAMANI, B. P. D. R. Value addition of tamarindo products in Karnataka. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 6, p. 726-730, 2019.

HERNÁNDEZ-URBIOLA, M. I.; PÉREZ-TORRERO, E.; RODRÍGUEZ-GARCÍA, M. E. Chemical analysis of nutritional content of prickly pads (*Opuntia ficus-indica*) at varied age sin an organic harvest. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 8, p. 1287–1295, 2011.

HODGKINSON, A. J.; WALLACE, O. A. M.; BOGGS, I.; BROADHURST, M.; PROSSER, C. G. Gastric digestion of cow and goat milk: Impact of infant and young child *in vitro* digestion conditions. **Food Chemistry**, v. 245, p. 275-281, 2018.

HORWITZ, W; LATIMER J. R; GEORGE, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC. 2005.

HUEBNER, J.; WEHLING, R. L.; HUTKINS, R. W. Functional activity of comercial prebiotic. **International Dairy Journal**, n. 17, p. 770-775, 2007.

JACOB, M. C. M.; ARAÚJO M. M. F.; ALBUQUERQUE, U. P. Biodiverse food plants in the semiarid region of Brazil have unknown potential: A systematic review. **PloS one**, v. 15, n. 5, p. e0230936, 2020.

JAKUBCZYK, E.; KOSIKOWSKA, M. Nowa generacja mlecznych produktów fermentowanych z udziałem probiotyków i prebiotyków, produkty synbiotyczne. **Przegląd Mleczarski**, v. 12, p. 397, 2000.

JAMES, A.; WANG, Y. Characterization, health benefits and applications of fruits and vegetable probiotics. **CyTA-Journal of Food**, v. 17, n. 1, p. 770-780, 2019.

JARADAT, N. A.; DAMIRI, B.; ABUALHASAN, M. N. Antioxidant evaluation for *Urtica urens*, *Rumex cyprius* and *Borago officinalis* edible wild plants in Palestine. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n. 1, p. 325-330, 2016.

KANDYLIS, P.; PISSARIDI, K.; BEKATOROU, A.; KANELLAKE, M.; KOUTINAS, A.A. Dairy and non-dairy probiotic beverages. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 58-63, 2016.

KANG, C. H.; HAN, S. H.; KIM, J. S.; KIM, Y.; JEONG, Y.; PARK, H. M.; PAEK, N. S. Inhibition of nitric oxide production, oxidative stress prevention, and probiotic activity of lactic acid bacteria isolated from the human vagina and fermented food. **Microorganisms**, v. 7, p. 109, 2019.

KERRY, R. G.; PATRA, J. K.; GOUDA, S.; PARK, Y.; SHIN, H. S.; DAS, G. Benefaction of probiotics for human health: A review. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, n. 3, p. 927-939, 2018.

KINUPP, V. **Como o conceito PANC nasceu**. Fio Cruz. Brasília. 2018.

KLEIN, G.; PACK, A.; BONAPARTE, C.; REUTER, G. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 103-125, 1998.

KOUR, S.; BAKSHI, P.; SHARMA, A.; WALI, V. K.; JASROTIA, A.; KUMARI, S. Strategies on conservation, improvement and utilization of underutilized fruit crops. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 3, p. 638-650, 2018.

KSURVESWARAN, S.; CAI, Y. Z.; CORKE, H.; SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 938-953, 2007.

KUMAR, H.; YADAV, D.; KUMAR, N.; SETH, R.; GOYAL, A. K. KUMAR, H.; YADAV, D.; KUMAR, N.; SETH, R.; GOYAL, A. K. Nutritional and nutraceutical properties of goat milk-a review. **Indian Journal Dairy Science**, v. 69, p. 513-518, 2016.

LEAL, M. L.; ALVES, R.P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of ethnobiology and ethnomedicine**, v. 14, n. 6, p. 2-9, 2018.

LEAN, M. E. Principles of human nutrition. **Medicine**, v. 47, n. 3, p. 140-144, 2019.

LEBEER, S.; BRON, P. A.; MARCO, M. L.; VAN, P. J. P.; MOTHERWAY, M. O. C.; HILL, C.; KLAENHAMMER. Identification of probiotic effector molecules: present state and future perspectives. **Current opinion in biotechnology**, v. 49, p. 217-223, 2018.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: Growth promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, p. 747-748, 1965.

LIMA, K. G. C.; KRUGER, M. C.; BEHRENS, J.; DESTRO, M. T.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of

Lactobacillus delbrueckii subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophiles*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 491–495, 2009.

LIMA, R. S.; FERREIRA, S. R. S.; VITALI, L.; BLOCK, J. M. May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? **Food Research International**, v. 115, p. 451-459, 2019.

LINA, A.; ELOISA, L. How do young cacti (seeds and seedlings) from tropical xeric environments cope with extended drought periods? **Journal of Arid Environments**, v. 154, p. 1-7, 2018.

LIU, M.; LI, X. Q.; WEBER, C.; LEE, C. Y.; BROWN, J.; LIU, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 50, 2926–2930, 2002.

LUCENA, C. M.; LUCENA, R. F. P.; COSTA, G. M.; CARVALHO, T. K. N.; SILVA COSTA, G. G.; NÓBREGA A. R. R.; NUNES, E. N. Use and knowledge of *Cactaceae* in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 9, n. 1, p. 62, 2013.

LYRA, M. C. C.; SANTOS, D. C.; MONDRAGON-JACOBO, C.; SILVA, M. L. R. B.; MERGULHÃO, A. C. E. S.; MARTÍNEZ-ROMERO. Isolation and molecular characterization of endophytic bacteria associated with the culture of forage cactus (*Opuntia* spp.). **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 1, p. 11-16, 2013.

MACHADO, A. D. G., PACHECO, M. T. B., QUEIROGA, R. C. R. E., CAVALCANTE, L. M., BEZERRIL, F. F.; ORMENESE, R. C. S. C.; GARCIA, A. O.; NABESHIMA, E. H.; PINTADO, M. A. E.; OLIVEIRA, M. E. G. Nutritional, physicochemical and sensorial acceptance of functional cookies enriched with xiquexique (*Pilosocereus gounellei*) flour. **PloS one**, v. 16, n. 8, p. e0255287, 2021.

MACHADO, T. A. D. G.; OLIVEIRA, M. E. G.; CAMPOS, M. I. F.; ASSIS, P. O. A.; SOUZA, E. L.; MADRUGA, M. S.; EGYPTO, R. D. C. R. Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. **LWT-Food Science and Technology**, v. 80, p. 221-229, 2017.

MARTINS, I. B. A.; DELIZA, R.; SANTOS, K. M. O.; WALTER, E. H. M.; MARTINS, J. M.; ROSENTHAL, A. Viability of probiotics in goat cheese during storage and under simulated gastrointestinal conditions. **Food and bioprocess technology**, v. 11, n. 4, p. 853-863, 2018.

MAZON, S.; MENIN, D.; CELLA, B. M.; LISE, C. C.; VARGAS, T.D.O.; DALTOÉ, M. L. M. Exploring consumers' knowledge and perceptions of unconventional food plants: case study of addition of *Pereskia aculeata* Miller to ice cream. **Food Science and Technology**, p. 215-221, 2019.

MEIADO, M. V.; ALBUQUERQUE, L. S. C.; ROCHA, E. A.; ROJAS-ARÉCHIGA, M.; LEAL, I. R. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (*Cactaceae*) to environmental factors. **Plant Species Biology**, v. 25, n. 2, p. 120-128, 2010.

MENEZES, A. P. P.; TREVISAN, S. C. C.; BARBALHO, S. M.; GUIGUER, E. L. *Tamarindus indica* L. A plant with multiple medicinal purposes. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 5, n. 3, p. 50, 2016.

MILAN, A. M.; HODGKINSON, A.J.; MITCHELL, S.M.; PRODHAN, U.K.; PROSSER, C.G.; CARPENTER, E.A.; CAMERON-SMITH, D. Digestive Responses to Fortified Cow or Goat Dairy Drinks: A Randomised Controlled Trial. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1492, 2018.

MONTEIRO, S. A.; BARBOSA, M. M.; SILVA, F. F. M. D; BEZERRA, R. F.; MAIA, K. S. Preparation, phytochemical and bromatological evaluation of flour obtained from the acerola (*Malpighia punicifolia*) agroindustrial residue with potential use as fiber source. **LWT- Food Science and Technology**, v. 134, 2020.

MOREIRA, I. D. S.; SILVA, L. D. M.; CASTRO, D. S. LIMA, J. P.; SOUSA, F. C.; ALMEIDA, F. D. A. C.; SILVA, S. C. M. D. P. Fruit of mandacaru: kinetics of drying and physical-chemical characterization. **Journal of Agricultural Science (Toronto)**, v. 10, n. 11, p. 461-470, 2018.

MUSTAFA, S. M.; CHUA, L. S.; EL-ENSHASY, H. A.; ABD, M. F. A.; HANAPI, S. Z.; ABDUL, M. Effect of Temperature and pH on the Probiotication of Punica granatum Juice using *Lactobacillus* Species. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 4, p. e12805, 2019.

NERI-NUMA, I. A.; ARRUDA, H. S.; GERALDI, M. V.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. Natural prebiotic carbohydrates, carotenoids and flavonoids as ingredients in food systems. **Current Opinion in Food Science**, v. 33, p. 98-107, 2020.

NIDAL, J.; EID AHMAD, M.; MOHYEDDIN, A.; NASER, Z. A. Variations of Exhaustive Extraction Yields and Methods of Preparations for (*Arum palaestinum*) Solomon's Lily Plant in all Regions of West Bank/Palestine. **International Journal Of Pharmacognosy**, v. 7, n. 2, p. 356-360, 2015.

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

OH, Y. S.; JUN, H. S. Role of Bioactive Food Components in Diabetes Prevention: Effects on Beta-Cell Function and Preservation. **Nutrition and metabolic insights**, v. 7, p. 51-59, 2014.

OLIVEIRA, A. D. S.; FIGUEIRÊDO, R. M.; QUEIROZ, A. J. D. M.; BRITO, J. G. D. Estabilidade da polpa do *Cereus jamacaru* em pó durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 2, p. 147-153, 2015.

OLIVEIRA, M. E. G.; GARCIA, E. F.; QUEIROGA, R. D. C. R. D. E.; SOUZA, E. L. D. Technological, physicochemical and sensory characteristics of a Brazilian semi-hard goat cheese (coalho) with added probiotic lactic acid bacteria. **Scientia Agricola**, v. 69, n. 6, p. 370-379, 2012.

OLIVEIRA, H. A. B. D.; ANUNCIACÃO, P. C.; SILVA, B. P. D.; SOUZA, Â. M. N. D.; PINHEIRO, S. S.; LUCIA, C. M. D.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Nutritional value of non-conventional vegetables prepared by family farmers in rural communities. **Ciência Rural**, v. 49, n. 8, p. 1-10, 2019.

OSORIO, V. A.; MURIEL, S. B.; TORRES, J. M. C. Morphoagronomic characterization of *Tamarindus indica* L. in orchards of tropical dry forest from Antioquia (Colombia). **Biodiversity International Journal**, v. 2, n. 5, p. 396-403, 2018.

PADILHA, C. V. S.; MISKINIS, G. A.; SOUZA, M. E. A. O.; PEREIRA, G. E.; OLIVEIRA, D.; BORDIGNON-LUIZ, M. T.; LIMA, M. S. Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. **Food Chemistry**, v. 228, p. 106-115, 2017.

PANGHAL, A.; JANGHU, S.; VIRKAR, K.; GAT, Y.; KUMAR, V.; CHHIKARA, N. Potential non-dairy probiotic products - A healthy approach. **Food Bioscience**, v. 21, p. 80-89, 2018.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of the antibiotics story. **Animal Nutrition and Health**, p. 4-8, 1974.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. D. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 29, n. 1, p. 19-24, 2013.

PIMENTEL, T. C.; BRANDÃO, L. R.; DE OLIVEIRA, M. P.; DA COSTA, W. K. A.; MAGNANI, M. Health benefits and technological effects of *Lacticaseibacillus casei*-01: An overview of the scientific literature. **Trends in Food Science & Technology**, v. 114, p. 722-737, 2021.

PROSKY, L.; ASP, N. G.; SCHWEIZER, T. F.; DEVRIES, J. W.; FURDA, I. Determination of insoluble and soluble dietary fibers in foods and food products. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 75, n. 2, p. 360-367, 1992.

PUEBLA-BARRAGAN, S.; REID, G. Forty-five-year evolution of probiotic therapy. **Microbial Cell**, v. 6, n. 4, p. 184, 2019.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 396-402, 2000.

REES, A.; DODD, G. F.; SPENCER, J. P. The effects of flavonoids on cardiovascular health: a review of human intervention trials and implications for cerebrovascular function. **Nutrients**, v. 10, n. 12, p. 1852-, 2018.

RIBEIRO, T. S.; SAMPAIO, K. B.; MENEZES, F. N. D. D.; ASSIS, P. O. A.; SANTOS, L. M.; OLIVEIRA, M. E. G.; EGYPTO, R. D. C. R. *In vitro* evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. **3 Biotech**, v. 10, n. 10, p. 1-9, 2020.

RIENER, C.; WILLINGHAM, D. The myth of learning styles. *Change: The magazine of higher learning*. **Change: The magazine of higher learning**, v. 42, n. 5, p. 32-35, 2010.

ROCHA, E. A.; AGRA, M. D. F. Flora of the Pico do Jabre, Paraíba, Brazil: *Cactaceae* juss. **Acta botanica brasílica**, v. 16, n. 1, p. 15-21, 2002.

SAAD, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 1, p. 1-16, 2006.

SAARELA, M.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; MÄTTÖ, J.; MATTILA-SANDHOLM, T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, 2000.

SÁNCHEZ-ZAPATA, E.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; SOARES, J.; SOUSA, S.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. M. E. *In vitro* evaluation of “horchata” co-products as carbono source for probiotic bacteria growth. **Food and Bioproducts Processing**, n. 91, p. 279–286, 2013.

SANTOS NETO, J. P.; SILVA, V. D. N.; SILVA, P. A.; SANTOS, Y. M. P.; MONTEIRO, P. H. S.; SILVA, L. A. S. G. Características físico-químicas do fruto do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) cultivado no sertão alagoano. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, v. 4, n. 1, p. 7141, 2019.

SANTOS, N. C.; ALMEIDA, R. L. J.; SILVA, L. R. I.; SANTOS, P. T.; ALCÂNTARA, S. V. M.; SILVA, E. R.; ALCÂNTARA, R. V. H. Pasteurization of pulp and peel of mandacaru fruit (*Cereus jamacaru*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 7, p. e403974027-e403974027, 2020.

SARAO, L. K.; ARORA, M. Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 2, p. 344-371, 2017.

SCHEINVAR, L. Cactáceas. **Flora Ilustrada Catarinense**, Itajaí: R. Reitz, v. 18, 1985.

SCOTT, K. P.; GRIMALDI, R.; CUNNINGHAM, M.; SARBINI, S. R.; WIJESEKERA, A.; TANG, M. L.; GIBSON, G. R. Developments in understanding and applying prebiotics in. **research and practice an ISAPP conference paper**, v. 128, p. 934-949, 2019.

SHARMA, A.; KAUR, J.; LEE, S.; PARK, Y. S. Tracking of Intentionally Inoculated Lactic Acid Bacteria Strains in Yogurt and Probiotic Powder. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 5, 2020.

SIGMASTAT (programa de computador). (2006). Versão 3.5. Point Richmond (Califórnia): Comercial.

SILVA, A. P. G.; SOUZA, C. C. E.; RIBEIRO, J. E. S.; SANTOS, M. C. G.; PONTES, A. L. D. S.; MADRUGA, M. S. Physical, chemical and bromatological characteristics of the giant forage cactus (*Opuntia ficus-indica*) and small forage cactus (*Nopalea cochenillifera*) from Paraíba state (Brazil). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 9, p. 1810-1820, 2015.

SILVA, F. A.; OLIVEIRA, M. E. G.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; SAMPAIO, K. B.; SOUZA, E. L.; OLIVEIRA, C. E. V.; EGYPTO, R. D. C. R. The effect of Isabel grape addition on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic goat milk yogurt. **Food & function**, v. 8, n. 6, p. 2121-2132, 2017.

SILVA, J. F.; MIRANDA, R. F.; COSTA, H. R. D.; LIMA, C. M. G.; VERRUCK, S.; BARBOSA, E. A.; CARDOSO, D. C. Bilayer goat's milk yogurt with tamarind (*Tamarindus indica* L.) and wild passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast) jam: Characterization and acceptability. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e46996139-e46996139, 2020.

SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M. GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, n. 1, p. 398–404, 2014.

SILVA, L. R.; ALVES, R. E. Avaliação da composição físico-química de frutos de mandacaru (*Cereus jamacaru* P.). **Acta Agronômica**, v. 58, n. 4, p. 245-250, 2009.

SOCHA, P.; STOLARCZYK, A.; SOCHA, J. Wpływ probiotyków i prebiotyków na gospodarkę lipidową. **Pediatrica Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka**, v. 4, n. 1, p. 85-88, 2002.

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

SULIEMAN, A. M. E.; ALAWAD, S. M.; OSMAN, M. A.; ABDELMAGEED, E. A. Physicochemical characteristics of local varieties of tamarind (*Tamarindus indica* L), Sudan. **International Journal of Plant Research**, v. 5, n. 1, p. 13-18, 2015.

TOMASIK, P.; TOMASIK, P. Probiotics, Non-Dairy Prebiotics and Postbiotics in Nutrition. **Applied Sciences**, v. 10, n. 4, p. 1470, 2020.

VATTA, A. F.; KANDU-LELO, C.; ADEMOLA, I. O.; ELOFF, J. N. Direct anthelmintic effects of *Cereus jamacaru* (*Cactaceae*) on trichostrongylid nematodes of sheep: in vivo studies. **Veterinary parasitology**, v. 180, n. 3-4, p. 279-286, 2011.

VERBEKE, K.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the

definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 8, p. 491, 2017.

WALIA, A.; GUPTA, A. K.; SHARMA, V. Role of Bioactive Compounds in Human Health. **Acta Scientific Medical Sciences**, v. 3, n. 9, p. 25-33, 2019.

YADAV, A. K.; SINGH, J.; YADAV, S. K. Composition, nutritional and therapeutic values of goat milk: A review. **Asian Journal of Dairy and Food Research**, v. 35, n. 2, p. 96-102, 2016.

YAMATOYA, K.; TABUCHI, A.; SUZUKI, Y.; YAMADA, H. Tamarind seed polysaccharide: Unique profile of properties and applications. **Biopolymer-Based Formulations**, p. 445-461, 2020.

ZAMAN, M. K.; CHIN, K. F.; RAI, V.; MAJID, H. A. Fiber and prebiotic supplementation in enteral nutrition: a systematic review and meta-analysis. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 21, n. 17, p. 5372, 2015.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, n. 4, p. 555 – 559, 1999.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta tese estão apresentados na forma de três artigos originais, submetidos à periódicos classificados com Qualis A1, na área de Ciência de Alimentos, com base na classificação de periódicos no quadriênio 2013 – 2016.

4.1 Artigo 1 – Physical, nutritional, and bioactive properties of Mandacaru cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.): an unconventional food plant from the semi-arid Brazilian northeast.

4.2 Artigo 2 – Potenciais propriedades prebióticas da farinha do cladódio do mandacaru (*Cereus jacamaru* DC.), uma planta comestível não convencional do bioma Caatinga.

4.3 Artigo 3 – Goat yogurt supplemented with tamarind jelly and mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) cladode flour: Technological, nutritional, microbiological, and antioxidant effects.

ARTIGO 1

Physical, nutritional, and bioactive properties of *Mandacaru* cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.): an unconventional food plant from the semi-arid Brazilian northeast

Abstract

In this study we evaluated the physical, nutritional, and bioactive properties of *mandacaru* cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.). After processing the mandacaru cladode, the resulting flour (MF) was submitted to microbiological evaluation and characterized in terms of its physical, nutritional, and antioxidant properties. The microbiological analyses confirmed the absence of pathogenic alterations or contamination. The granulometric profile revealed particles with non-uniform geometry, flaky, a rectangular tendency, and a non-homogeneous surface, with particle sizes ranging from 20-60 μm . The MF presented low water activity (0.423 g/100 g) and moisture content (8.24 g/100 g), ash (2.82 g/100 g), protein (5.18 g/100 g) and total carbohydrates of (74.48 g/100 g), lipid contents (1.88 g/100 g). The matrix is source of insoluble dietary fiber (48.08 g/100 g) and minerals; especially calcium (76.33 %), magnesium (15.21 %), and potassium (5.94 %). Using HPLC chromatography, glucose was identified as the predominant sugar (1.33 g/100 g), followed by four organic acids, especially malic acid (9.41 g/100 g), and citric acid (3.96 g/100 g). Eighteen phenolic compounds were detected, with kaempferol (99.40 mg/100 g), myricetin (72.30 mg/100 g) and resveratrol (17.84 mg/100 g). The total phenolic compounds and flavonoids were respectively 1285.47 mg EGA/100 g, and 15.19 mg EC/100 g. The mean *in vitro* antioxidant activity values were higher using the FRAP method (249.45 μmol Trolox TEAC/100 g), as compared to the ABTS method (0.39 μmol Trolox TEAC/g). Finally, the ascorbic acid content presented a concentration of 35.22 mg/100. The mandacaru cladode proved to be a matrix capable of preserving important nutrients, being considered bioactive with potential antioxidants. Mandacaru flour (MF) presents potential as an alternative ingredient for application in food products processing.

Keywords: *Cactaceae*, drying, nutritional composition, bioactive compounds, Unconventional food plants.

1. Introduction

Consumer demand for foods with a balanced nutritional composition, and capable of providing not only basic nutrition, but also additional health benefits, has incentivized the food industry to develop new sustainable and functional food products (Chance et al., 2018; Díaz et al., 2020; Vinusha et al., 2018).

Foods classified as sustainable, due to their nutritive and bioactive components, can also boost the economy and improve consumer health, all while mitigating the

environment damage commonly caused by traditional monoculture (Conti et al., 2021; Thamagasorn & Pharino, 2019). From the perspective of agroecology, given climatic change and the environmental challenges faced by the planet, the food industry impetus to incorporate alternative ingredients in its products has only increased (Machado et al., 2021). Incorporating alternative ingredients into food products is a promising strategy to meet consumer demand for nutritious, and sustainable agroecological foods (Monteiro et al., 2016). In this context, the family cactaceae presents various Non-Conventional Food Plants (NCFP) which arouse great interest in the scientific community, this due to their nutritional and bioactive ingredients (Araújo et al., 2021; Bezerril et al., 2021).

Cactaceae, found in the caatinga biome, is a botanical family of shrubs, trees, herbs, lianas, and subshrubs. It presents approximately 142 genera and 1400 species found throughout Canada, the USA, Mexico, and Central and South America (Barthlott & Hunt, 1993; Carvalho et al., 2019; Guerrero et al., 2019). In the Brazilian semi-arid region, cacti contribute to the sustainability of the biome as alternative forage and food sources for animals in times of drought (Schulz et al., 2019). *Cereus jacamaru* DC., or Mandacaru cactus is resistant to drought, and presents an excellent composition of carbohydrates, soluble and insoluble fibers, vitamins, and antioxidants to provide a matrix with excellent functional properties (Soares et al., 2021). Although it has expressive nutritional and functional potential, it is little used in human consumption. Its properties as a food matrix are little known, making commercialization and use difficult (Bezzeril et al., 2021).

In natura, cacti are highly perishable, and require the use of varied technologies to increase shelf life, such as dehydration (Monteiro et al., 2021), with the production of flours, whose stability is achieved through reducing water activity and consequently microbial multiplication (Akharume et al., 2018). In food products, replacing wheat flour with alternatives flours is of paramount importance, and cactus flour can bring interesting compositions. This, from a broader agroecological perspective (Machado et al., 2021), yet also in view of both climate change and other environmental challenges faced by the planet (Destaw & Fenta, 2021).

The technological, nutritional, and bioactive potential of using cactus flour in new food products such as cookies (Bouazizi et al., 2020; Dick et al., 2020; Machado et al., 2021) and cakes (Chahdoura et al., 2018), has already been demonstrated. However, there are no studies characterizing Mandacaru cladode flour, demonstrating its potential in the elaboration of other food products.

In this study we elaborated and evaluated the physical, nutritional, and bioactive properties of mandacaru cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.), a potential alternative ingredient in food processing.

2 Material and methods

2.1 Sample collection and preparation of mandacaru cladode flour (MF)

Mandacaru cladodes (*Cereus jamacaru* DC.) were collected in the city of Cuité, Paraíba State, Brazil [6°29'46.0"S 36°09'34.7"W], on three non-consecutive days in October 2020. This yielded three different batches weighing 4 kg each. The cladodes were selected considering their physical integrity, and then transported in polystyrene boxes at a temperature of 5 ± 1.0 °C. Table 1 presents the physical-chemical composition of *mandacaru* cladode *in natura*, the methodologies used were the same as those described later for *mandacaru* cladode flour (MF). The botanical material was registered with the National System for Management of genetic heritage and Associated Traditional Knowledge (SISGEN) under number A1FECD5.

The MF was prepared in accordance with the method described by Machado et al. (2021), with modifications. Initially, the cladodes were sanitized with running water and sodium hypochlorite (100 ppm); they were then cut into slices approximately 1 cm thick using a sterilized stainless-steel knife. The cladode slices were then dehydrated in an oven with forced air circulation (Quimis, Q314M, São Paulo, Brazil) at a temperature of 55 ± 1 °C, moisture content, taking approximately 26 h. After drying, the *mandacaru* cladode was ground in a knife mill (Willey, Solab, Piracicaba, São Paulo, Brazil) and screened with a 230-mesh sieve on a sieve shaker (Bertel®, Caieiras, São Paulo, Brazil), resulting in MF, at a final yield of 5% (compared to the cladode *in natura*). This was vacuum sealed in sterile polyethylene bags (approximately 100 g per bag), and wrapped in aluminum foil and frozen (-20 ± 1 °C) until analysis.

2.2 MF Quality Control

To evaluate the hygienic-sanitary conditions of the processed flour, the methodology recommended by the *American Public Health Association* (APHA, 2016), was used to determine the Most Likely Number (MLN) of total coliforms (MLN/g), and of thermotolerant coliforms (MLN/g). Molds, yeast, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus* coagulase positive, and aerobic and mesophilic bacteria, were expressed in Colony

Forming Units per g (CFU/g); and detection of *Salmonella* sp. was expressed as absent or present.

2.3 Physical-chemical characterization of MF

The MF morphology was evaluated in accordance with the methodology described by Brito et al. (2020). For this, a nanometric layer (40–50 nm) of gold was deposited on the sample, using a metallizer (Quorum SC7620, Madrid, Spain) (20–1000 µm). Images at differing magnifications (100x-4000x) were obtained through Scanning Electron Microscopy (SEM) (TESCAN MIRA3, Brno, Czech Republic), and particle sizes were measured.

For physicochemical characteristics: water activity at 25 °C was determined by direct reading in an Aqualab equipment (Meter®, AquaLab Series 4TEV, São José dos Campos, São Paulo, Brazil); moisture content was determined by drying in a stabilized oven at 105 °C until a constant mass was obtained; ash content (fixed mineral residue – FMR) was quantified by carbonization followed by incineration in a muffle furnace (Jung®, model 0612, Blumenau, São Paulo, Brazil) stabilized at 550 °C; proteins were quantified using the Micro-Kjeldahl method; total carbohydrates were determined using the Fehling reduction method (AOAC, 2019); and fat was quantified using the Folch et al. method (1957). Total insoluble and soluble fiber contents were determined using an enzymatic-gravimetric method (Prosky et al., 1995; AOAC, 2019).

Minerals were quantified in MF, in accordance with the methodology described by Etienne et al. (2017), with modifications. An energy dispersive spectrometer (EDS) (OXFORD, England, London), coupled to a scanning electron microscope (SEM) (TESCAN MIRA3, Brno, Czech Republic), was operated at high vacuum pressures. The operational conditions used for the EDS analysis were: Zoom (1000x), working distance (15 mm), and acceleration voltage (15 Kv). The composition was explored, and the data transferred to MS Word and Excel software, and expressed in percentages.

To determine sugar (glucose, fructose, maltose, and rhamnose) and organic acid (citric, lactic, malic, succinic, formic, acetic, butyric, and propionic) contents, MF aqueous extract was prepared. Thus, 2 g of sample were homogenized with 10 mL of ultrapurified water (Milli-Q® Integral Water Purification System, EMD Millipore, Billerica, MA, USA) for 10 min in a Turratrec crusher/homogenizer (TE-102-Tecnal®, Piracicaba, São Paulo, Brazil). The suspension was then centrifuged (4000 $\times$ g, 15 min,

at 4 °C), and the supernatant was filtered through a 0.45 µm filter (Millex Millipore, Barueri, SP, Brazil).

Subsequently, the extract was injected into a high-performance liquid chromatographic (HPLC) system, with a 1260 Infinity LC system (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) equipped with a quaternary solvent pump (model G1311C), degasser, thermostat column compartment (model G1316A), and auto-sampler (model G1329B) coupled with a Diode Array Detector (DAD) (model G1315D), and a Refractive Index Detector (RID) (model G1362A). During analysis, the Agilent column Hi-Plex H (300 x 7.7 mm) with a particle size of 8.0 µm and PL Hi-Plex H guard column (5 x 3 mm) (Agilent Technologies) was kept at 50 °C, the injection volume was 10 µL, the flow rate was 0.5 mL /min, the mobile phase H₂ SO₄ at 4.0 mM in ultrapure water, ran for 20 min. The data obtained were processed using OpenLAB CDS ChemStation EditionTM (Agilent Technologies). The peaks and average peak areas were used to quantify the HPLC samples, comparing their retention times with organic acid and sugar standards (Coelho et al., 2018; Padilha et al., 2017; Batista et al., 2018; Lima et al., 2019). The results were expressed as g per 100 g of sample (g/100 g).

2.4 Antioxidant properties of MF

Evaluation of antioxidant properties was based on determination of ascorbic acid, total phenolic compounds, total flavonoids, phenolic compounds profile, and antioxidant activity, in accordance with the methodologies described next.

The ascorbic acid content was determined in accordance with Tillman's method, using a 2,6-dichlorophenol-indophenol sodium dye solution. The total ascorbic acid content was expressed in mg per 100 g of the sample (mg/100 g) (AOAC, 2019).

For the determination of total phenolics and total flavonoids, extracts were initially obtained. Thus, 2 g of MF was homogenized with 80% methanol solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MA, USA) for 10 min in a Turrax apparatus (Tecnal), and kept at rest for 24 h and then filtered with 125 mm filter paper (Whatman[®], GE Healthcare, Chicago, IL, USA). Determination of total phenolic content was performed in accordance with the *Folin-Ciocalteu* method (Liu et al., 2002). Absorbance was measured at 765 nm with a spectrophotometer (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brazil). The total phenolic content was determined with a standard curve prepared with gallic acid (Sigma-Aldrich). Results were expressed as milligrams of gallic acid equivalent (EGA) per hundred grams of sample (mg EGA/100 g).

The total flavonoid content was determined in accordance with the method proposed by Zhishen et al. (1999). The absorbance of the sample was measured at 510 nm in a spectrophotometer (BEL Photonics) against a blank in the absence of extracts. The total flavonoid content was determined using a standard curve of catechin equivalents (Sigma-Aldrich) (CE). Results were expressed as catechin equivalents (CE) per 100 g of sample (mg CE/100 g).

For the phenolic profile, an extract of the sample was initially obtained from 5 g of MF homogenized in 5 mL of 80% methanol (Sigma-Aldrich), this was centrifuged for 15 min ($9000 \times g$, 4 °C) and filtered through a polypropylene filter with 0.45 μm membranes (Millex Millipore). Individual phenolic compounds were determined with high performance liquid chromatography (HPLC), with gradient and runtime adaptations to quantify differing phenolic classes; using an Agilent 1260 Infinity System LC liquid chromatograph (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) coupled to a diode array detector (DAD)) (G1315D). The column was a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 $\times$ 4.6 mm, 3.5 μm), the pre-column was a Zorbax C18 (12.6 $\times$ 4.6 mm, 5 μm) (Agilent). Oven temperature was 35 °C, and the injection volume was 20 μL (phase A diluted), filtered with a 0.45 μm -filter (Millex Millipore). Solvent flow was 0.8 mL/min; the new gradient used in separation was zero to 5 min: 5% B; 5-14 min: 23% B; 14–30 min: 50% B; 30–33 min: 80% B, where solvent A was a solution of phosphoric acid (0.1 M, pH = 2.0) and solvent B was acidified methanol with 0.5% H_3PO_4 . Data were processed with OpenLAB CDS ChemStation Edition software (Agilent Technologies). Detection of phenolics was done at 220, 280, 320, 360, and 520 nm. Identification and quantification were done by comparison with external standards (Sigma-Aldrich). Results were expressed as mg of phenolic for 100 g of sample (mg/100 g) (Padilha et al., 2017).

To determine antioxidant activity, the extract was initially prepared, in which 2 g of the MF sample were homogenized with 10 mL of 80% methanol (Sigma-Aldrich) for 10 min in a Turrax apparatus (Tecnal), and kept at rest for 24 h, being then filtered through a 125 mm filter (Whatman®). The ability of the extracts to reduce iron was measured using the FRAP method as described by Benzie and Strain (1996), as adapted by Pulido et al. (2000). The ability of the MF extract to capture the ABTS $^{\bullet+}$ (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) cation was measured using the ABTS method as previously described (Sariburun et al., 2010). The FRAP antioxidant activity results were expressed in micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per 100 grams of sample ($\mu\text{mol TEAC}/100 \text{ g}$). The ABTS results for antioxidant activity

were expressed in micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per gram of sample ($\mu\text{mol TEAC/g}$).

2.5 Statistical analysis

All assays were performed in triplicate, in two different experiments, and the results expressed as mean $\pm$ standard deviation.

3 Results and discussion

3.1 MF quality control

The MF microbiological analysis results revealed that the samples were not contaminated, indicating that the drying process provided a stable material, meeting the requirements for flours, according to Brazilian legislation (Brazil, 2019), being acceptable for consumption and/or use in food processing.

3.2 Physicochemical and Technological characterization of MF

The MF morphology, shown in Figure 1, evidences the existence of particles with a non-uniform scaly geometry, a rectangular tendency, and a non-homogeneous surface appearance, characteristics similar to oat flour as analyzed by Canalis et al. (2019). Such aspects can be modified by the grinding process, as well as by the size of the sieve mesh, to change the quality of the flour (Bressiani et al., 2019; Ma et al., 2020). In our study, we chose to use a sieve with a mesh size of 230, in order to leave the flour with a more pulverized appearance, and to resemble more refined flours such as wheat. Similar results were seen by Saad et al. (2021), working with cucumber pomace flour in wheat flour-based pastas. The authors mentioned also used a sieve with a mesh of 230 and obtained positive results.

The size of the flour particles depends on the raw material, processing used, mill or processor, and mesh diameter of the sieves (Sakhare et al., 2014). It affects the physicochemical composition (fibers, proteins, and starch contents), nutritional quality, sensory acceptability, and shelf life of the processed product (Brito et al., 2020; Gómez et al., 2020). In this study, a 230-mesh sieve was used, limiting the passage through the mesh of larger MF particles and providing smaller particles ranging from 20-56.22 μm (Figure 2). Due to their ability to absorb water, smaller flour particles are generally used by the food industry, replacing fat and acting as stabilizers, and biodegradable films, in

addition to improving the viscosity, gelatinization, and cohesion of the dough (Cui & Zhu, 2020; Belorio et al., 2019; Sarker et al., 2012). In addition, smaller particles, such as those observed in MF, affect thermo-mechanical properties and influence the functionality (Bressiani et al., 2019). The physicochemical composition, dietary fiber content, and mineral profile of MF are shown in Table 2.

Technological processes, such as drying/dehydration, are used in the preparation of flours, generating a decrease in water activity (a_w) and moisture content, bringing benefits such as improved stability and easier transport, and minimizing greater losses in perishable foods (Ray et al., 2016). In this study, we verified that there was an expected reduction of a_w and moisture in MF when compared to the cladode of *mandacaru in natura* (respectively from 0.937 to 0.423 and 13.20 to 8.24 g/100 g) (Tables 1 and 2). Values of a_w lower than 0.7 contribute to inhibition of microbial multiplication (Bourdoux et al., 2016), makes this a matrix with good stability, safe microbiologically, and with low risk of physicochemical change (Dick et al., 2020; Selani et al., 2014). This corroborates with our findings, since no microbiological contamination was detected in the MF. In a previous study by Boukid et al. (2015), with *Opuntia ficus indica f. inermis* powder, the authors found results for a_w of 0.36, a value close to that detected in the present study with mandacaru flour.

Moisture content in carob, peanut, rye, corn, and cassava flours approximates 14 g/100 g (Brazil, 1978). Low moisture content, such as that found in MF, can affect crude protein and fat content (with increased concentration), preventing microbial growth and insect infestation, and directly impact shelf life, avoiding short-term deterioration of food products (Nabil et al., 2020; Xiao et al., 2017). Moisture results close to those detected by us have been reported by Nabil et al. (2020) in *Opuntia ficus-indica* cladode flour, corresponding to 9.55 g/100 g.

Ash content is an important parameter when measuring the total mineral contents in a food matrix. It is also an indicator of quality in terms of nutritional labeling and in the processing properties of food products (Bilge et al., 2016). According to Marshall (2010), the ash content in flours (whole grains, cereals and vegetables) varies from 0.3 to 1.4 g/100 g. MF presented a high ash content (2.82 g/100 g), even higher than that reported by Petkova et al. (2017), for *Ceratonia siliqua* flour (2.25 g/100 g).

In this study, MF presented high carbohydrate (74.48 g/100 g) and protein (5.18 g/100 g) levels, with low amounts of lipids (1.88 g/100 g) (Table 2). According to Argel et al. (2020), legume flours such as lentils, chickpeas, peas, and beans, due to their high

concentrations of carbohydrates and proteins and low amounts of lipids, can be inserted into meat products, to partially reduce fats and improve health sustainably. MF could also be used for this purpose. The results determined for carbohydrates (74.84 g/100 g), proteins (5.12 g/100 g) and lipids (1.72 g/100 g) were like those found by Dick et al. (2020), for *Opuntia monacantha* cladode flour.

Cactus, due to its low-fat content, can be considered a sustainable alternative for elaboration of food industry products (Dick et al., 2020; Micale et al., 2017). Cactus flours, since they suffer less lipid oxidation in general, are an excellent alternative for dairy product supplements (Sartori et al., 2018). Further, cactus can improve the technological, nutritional, and sensory characteristics of breads (Parafati et al., 2020), cakes (Chahdoura et al., 2018) and biscuits (Machado et al., 2021).

Dietary fibers are composed of soluble fibers (a component of the cell wall), and insoluble non-cellulosic polysaccharides (Zhang et al., 2018). In this study, as expected, the drying process concentrated the MF fiber content, especially with insoluble fibers 48.08 g/100 g (Table 2). Insoluble fibers are beneficial to intestinal health, and lead to an increase in fecal volume and decreased intestinal transit, this favors lower blood cholesterol values, and prevention of cardiovascular disease and colon cancer (Deehan et al., 2017; Soliman, 2019). In addition to its beneficial health properties, the use of dietary fiber is important to technological processing, it reduces oxidative rancidity, and improves textural, nutritional, and sensory properties (Díaz-Vela et al., 2015; Sah et al., 2016).

Energy Dispersive Spectroscopy (EDS) analysis revealed that MF presents 8 minerals in its composition: sodium, magnesium, potassium, calcium, manganese, iron, copper, and zinc. Calcium was the principal mineral (76.33%), followed by magnesium (15.21%) and potassium (5.94%) (Table 2). Different results were determined by Dick et al. (2020), using optical emission spectrometry to evaluate the mineral profile of *Opuntia monacantha* cactus cladode flour. The authors found potassium as the most abundant mineral, followed by calcium and magnesium. These differences can be explained by the constitution of the different species evaluated, their growth conditions, cultivar, genetic factors, harvest period, soil composition, and geographic differences (Özcan & Al Juhaimi, 2011), as well as the analytical method used. Even so, in accordance with the aforementioned study, *mandacaru* cladode flour is considerably rich in these minerals, when compared to *Opuntia monacantha* flour.

Mineral micronutrients are essential and assist in important metabolic functions (Akram et al., 2020). The MF matrix may become of great nutritional and functional importance for consumers. Its richness in calcium might well (upon consumption) contribute to the process of bone mineralization (Díaz et al., 2020). Its richness in potassium can optimize cellular functions (Kulawiak et al., 2021), and the presence of magnesium in this flour can directly affect mitochondria and participate in the development of nerves and muscles (Liu et al., 2019).

3.3 Profile of MF sugars and organic acids

In HPLC analysis (Table 3), only glucose (1.33 g/100) was detected in MF, the other sugars were below the detection limit of the method. The glucose content detected suggests use of MF in low glycemic index diets, especially since *mandacaru* cladode flour is also rich in fiber and antioxidant compounds (Tables 2 and 4). These bioactive compounds present in MF have been associated with inhibition of glucose transporters in the body (Sanchez-Tapia et al., 2017), and restriction of carbohydrate digestion, through delayed gastric emptying and enzymatic activity (Qi et al., 2018). In general, our results corroborate with the literature, considering that the main sugars detected in cladodes are glucose and arabinose, and in mucilage arabinose and xylose (Figueroa-Pérez et al., 2016; Medina-Torres et al., 2000). It is noteworthy that this composition can be influenced by the growth and development of the plant.

In the chemical, food, cosmetic, pharmaceutical, and beverage industries, organic acids (due to their various functional properties), find diversified use in biotechnological processing (Alsaheb et al., 2015). These acids are responsible for sensory *flavor* aspects and antimicrobial activity in food matrices (Castro-Muñoz, 2019; Pham et al., 2022). In this study, citric, lactic, malic, succinic, and formic acids were detected in MF (Table 3). According to Stintzing et al. (2001), the predominant organic acids in forage cactus are: oxalic, malic, citric, malonic, succinic, tartaric and piscidic acids. The principal organic acids in MF were malic (9.41 g/100 g), and citric acid (3.96 g/100 g), corroborating (in part) with a study by Chbani et al. (2020), with cold pressed *Opuntia ficus-indica* cactus, that detected principally malic and quinic acids. Malic acid acts in ATP synthesis, mitochondrial respiration, and oxidative phosphorylation, to enable energy release processes (Ferreira et al., 2019). Citric acid acts as an important pH adjusting acidulate, in addition to being an important antioxidant, and is used by the food industry (Adeyi et

al., 2019). The aforementioned results reveal both the bioactive and technological potential of *mandacaru* flour.

3.4 Antioxidant potential of MF

In view of the important biological role that antioxidant compounds play in improving human health (Martins et al., 2016; Nabil et al., 2020), the discovery of alternative food sources is of great interest. The bioactivity of phenolic compounds (Dabulici et al., 2020), whether anti- or pro-oxidant (Vieira-Frez et al., 2020), reveals the need for profiling of these compounds in new food matrices, verifying their applicability in biotechnological and functional terms. Table 4 presents the MF phenolic profile, ascorbic acid content, total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity.

Eighteen phenolic compounds were detected in MF; with relevant amounts of the antioxidants kaempferol (99.40 mg/100 g), myricetin (72.30 mg/100 g), that act as important antioxidants (Ijaz et al., 2021; Torres-Villarreal et al., 2019), and resveratrol (17.84 mg/100 g), which presents anti-inflammatory activity (Coutinho et al., 2018). These findings suggest that MF may be used in human foods to bring benefits associated with diseases related to oxidative stress (cancer, cardiovascular, and neurological diseases), while reducing the risk of chronic diseases and aging (Del & Camarena, 2019; Elena et al., 2018; Jomová et al., 2019; Luna-Guevara et al., 2018).

As a dehydrated product, we verified an increase in ascorbic acid concentration of (35.22 mg/100 g) in MF (Table 4) compared to *mandacaru* cladode in natura (Table 1; 18.15 mg/100 g), this as compared to *mandacaru* cladode in natura (Table 1; 18.15 mg/100 g). Similar results were also observed by Du Toit et al. (2018), as ascorbic acid contents were lower in samples of fresh cultivars of *Opuntia ficus-indica* (14.29–28.00 mg/100 g) than in dehydrated samples (182.36–282.14 mg/100 g). Ascorbic acid, considered an important antioxidant, and found in high concentrations in certain plant tissues, is necessary in human food, it acts in cellular processes to prevent infections and improve immune function (Bilska et al., 2019; Njus et al., 2020).

MF presented a high total phenolic content (1285.47 mg EAG/100 g) as compared to studies performed with *Opuntia monacantha* flour (554 mg EAG/100 g) (Dick et al., 2020), and forage palm seeds (90.2 mg/100 g) (Reda et al., 2019). The total flavonoid content determined in our study was also significantly higher (15.19 mg CE/100 g) than that quantified by Reda et al. (2019), who studied forage cactus seeds and found only 0.19 mg/100 g.

The mean values of the *in vitro* antioxidant activity of the MF extract were higher using the FRAP method than the ABTS method (Table 4). These antioxidant activity results may be related to the greater presence of phenolic compounds that scavenge radicals, such as myricetin, kaempferol, and resveratrol (Huyut et al., 2017; Ijaz et al. 2021; Torres-Villarreal et al., 2019).

4 Conclusion

In this study, the *mandacaru* cladode dehydration process resulted in a flour that preserved its nutrients and bioactive compounds. This technological processing can expand the use of this cactus as an ingredient to develop diversified food products, adding value, and increase knowledge of its properties. *Mandacaru* cladode flour presents important nutrients, with both relevant mineral content (especially calcium, magnesium, and potassium), and high total fiber content (mainly insoluble fibers). *Mandacaru* cladode flour also boasts low glucose and expressive amounts of malic and citric acid. The total contents of ascorbic acid, phenolic compounds, and flavonoids explain its high antioxidant capacity, most likely influenced by the presence of bioactive compounds such as myricetin, kaempferol, and resveratrol. Based on our findings, *mandacaru* cladode is a food of great nutritional importance, a food alternative for the expansion of agribusiness. Our results reveal the potential for beneficial use of *mandacaru* flour in differing food product formulations, with excellent nutritional, bioactive, and technological properties of interest to the functional food industry. However, further study on its use as an ingredient in food products is still needed to ensure food quality and safety, especially for human consumption.

Declaration of competing interest

Authors declare no conflict of interest.

Funding: This research was partially funded by CAPES (Brazil), grant number 001.

References

- Adeyi, O., Ikhu-Omoregbe, D., & Jideani, V. (2019). Effect of citric acid on physical stability of sunflower oil-in-water emulsion stabilized by gelatinized bambara groundnut flour. *International Journal of Civil Engineering and Technology*, 10, 1-14. <https://doi.org/10.34218/IJCIET.10.1.2019.204>
- Akharume, F., Singh, K., Jaczynski, J., & Sivanandan, L. (2018). Microbial shelf stability assessment of osmotically dehydrated smoky apples. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 61-69. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.012>
- Akram, M., Munir, N., Daniyal, M., Egbuna, C., Găman, M. A., Onyekere, P. F., & Olatunde, A. (2020). Vitamins and minerals: types, sources and their functions. In: Egbuna, C., & Tupas, G. D. (Eds.), *Functional Foods and Nutraceuticals*. Switzerland A: Springer Cham. 149-172. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42319-3_9
- Alsaheb, R. A. A., Aladdin, A., Othman, N. Z., Abd Malek, R., Leng, O. M., Aziz, R., & El Enshasy, H. A. (2015). Lactic acid applications in pharmaceutical and cosmeceutical industries. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7, 729-735. Internet: <https://www.jocpr.com/> (accessed March 22, 2022).
- Araújo, D. F. S., Oliveira, M. E. G., Carvalho, P. O. A. A., Tavares, E. A., Guerra, G. C. B., Queiroga, R. C. R. E., Langassner, S. M. Z., Bezerril, F. F., Silveira, A. C. S., Medeiros, G. K. V. V., Machado, T. A. D. G., & Melo, N. M. C. (2021). Food Plants in the Caatinga. In: Jacob, M. C. M., & Albuquerque, U. P. (Eds.), *Local Food Plants of Brazil. Ethnobiology*. Springer, Cham. p. 225-250. https://doi.org/10.1007/978-3-030-69139-4_11
- Argel, N. S., Ranalli, N., Califano, A. N., & Andrés, S. C. (2020). Influence of partial pork meat replacement by pulse flour on physicochemical and sensory characteristics of low-fat burgers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 3932-3941. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10436>
- AOAC. (2019). *Official methods of analysis*. 21st Edn. Arlington: AOAC International. ISBN: 978-0935584899.
- Barthlott, W., & Hunt, D. R. (1993) *Cactaceae*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-662-02899-5.
- Batista, K. S., Alves, A. F., Lima, M. S., Silva, L. A., Lins, P. P., Gomes, J. A. S., Silva, A. S., Toscano, L. T., Meireles, B. R. L. A., Cordeiro, A. M. T. M., Conceição, M. L., Souza, E. L., & Aquino, S. J. (2018). Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. *The British Journal of Nutrition*, 119, 30. <https://doi.org/10.1017/S0007114517003282>
- Belorio, M., Sahagún, M., & Gómez, M. (2019). Influence of flour particle size distribution on the quality of maize gluten-free cookies. *Foods*, 8, 83. <https://doi.org/10.3390/foods8020083>

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>

Bezerril, F. F., Souza, M. F. V., Lima, M. S., Pacheco, M. T. B., Carvalho, P. O. A. A., Sampaio, K. B., Sousa, Y. R. F., Milani, R. F., Goldbeck, R., Borges, G. S. C., & Queiroga, R. C. R. E. (2021). Physicochemical characteristics and bioactive compounds of the Xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) cactus from Caatinga Brazilian: are they nutritive and functional?. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 3284-3297. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00906-w>

Bilge, G., Sezer, B., Eseller, K. E., Berberoglu, H., Koksel, H., & Boyaci, I. H. (2016). Ash analysis of flour sample by using laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 124, 74-78. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2016.08.023>

Bilska, K., Wojciechowska, N., Alipour, S., & Kalembe, E. M. (2019). Ascorbic acid—the little-known antioxidant in woody plants. *Antioxidants*, 8, 645. <https://doi.org/10.3390/antiox8120645>

Bouazizi, S., Montevecchi, G., Antonelli, A., & Hamdi, M. (2020). Effects of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) peel flour as an innovative ingredient in biscuits formulation. *LWT - Food Science and Technology*, 124, 109155. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109155>

Boukid, F., Boukid, Z., & Mejri, M. (2015). *Opuntia* cladodes: Physicochemical parameters, functional properties and application in formulation of rolled cake of cladode flour fabric (Part 2). *International Journal of Advanced Trends in Computer Science and Engineering*, 1, 30-34. Internet: www.mahendrapublications.com. (accessed March 22, 2022).

Bourdoux, S., Li, D., Rajkovic, A., Devlieghere, F., & Uyttendaele, M. (2016). Performance of drying technologies to ensure microbial safety of dried fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 1056-1066. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12224>

Brazil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (1978). *Resolution - RDC No. 12, of July 1978*. Brasília: Diário Oficial da União. Internet: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cnpa/1978/res0012_30_03_1978.html#:~:text=N%C3%A3o%20s%C3%A3o%20permitidos%20danos%20nas,permitidas%20rachaduras%2C%20cortes%20e%20perfura%C3%A7%C3%B5es. (accessed March 11, 2021).

Brazil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2019). *Resolution - RDC No. 331, of December 23, 2019*. Brasília: Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Internet: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-331-de-23-de-dezembro-de-2019.pdf/view>. (accessed March 11, 2021).

- Bressiani, J., Oro, T., Silva, P., Montenegro, F., Bertolin, T., Gutkoski, L., & Gularte, M. (2019). Influence of milling whole wheat grains and particle size on thermo-mechanical properties of flour using Mixolab. *Czech Journal of Food Sciences*, 37, 276-284. <https://doi.org/10.17221/239/2018-CJFS>
- Brito, T. B. N., Pereira, A. P. A., Pastore, G. M., Moreira, R. F. A., Ferreira, M. S. L., & Fai, A. E. C. (2020). Chemical composition and physicochemical characterization for cabbage and pineapple by-products flour valorization. *LWT - Food Science and Technology*, 124, 109028. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109028>
- Canalis, M. S. B., León, A. E., & Ribotta, P. D. (2019). Incorporation of dietary fiber on the cookie dough. Efeitos on thermal properties and water availability. *Food Chemistry*, 271, 309-317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.146>
- Carvalho, T. K. N., Lucena, C. M., Lima, J. R. F., Cruz, D. D., & Lucena, R. F. P. (2019). Local botanical knowledge of cacti in the semi-arid region of Paraíba, northeastern Brazil. *Ethnobotany Research and Applications*, 18, 1-14. <https://doi.org/10.32859/era.18.42.1-11>
- Castro-Muñoz, R. (2019). Pervaporation: the emerging technique for extracting aroma compounds from food systems. *Journal of Food Engineering*, 253, 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.013>
- Chbani, M., Matthäus, B., Charrouf, Z., El Monfalouti, H., Kartah, B., Gharby, S., & Willenberg, I. (2020). Characterization of phenolic compounds extracted from cold pressed cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oil and the effect of roasting on their composition. *Foods*, 9, 1098. <https://doi.org/10.3390/foods9081098>
- Chahdoura, H., Chaouch, M. A., Chouchéne, W., Chahed, A., Achour, S., Adouni, K., Mosbah, H., Majdoud, H., Flamini, G., & Achour, L. (2018). Incorporation of *Opuntia macrorrhiza* Engelm. in cake-making: Physical and sensory characteristics. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.001>
- Chance, E., Ashton, W., Pereira, J., Mulrow, J., Norberto, J., Derrible, S., & Guilbert, S. (2018). The Plant—An experiment in urban food sustainability. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 37, 82-90. <https://doi.org/10.1002/ep.12712>
- Coelho, E. M., Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., Sá, A. G. B., Pereira, G. E., Azevêdo, L. C., & Lima, M. S. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.017>
- Conti, M. V., Guzzetti, L., Panzeri, D., Giuseppe, R., Coccetti, P., Labra, M., & Cena, H. (2021). Bioactive compounds in legumes: Implications for sustainable nutrition and health in the elderly population. *Trends in Food Science & Technology*, 117, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.072>

- Coutinho, D. S., Pacheco, M. T., Frozza, R. L., & Bernardi, A. (2018). Anti-inflammatory effects of resveratrol: Mechanistic insights. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1812. <https://doi.org/10.3390/ijms19061812>
- Cui, R., & Zhu, F. (2020). Effect of ultrasound on structural and physicochemical properties of sweetpotato and wheat flours. *Ultrasonics sonochemistry*, 66, 105118. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105118>
- Dabulici, C. M., Sârbu, I., & Vamanu, E. (2020). The bioactive potential of functional products and bioavailability of phenolic compounds. *Foods*, 9, 953. <https://doi.org/10.3390/foods9070953>
- Deehan, E. C., Duar, R. M., Armet, A. M., Perez-Muñoz, M. E., Jin, M., & Walter, J. (2017). Modulation of the gastrointestinal microbiome with nondigestible fermentable carbohydrates to improve human health. *Microbiology Spectrum*, 5, 5-5. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.BAD-0019-2017>
- Destaw, F., & Fenta, M. M. (2021). Climate change adaptation strategies and their predictors amongst rural farmers in Ambassel district, Northern Ethiopia. *Jàmbá: Journal of Disaster Risk Studies*, 13, 974. <https://doi.org/10.4102/jamba.v13i1.974>
- Díaz, L. D., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2020). An international regulatory review of food health-related claims in functional food products labeling. *Journal of Functional Foods*, 68, 103896. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103896>
- Díaz-Vela, J., Totosaús, A., & Pérez-Chabela, M. L. (2015). Integration of Agroindustrial Co-Products as Functional Food ingredients: cactus pear (*Opuntia ficus indica*) Flour and Pineapple (*Ananas comosus*) peel flour as fiber source in cooked sausages inoculated with lactic acid bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39, 2630-2638. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12513>
- Dick, M., Limberger, C., Thys, R. C. S., Rios, A. O., & Flôres, S. H. (2020). Mucilage and cladode flour from cactus (*Opuntia monacantha*) as alternative ingredients in gluten-free crackers. *Food Chemistry*, 314, 126178. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126178>
- Du Toit, A., De Wit, M., Osthoff, G., & Hugo, A. (2018). Antioxidant properties of fresh and processed cactus pear cladodes from selected *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta* cultivars. *South African Journal of Botany*, 118, 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.06.014>
- Etienne, D. T., Romuald, M. M., Ysidor, K. N. G., Daouda, S., Adama, C., & Marius, B. G. H. (2017). Nutritive contents of cakes enriched with almonds powder of *Terminalia catappa* of Côte d'Ivoire. *Asian Research Journal of Agriculture*, 7, 1-15. <https://doi.org/10.9734/ARJA/2017/36697>
- Ferreira, I., Ortigoza, Á., & Moore, P. (2019). Magnesium and malic acid supplement for fibromyalgia. *Medwave*, 19, e7633. <https://doi.org/10.5867/medwave.2019.04.7632>

- Figuerola-Pérez, M. G., Pérez-Ramírez, I. F., Paredes-López, O., Mondragón-Jacobo, C., & Reynoso-Camacho, R. (2016). Phytochemical composition and in vitro analysis of nopal (*O. ficus-indica*) cladodes at different stages of maturity. *International Journal of Food Properties*, 21, 1728-1742. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1206126>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509. Internet: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)64849-5/pdf](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)64849-5/pdf). (accessed March 23, 2022).
- Gómez, M., Gutkoski, L. C., & Bravo-Núñez, Á. (2020). Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 3241-3265. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12625>
- Guerrero, P. C., Majure, L. C., Cornejo-Romero, A., & Hernández-Hernández, T. (2019). Phylogenetic relationships and evolutionary trends in the cactus family. *Journal of Heredity*, 110, 4-21. <https://doi.org/10.1093/jhered/esy064>
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., & Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochemistry Research international*, 2017, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2017/7616791>
- Ijaz, M. U., Anwar, H., Iqbal, S., Ismail, H., Ashraf, A., Mustafa, S., & Samad, A. (2021). Protective effect of myricetin on nonylphenol-induced testicular toxicity: biochemical, steroidogenic, hormonal, spermatogenic, and histological-based evidences. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-12296-5>
- Jelena, C. H., Giorgio, R., Justyna, G., Neda, M. D., Natasa, S., Artur, B., & Giuseppe, G. (2018). Beneficial effects of polyphenols on chronic diseases and ageing. In: Galanakis, C. M. Polyphenols: Properties, Recovery and Applications. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc. p. 69–102. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813572-3.00003-8>
- Jomová, K., Hudecova, L., Lauro, P., Simunkova, M., Alwasel, S. H., Alhazza, I. M., & Valko, M. (2019). A switch between antioxidant and prooxidant properties of the phenolic compounds myricetin, morin, 3', 4'-dihydroxyflavone, taxifolin and 4-hydroxy-coumarin in the presence of copper (II) ions: a spectroscopic, absorption titration and DNA damage study. *Molecules*, 24, 4335. <https://doi.org/10.3390/molecules24234335>
- Kulawiak, B., Bednarczyk, P., & Szewczyk, A. (2021). Multidimensional regulation of cardiac mitochondrial potassium channels. *Cells*, 10, 1554. <https://doi.org/10.3390/cells10061554>
- Lima, R. S., Ferreira, S. R. S., Vitali, L., & Block, J. M. (2019). May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? *Food Research International*, 115, 451-459. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.053>

- Liu, M., Li, X. Q., Weber, C. A., Lee, C. Y., Brown, J., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 50, 2926-2930. <https://doi.org/10.1021/jf0111209>
- Liu, M., Yang, H., & Mao, Y. (2019). Magnesium and liver disease. *Annals of Translational Medicine*, 7, 1-9. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.09.70>
- Luna-Guevara, M. L., Luna-Guevara, J. J., Hernández-Carranza, P., Ruíz-Espinosa, H., & Ochoa-Velasco, C. E. (2018). Phenolic Compounds: A Good Choice Against Chronic Degenerative Diseases. In: Rahman, A. (Ed.), *Studies in natural products chemistry*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Inc. p. 79–108. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64179-3.00003-7>
- Ma, S., Wang, C., Li, L., & Wang, X. (2020). Effects of particle size on the quality attributes of wheat flour made by the milling process. *Cereal Chemistry*, 97, 172-182. <https://doi.org/10.1002/cche.10230>
- Machado, T. A. D. G., Pacheco, M. T. B., Queiroga, R. C. R. E., Cavalcante, L. M., Bezerril, F. F., Ormenese, R. C. S. C., Garcia, A. O., Nabeshima, E. H., Pintado, M. M. E., & Oliveira, M. E. G. (2021). Nutritional, physicochemical and sensorial acceptance of functional cookies enriched with xiquexique (*Pilosocereus gounellei*) flour. *PLoS One*, 16, e0255287. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255287>
- Marshall, M. R. (2010). Ash analysis. In: Nielsen, SN. (Ed.), *Food analysis*. Boston: Springer, p. 105-115. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1478-1_7
- Martins, N., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.008>
- Medina-Torres, L., Brito-de la Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., & Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hydrocolloids*, 14, 417–424. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(00\)00015-1](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(00)00015-1)
- Micale, R., Giallanza, A., Russo, G., & La Scalia, G. (2017). Selection of a sustainable functional pasta enriched with *Opuntia* using ELECTRE III methodology. *Sustainability*, 9, 885. <https://doi.org/10.3390/su9060885>
- Monteiro, R. L., Garcia, A. H., Tribuzi, G., Carciofi, B. A. M., & Laurindo, J. B. (2021). Microwave vacuum drying of *Pereskia aculeata* Miller leaves: powder production and characterization. *Journal of Food Process Engineering*, 44, e13612. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13612>
- Monteiro, M. L. G., Mársico, E. T., Soares Junior, M. S., Magalhães, A. O., Canto, A. C. V. C. S., Costa-Lima, B. R. C., Alvares, T. S., & Conte Junior, C. A. (2016). Nutritional profile and chemical stability of pasta fortified with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) flour. *PLoS One*, 11, e0168270. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168270>
- Nabil, B., Ouaabou, R., Ouhammou, M., Essaadouni, L., & Mahrouz, M. (2020). Functional properties, antioxidant activity, and organoleptic quality of novel biscuit

produced by moroccan cladode flour “*Opuntia ficus-indica*”. *Journal of Food Quality*, 2020. 1-12. <https://doi.org/10.1155/2020/3542398>

Njus, D., Kelley, P. M., Tu, Y. J., & Schlegel, H. B. (2020). Ascorbic acid: the chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*, 159, 37-43. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013>

Özcan, M. M., & Al Juhaimi, F. Y. (2011). Nutritive value and chemical composition of prickly pear seeds (*Opuntia ficus indica* L.) growing in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 62, 533-536. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.552569>

Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & Santos-Lima, M. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food chemistry*, 228, 106-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.137>

Parafati, L., Restuccia, C., Palmeri, R., Fallico, B., & Arena, E. (2020). Characterization of prickly pear peel flour as a bioactive and functional ingredient in bread preparation. *Foods*, 9, 1189. <http://dx.doi.org/10.3390/foods9091189>

Petkova, N., Petrova, I., Ivanov, I., Mihov, R., Hadjikinova, R., Ognyanov, M., & Nikolova, V. (2017). Nutritional and antioxidant potential of carob (*Ceratonia siliqua*) flour and evaluation of functional properties of its polysaccharide fraction. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9, 2189-2195. Internet: https://www.academia.edu/38822787/Nutritional_and_antioxidant_potential_of_carob_Ceratonia_siliqua_flour_and_evaluation_of_functional_properties_of_its_polysaccharide_fraction?msclid=0f04c848aac911ecbf62b9877b3f3d46. (accessed March 23, 2022).

Pham, V. H., Abbas, W., Huang, J., He, Q., Zhen, W., Guo, Y., & Wang, Z. (2022). Effect of blending encapsulated essential oils and organic acids as an antibiotic growth promoter alternative on growth performance and intestinal health in broilers with necrotic enteritis. *Poultry Science*, 101, 101563. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2021.101563>

Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., Devries, J. W., & Furda, I. (1992). Determination of insoluble and soluble dietary fibers in foods and food products. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 2, 360–367. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.2.360>

Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3396-3402. <https://doi.org/10.1021/jf9913458>

Qi, X., Al-Ghazzewi, F. H., & Tester, R. F. (2018). Dietary fiber, gastric emptying, and carbohydrate digestion: a mini-review. *Starch-Stärke*, 70, 1700346. <https://doi.org/10.1002/star.201700346>

Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2016). An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Bioscience*, 13, 76-83. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.009>

Reda, T. H., & Atsbha, M. K. (2019). Nutritional composition, antinutritional factors, antioxidant activities, functional properties, and sensory evaluation of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) seeds grown in tigray region, Ethiopia. *International journal of food science*, 2019. 1-7. <http://dx.doi.org/10.1155/2019/5697052>

Saad, A. M., El-Saadony, M. T., Mohamed, A. S., Ahmed, A. I., & Sitohy, M. Z. (2021). Impact of cucumber pomace fortification on the nutritional, sensorial and technological quality of soft wheat flour-based noodles. *International Journal of Food Science & Technology*, 56, 3255-3268. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14970>

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

Sakhare, S. D., Inamdar, A. A., Soumya, C., Indrani, D., & Rao, G. V. (2014). Effect of flour particle size on microstructural, rheological and physico-sensory characteristics of bread and south Indian parotta. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 4108-4113. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0939-5>

Sanchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Pérez-Cruz, C., Pichardo-Ontiveros, E., Wang, M., Donovan, S. M., Tovar, A. R., & Torres, N. (2017). Nopal (*Opuntia ficus indica*) protects from metabolic endotoxemia by modifying gut microbiota in obese rats fed high fat/sucrose diet. *Scientific Reports*, 1, 4716. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05096-4>

Santo-Díaz, M. D. S., & Camarena-Rangel, N. G. (2019). Cacti for production of metabolites: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 8657–8667. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10125-5>

Sariburun, E., Şahin, S., Demir, C., Türkben, C., & Uylaşer, V. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science*, 75, C328-C335. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01571.x>

Sarker, M. Z. I., Elgadir, M. A., Ferdosh, S., Akanda, M. J. H., Aditiawati, P., & Noda, T. (2012). Rheological behavior of starch-based biopolymer mixtures in selected processed foods. *Starch-Stärke*, 65, 73-81. <https://doi.org/10.1002/star.201200072>

Sartori, A. G. O., Alencar, S. M., Bastos, D. H. M., Regitano d'Arce, M. A. B., & Skibsted, L. H. (2018). Effect of water activity on lipid oxidation and nonenzymatic browning in Brazil nut flour. *European Food Research and Technology*, 244, 1657– 1663. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3078-4>

Schulz, K., Guschal, M., Kowarik, I., Almeida-Cortez, J. S., Sampaio, E. V. S. B., & Cierjacks, A. (2019). Grazing reduces plant species diversity of caatinga dry forests in northeastern Brazil. *Applied Vegetation Science*, 22, 348-359.
<https://doi.org/10.1111/avsc.12434>

Selani, M. M., Brazaca, S. G. C., Dias, C. T. S., Ratnayake, W. S., Flores, R. A., & Bianchini, A. (2014). Characterisation and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. *Food Chemistry*, 163, 23–30.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.076>

Soares, L. M. N., Silva, G. M., Buriti, F. C. A., & Alves, H. S. (2021). *Cereus jamacaru* DC (Mandacaru): a promising native Brazilian fruit as a source of nutrients and bioactives derived from its pulp and skin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 170-178. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00885-9>

Soliman, G. A. (2019). Dietary fiber, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Nutrients*, 11, 1155. <https://doi.org/10.3390/nu11051155>

Stintzing, F. C., Schieber, A., & Carle, R. (2001). Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *European Food Research and Technology*, 212, 396-407.
<https://doi.org/10.1007/s002170000219>

Thamagasorn, M., & Pharino, C. (2019). An analysis of food waste from a flight catering business for sustainable food waste management: A case study of halal food production process. *Journal of Cleaner Production*, 228, 845-855.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.312>

Torres-Villarreal, D., Camacho, A., Castro, H., Ortiz-Lopez, R., & de la Garza, A. L. (2019). Anti-obesity effects of kaempferol by inhibiting adipogenesis and increasing lipolysis in 3T3-L1 cells. *Journal of physiology and biochemistry*, 75, 83-88.
<https://doi.org/10.1007/s13105-018-0659-4>

Vieira-Frez, F. C., Sehaber-Sierakowski, C. C., Perles, J. V. C. M., Bossolani, G. D. P., Verri Jr, W. A., Nascimento, R. C., Guarnier, F. A., Bordini, H. P., Blegniski, F. P., Martins, H. A., Souza, S. R. H., Lima, F. G. M., Lima, M. M., Silva, B. T., Iwanaga, C. C., & Zanoni, J. N. (2020). Anti-and pro-oxidant effects of quercetin stabilized by microencapsulation on interstitial cells of Cajal, nitroergic neurons and M2-like macrophages in the jejunum of diabetic rats. *Neurotoxicology*, 77, 193-204.
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.01.011>

Vinusha, K. S., Deepika, K., Johnson, T. S., Agrawal, G. K., & Rakwal, R. (2018). Proteomic studies on lactic acid bacteria: a review. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 14, 140. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.04.009>

Xiao, Y., Liu, H., Wei, T., Shen, J., & Wang, M. (2017). Differences in physicochemical properties and in vitro digestibility between tartary buckwheat flour and starch modified by heat-moisture treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 285-292. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.001>

Zhang, H., Wang, H., Cao, X., & Wang, J. (2018). Preparation and modification of high dietary fiber flour: A review. *Food Research International*, 113, 24-35. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.068>

Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64, 555-559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

Figure captions

Figure 1. MF micrographs at 100x to 4000x magnification performed in SEM.

Figure 2. MF particle size (1000x).

Table 1 - Physicochemical characteristics (media $\pm$ standard deviation) of the in natura mandacaru cladode (*Cereus jamacaru* DC.) used in the preparation of MF.

Parameters	MF
a_w ¹	0.937 ± 0.000
Moisture (g/100 g)	13.20 ± 0.69
FMR (g/100 g) ²	2.66 ± 0.16
Proteins (g/100 g)	0.88 ± 0.09
Fat (g/100 g)	0.23 ± 0.09
Total carbohydrates (g/100 g)	86.24 ± 0.17
<i>Dietary fiber (g/100 g)</i>	
Insoluble dietary fiber	4.57 ± 0.60
Soluble dietary fiber	2.67 ± 0.61
Total dietary fiber	7.24 ± 1.20
<i>Antioxidant potential</i>	
Ascorbic acid (mg/100 g)	18.15 ± 0.10
Total Phenolics (mg AGE/100 g) ³	21.32 ± 0.52
Total Flavonoids (mg EC/100 g) ⁴	25.10 ± 0.20
FRAP (μ mol Trolox TEAC/100 g) ⁵	0.89 ± 0.08
ABTS (μ mol Trolox TEAC/g) ⁶	2.64 ± 0.30

¹ a_w – Water activity; ²FMR - Fixed Mineral Residue; ³Results are expressed as milligrams of equivalent gallic acid (AGE) per hundred grams of sample (mg AGE/100 g); ⁴Results are expressed as milligrams of Equivalent Catechin (EC) per hundred grams of sample (mg EC/100 g); ⁵Results are expressed as micromol of Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) per hundred grams of sample (μ mol TEAC/100 g). ⁶Results are expressed as micromol of Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) per grams of sample (μ mol TEAC/100 g). Abbreviations: FRAP - ferric reducing ability of plasma; ABTS^{•+} cation - 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline)-6-sulfonic acid.

Table 2 – Physicochemical composition, dietary fiber content and mineral profile (media $\pm$ standard deviation) of MF.

Parameters	MF
a_w ¹	0.423 ± 0.003
Moisture (g/100 g)	8.24 ± 0.21
FMR (g/100 g) ²	2.82 ± 0.02
Proteins (g/100 g)	5.18 ± 0.10
Fat (g/100 g)	1.88 ± 0.14
Total Carbohydrates (g/100 g)	74.48 ± 0.20
<i>Dietary fiber (g/100g)</i>	
Insoluble dietary fiber	48.08 ± 7.55
Soluble dietary fiber	0.38 ± 0.06
Total dietary fiber	48.46 ± 7.61
<i>Minerals Profile (%)</i>	
Na	0.95 ± 0.34
Mg	15.21 ± 0.29
K	5.94 ± 0.18
Ca	76.33 ± 0.69
Mn	0.54 ± 0.29
Fe	0.05 ± 0.29
Cu	0.59 ± 0.40
Zn	0.39 ± 0.47

a_w ¹ – Water activity; FMR² - Fixed Mineral Residue.

Table 3 – Sugars and organic acids profile (media $\pm$ standard deviation) of MF.

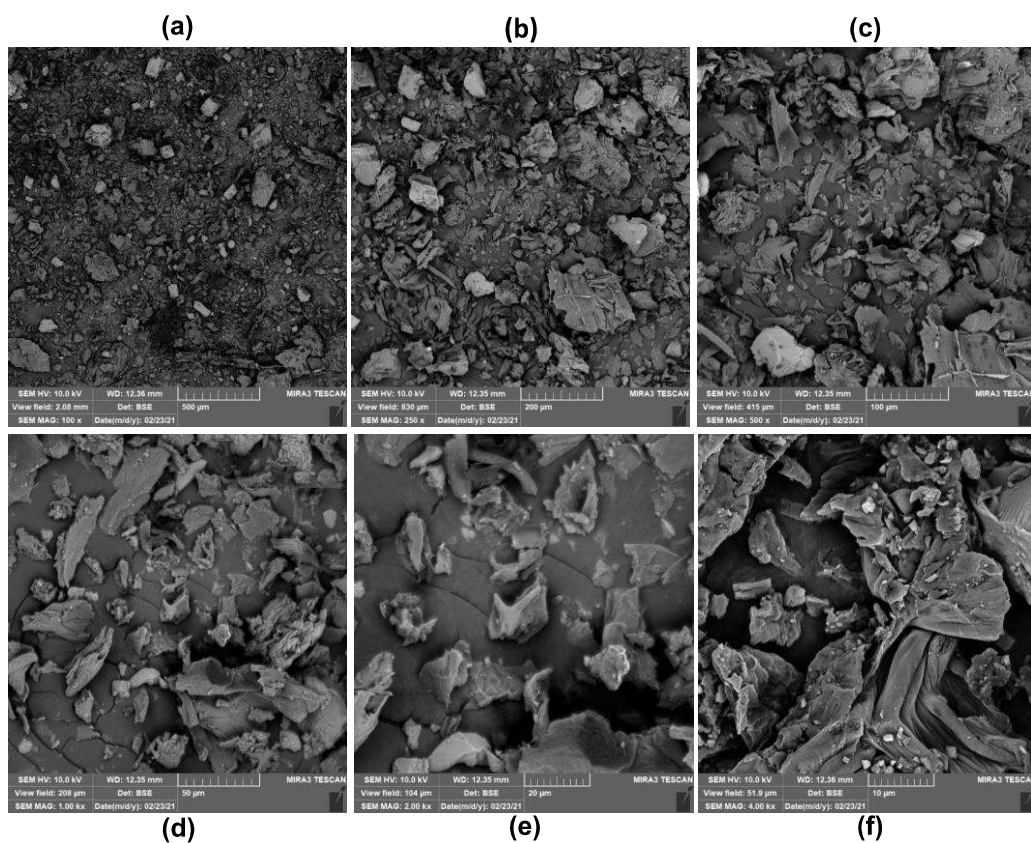
Parameters	MF
<i>Simple Sugars (g/100 g)</i>	
Maltose	<LOD
Glycose	1.33 ± 0.02
Fructose	<LOD
Rhamnose	<LOD
<i>Organics Acids (g/100 g)</i>	
Citric	3.96 ± 0.36
Latic	0.52 ± 0.02
Malic	9.41 ± 0.22
Succinic	1.53 ± 0.02
Formic	1.04 ± 0.07
Acetic	<LOD
Butyric	<LOD
Propionic	<LOD

<LOD: below the limit of detection.

Table 4 – Bioactive antioxidant compounds Content and antioxidant activity (media $\pm$ standard deviation) of MF.

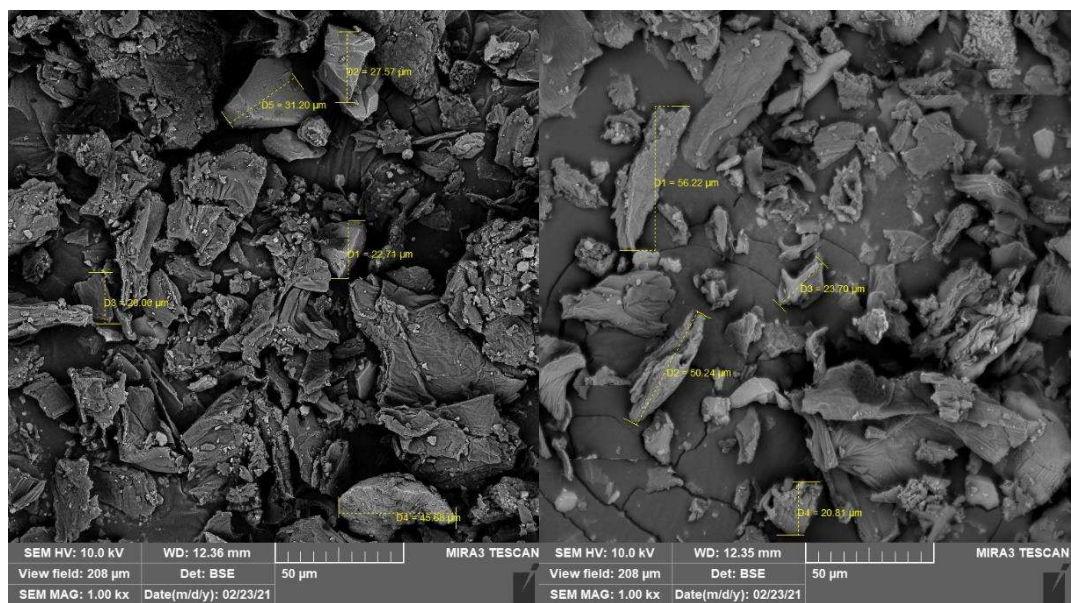
Variables	MF
<i>Phenolic Compounds Profile (mg/100 g)</i>	
Syringic Acid	0.05 $\pm$ 0.01
Hesperidin	0.62 $\pm$ 0.05
Resveratrol	17.84 $\pm$ 1.58
Naringenin	0.21 $\pm$ 0.02
Procyanidin B1	0.79 $\pm$ 0.05
Catechin	0.45 $\pm$ 0.26
Procyanidin B2	0.13 $\pm$ 0.05
Epigallocatechin gallate	0.50 $\pm$ 0.03
Epicatequin	0.04 $\pm$ 0.05
Epicatechin gallate	2.84 $\pm$ 0.22
Procyanidin A2	0.52 $\pm$ 0.26
Chlorogenic Acid	0.23 $\pm$ 0.02
Caffeic Acid	0.15 $\pm$ 0.01
Trans-Resveratrol	0.44 $\pm$ 0.03
Miricetin	72.30 $\pm$ 5.91
Quercetin	1.74 $\pm$ 0.34
Rutine	0.03 $\pm$ 0.02
Kaempferol	99.40 $\pm$ 8.89
Ascorbic Acid (mg/100 g)	35.22 $\pm$ 0.50
Total Fenolics (mg EGA/100 g) ¹	1285.47 $\pm$ 0.10
Total Flavonoids (mg EC/100 g) ²	15.19 $\pm$ 0.50
FRAP (μ mol Trolox TEAC/100 g) ³	249.45 $\pm$ 0.20
ABTS (μ mol Trolox TEAC/g) ⁴	0.39 $\pm$ 0.20

¹Results expressed in milligrams equivalent of gallic acid (EGA) per hundred grams of sample (mg EGA/100 g); ²Results expressed in milligrams equivalent of catechin (EC) per hundred gram of sample (mg EC/100 g); ³Results expressed as micromol of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per hundred grams of sample (μ mol TEAC/100 g); ⁴Results expressed as micromol of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per grams of sample (μ mol TEAC/g).
Abbreviations: FRAP - ferric reducing ability of plasma; ABTS⁺⁺ cation - 2,2- azino-bis (3-ethylbenzo-tiazoline)-6-sulfonic acid.



Magnifications: (a) 100x, (b) 250x, (c) 500x, (d) 1000x, (e) 2000x e (f) 4000x.

Fig. 1.

**Fig. 2.**

ARTIGO 2

Potenciais propriedades prebióticas da farinha do cladódio do mandacaru (*Cereus jacamaru* DC.), uma planta comestível não convencional do bioma Caatinga

Resumo

Este estudo avaliou as propriedades prebióticas da farinha do cladódio do mandacaru (FM) digerida e liofilizada, através das medidas de efeitos estimuladores no crescimento e metabolismo dos *Lactobacillus* (*L. acidophilus* LA-05®, *L. fermentum* 139 e *L. fermentum* 296.), bem como, sobre a composição e atividade metabólica da microbiota colônica humana *in vitro*. A MF apresentou escores prebióticos positivos e contagens de células viáveis de *Lactobacillus* em diferentes meios de cultivo, que variou de $> 6,2$ (tempo 0) – 7,24 (tempo 48) log UFC/mL, resultando em uma diminuição do pH, aumento da produção de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (acético e propiônico) e consumo de açúcares. A MF causou alteração na abundância relativa de diferentes grupos microbianos encontrados como parte da microbiota humana, assim como, na produção de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta *in vitro*, aumentando a abundância relativa de *Lactobacillus/Enterococcus* e *Bifidobacterium* e diminuindo a de *Bacteroides/Prevotella*, *Clostridium histolyticum* e *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* após 48 h de fermentação colônica. Os índices prebióticos foram positivos após 24 e 48 h de fermentação colônica *in vitro*, demonstrando uma intensa atividade metabólica, com um aumento da produção de AGCG, diminuição do pH e consumo de açúcar. Desta forma, elucida-se que esses efeitos podem estar associados ao conteúdo de fibras alimentares, açúcares, compostos fenólicos e antioxidantes da MF, caracterizando-a como um ingrediente potencialmente prebiótico a ser inserida na alimentação humana, em formulações ou suplementos alimentares.

Palavras chaves: Cactaceas, Fermentação colônica, modulação intestinal, efeito prebiótico.

Abstract

This study evaluated the prebiotic properties of digested and lyophilized Mandacaru Cladode flour (MF), through measures of stimulating effects on the growth and metabolism of *Lactobacillus* (*L. acidophilus* LA-05®, *L. fermentum* 139 and *L. fermentum* 296.), as well as on the composition and metabolic activity of the human colonic microbiota *in vitro*. MF showed positive prebiotic scores and viable *Lactobacillus* cell counts in different culture media, which ranged from > 6.2 (time 0) – 7.24 (time 48) log CFU/mL, resulting in a decrease in pH, increased production of lactic acid and short-chain fatty acids (SCFA) (acetic and propionic) and consumption of sugars. MF caused changes in the relative abundance of different microbial groups found as part of the human microbiota, as well as in the production of lactic acid and short-chain fatty acids *in vitro*, increasing the relative abundance of *Lactobacillus/Enterococcus* and *Bifidobacterium* and decreasing that of *Bacteroides/Prevotella*, *Clostridium histolyticum* and *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* after 48 h of colonic fermentation. Prebiotic indices were positive after 24 and 48 h of *in vitro* colonic fermentation, demonstrating an intense metabolic activity, with an increase in SCFA production, pH decrease and sugar consumption. These effects may

be associated with the content of dietary fibers, sugars, phenolic compounds and antioxidants of MF, characterizing it as a potentially prebiotic ingredient to be inserted in human food, in food formulations or supplements.

Keywords: Cactaceae, colonic fermentation, intestinal modulation, prebiotic effect.

1. Introdução

A busca por alimentos alternativos e com propriedades funcionais tem aumentado nos últimos anos. Nesse contexto, as cactáceas vêm ganhando evidência em diversas áreas, não somente para uso farmacológico, mas também para consumo humano. A presença de compostos bioativos, como fenólicos, fibras, pigmentos, ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas, que atuam em diferentes funções no organismo, faz com que aumente o potencial de mercado das cactáceas (Araújo et al., 2021; Bezeril et al., 2021; Guarrera et al., 2016).

Dentre as cactáceas do Nordeste brasileiro, o *Cereus jamacaru* DC., popularmente conhecida como mandacaru, é uma planta alimentícia não convencional ainda pouco explorada, e se destaca pelo seu valor nutricional e presença de compostos bioativos, a exemplo de fibras alimentares solúveis e insolúveis (Almeida et al., 2022; Soares et al., 2021).

As fibras insolúveis contribuem para o aumento do volume do bolo fecal, reduzindo o tempo de trânsito intestinal, retardando a absorção de glicose e a hidrólise do amido. E as fibras solúveis auxiliam na produção de ácidos graxos de cadeia curta quando fermentadas pelas bactérias intestinais, proporcionando efeitos fisiológicos associados (Meyer et al., 2015; Müller et al., 2018; Prasad; Bondy, 2019), e por essas características podem ser classificadas como prebióticos. Prebióticos são componentes seletivamente fermentáveis por microrganismos, favorecendo a saúde do hospedeiro, promovendo mudanças específicas na composição e atividade da microbiota, estimulando de maneira seletiva o crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas (Gibson et al., 2017).

Tem sido elucidado na literatura que a microbiota intestinal pode ser modulada através do uso de prebióticos, e estes, podem estar presentes como componentes naturais em alimentos. Seu uso prolongado, pode estimular a metabolização dos nutrientes, minerais e fitoquímicos, atuando no fortalecimento do sistema imunológico, prevenção

da obesidade e doenças cardiovasculares (He & She, 2017; Oniszczuk et al., 2021; Plamada & Vodnar, 2022).

Na literatura até o momento não existem estudos mostrando o efeito prebiótico do *Cereus jamacaru* DC *in vitro*, sendo este estudo pioneiro na área. Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito prebiótico da farinha do cladódio do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) sobre o crescimento de cepas de bactérias ácido lácticas e atividade metabólica da microbiota colônica humana *in vitro*.

2. Material e métodos

2.1 Preparação da Farinha do Cladódio de Mandacaru (MF)

Os cladódios do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) foram coletados na cidade de Cuité, Estado da Paraíba, Brasil [6°29'46.0"S 36°09'34.7"W], durante três dias não consecutivos do mês de outubro de 2020, correspondendo a três lotes diferentes com 4 kg cada. O material botânico foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (SISGEN), sob o número A1FECD5.

A MF foi preparada de acordo com o método descrito por Machado et al. (2021), com modificações. Inicialmente, os cladódios foram higienizados com água corrente e sanitizados com hipoclorito de sódio (100 ppm); em seguida, foram cortados em fatias de, aproximadamente, 1 cm de espessura usando uma faca de aço inoxidável esterilizada. As fatias de cladódio foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar (Quimis, Q314M, São Paulo, Brasil) em temperatura de 55 ± 1 °C, até que atingisse 4% de umidade, o que levou aproximadamente 26 h. Após a secagem, o cladódio do mandacaru foi triturado em moinho de facas (Willey, Solab, Piracicaba, São Paulo, Brasil) e tamizado em peneira com malha de 230 μ m em um agitador de peneiras (Bertel®, Caieiras, São Paulo, Brasil), resultando na MF, com rendimento de 5% em relação ao cladódio *in natura*. A farinha foi selada a vácuo em sacos de BOPP metalizados e armazenada por até 6 meses, em temperatura ambiente, para posteriores análises.

2.2 Microrganismos e condições de cultivo

Três isolados probióticos foram utilizados, nomeadamente *Lactobacillus acidophilus* LA-05®, (Chr. Hansen, Hørsholm, Dinamarca), *Limosilactobacillus fermentum* 139 e *L. fermentum* 296. O *Lactobacillus acidophilus* LA-05® foi obtido

comercialmente e os *L. fermentum* 139 e 296 foram previamente isolados e identificados por Garcia *et al.*, (2016) e tiveram seu potencial probiótico avaliado por Albuquerque *et al.*, (2017), derivados de subprodutos de maçã e morango e depositados no Banco de Cepas pertencente ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba (João Pessoa, Brasil). Cada estirpe foi cultivada duas vezes em caldo de Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (Hi-Media, Mumbai, Índia) a 37 °C por 20–24 h, centrifugada ($4500 \times g$, 15 min, 4 °C; centrífuga MPW-351R, MPW Medical Instruments, Warsaw, Poland), lavada duas vezes e ressuspensa em solução salina esterilizada (NaCl 8,5 g/L; FMaia Ltd., Minas Gerais, Brasil) para obter suspensões de células com densidade óptica (OD; Espectrofotômetro, Bel Photonics, São Paulo, Brasil) a 655 nm de 0,6. Essas suspensões forneceram contagens de células viáveis de ~ 7 log unidades formadoras de colônias (UFC)/mL quando semeadas em ágar MRS. Cada cepa probiótica foi testado como um único inóculo.

As cepas *Escherichia coli* ATCC 8739 e *E. coli* ATCC 11775, fornecidas pela Coleção de Microrganismos de Referência, Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, Brasil), foram usadas para preparar o inóculo entérico misto usado nos ensaios para a determinação dos escores de atividade prebiótica. Essas cepas foram cultivadas duas vezes em caldo de infusão cérebro-coração (BHI) (HiMedia) a 37 °C por 18-20 h. Cada cultura foi centrifugada ($4500 \times g$, 15 min, 4 °C), lavada duas vezes e ressuspensa em solução salina estéril para obter uma suspensão celular com uma leitura de OD de 0,05 a 655 nm (OD₆₅₅). Essas suspensões forneceram contagens de células viáveis de ~ 7 log CFU/mL quando plaqueadas em Ágar BHI. O inóculo da mistura entérica foi obtido pela mistura das duas suspensões diferentes de *E. coli* numa proporção de 1:1.

Os estoques de todas as cepas foram mantidos em caldo MRS ou BHI com glicerol (150 g/L; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) a -20 °C, por um máximo de 4 semanas. O Caldo MRS e ágar MRS usados para cultivo de *Lactobacillus* foram sempre suplementados com 0,5 g/L de L-cisteína·HCl (Fluka, St. Gallen, Suíça) e incubados em condições anaeróbicas usando um gerador de gás anaeróbico (AnaeroGen™, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra).

2.3 Digestão *in vitro* da MF e preparação dos meios de cultivo

Inicialmente, a MF foi submetida ao processo simulado de digestão gastrointestinal *in vitro*, conforme o método descrito por Albuquerque *et al.* (2020). A solução final da

digestão foi transferida para um tubo de diálise de celulose regenerada com limite de peso molecular nominal de 1 kDa (Spectrum, New Brunswick, EUA) e dialisada com NaCl a 0,01 M a $5 \pm 0,5$ °C para remover monossacarídeos. Após 18 h, os fluidos dialisados foram substituídos e o processo continuou por 2 h. A MF digerida e dialisada foi congelada (-18 °C), liofilizada (temperatura -50 ± 2 °C, pressão de vácuo 76 µHg, velocidade de liofilização 1 mm/h) por 28 h em liofilizador (Liotop, São Paulo, Brasil), e o material obtido embalado em sacos de BOPP metalizados e armazenado sob refrigeração ($4 \pm 0,5$ °C).

Para monitorar o crescimento das cepas com potencial probiótico, foram preparados diferentes caldos de cultivo distintos: Caldo MRS (CMRS) sem fonte de carbono, CMRS contendo glicose numa concentração de 20 g/L (ingrediente não prebiótico; Zhang et al., 2018), CMRS contendo FOS (fruto-oligossacarídeos – 20 g/L; prebiótico padrão controle; Gibson et al., 2017), CMRS contendo, separadamente, 20 g/L da MF. O caldo MRS com fonte de carbono modificada foi utilizado como meio basal para avaliar os potenciais efeitos prébióticos da MF com digestão *in vitro* (Sousa et al., 2015). A composição do caldo MRS modificado utilizado nestes ensaios foi: triptona 10 g/L, extrato de carne 8 g/L, extrato de levedura 4 g/L, hidrogenofosfato de dipotássio 2 g/L, tween 80 1 g/L, acetato de sódio 5 g/L, citrato de amônio tribásico 2 g/L, sulfato de magnésio 0,2 g/L, sulfato de manganês 0,04 g/L e sua respectiva fonte de carbono 20 g/L. Todos os ingredientes utilizados para preparar os meios de cultivo foram obtidos da Sigma-Aldrich, com exceção do FOS que foi obtido da Galena Ltd. (Campinas, Brasil).

2.4 Determinação dos escores da atividade prebiótica

Uma alíquota de 0,2 mL da suspensão probiótica foi homogeneizada com 10 mL de CMRS sem fonte de carbono, com glicose, FOS e MF digerida (20 g/L). Paralelamente, uma alíquota de 0,2 mL da mistura entérica foi homogeneizada com 10 mL de caldo M9 (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) com glicose, FOS e MF digerida (20 g/L). No tempo zero (logo após a homogeneização), e após os tempos (6, 12, 24 e 48 h) de incubação (37 °C), uma alíquota de 1 mL de meio de cultivo foi diluída em série (1:9) em solução salina esterilizada (8,5 g/L). Uma alíquota de 100 µL de cada diluição foi semeada em ágar MRS ou ágar EMB (Eosin Methylene Blue) para enumeração da mistura probiótica e entérica, respectivamente, e incubada a 37 °C por 24 h. Os resultados foram expressos como log UFC/mL

O índice de atividade prebiótica foi determinado segundo equação recomendada por Zhang et al. (2018), correspondendo à Equação 1:

$$\begin{aligned} \text{Índice de atividade prebiótica} = & \{[\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL cultivada em meio com} \\ & \text{a farinha no intervalo de 48 h}] - [\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL cultivada em meio com} \\ & \text{a farinha no intervalo de zero hora (população inicial)}] / [\log \text{ UFC probiótica (BAL)/mL} \\ & \text{cultivada em meio contendo glicose no intervalo de 48 h}] - [\log \text{ UFC probiótica} \\ & \text{(BAL)/mL cultivadas em meio contendo glicose no intervalo de zero hora (população} \\ & \text{inicial)}]\} - \{[\log \text{ UFC } E. coli/\text{mL cultivada em meio com a farinha no intervalo de 48 h}] \\ & - [\log \text{ UFC } E. coli/\text{mL cultivada em meio com a farinha no intervalo de zero hora} \\ & \text{(população inicial)}] / \log \text{ UFC } E. coli/\text{mL cultivada em meio contendo glicose no intervalo} \\ & \text{de 48 h}] - [\log \text{ UFC } E. coli/\text{mL cultivada em meio contendo glicose no intervalo de zero} \\ & \text{hora (população inicial)}]\} \end{aligned} \quad (1)$$

2.5 Determinação de atividade metabólica probiótica

2.5.1 Enumeração de contagens de células viáveis

Inicialmente, 20 mL da suspensão probiótica foi homogeneizada com 100 mL de CMRS com glicose, FOS, MF digerida (20 g/L) e sem fonte de carbono, em diferentes intervalos de tempos (zero hora, ou seja, logo após a homogeneização e após 6, 12, 18, 24 e 48 h pós-incubação). Alíquotas de 100 µL de cada mistura foram diluídas em série em solução salina esterilizada (8,5 g/L) e, subsequentemente, 20 µL de cada diluição foram plaqueadas em ágar MRS. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 – 48 h. Os resultados das contagens de células viáveis foram expressos como log UFC/mL (Massa et al., 2020).

2.5.2 Avaliação da atividade metabólica

As análises dos indicadores de atividade metabólica nos diferentes sistemas de cultivo propostos para avaliação da utilização da MF como fonte de carbono foram realizadas por meio da determinação de valores de pH, quantificação de ácidos orgânicos e consumo de açúcares nos tempos avaliados (Albuquerque et al., 2020).

O pH do meio de cultivo foi medido com um potenciômetro digital (Quimis, São Paulo, Brasil) (AOAC, 2019) no tempo zero (logo após a homogeneização) e após 6, 12, 24 e 48 h de incubação. Os teores de açúcares e ácidos orgânicos foram avaliados no tempo zero e após 24 e 48 h de cultivo. Para açúcares e ácidos orgânicos (ácido lático e AGCC) inicialmente foi realizada uma extração ácida, onde 1 mL do meio de cultivo foi

homogeneizado com 5 mL de ácido sulfúrico a 4 M (Neon, São Paulo, Brasil), centrifugado ($6000 \times g$, 10 min, 4 °C) e o sobrenadante obtido foi filtrado (tamanho de poro de 0,45 μm , Whatman®, GE Healthcare, Chicago, EUA). Os teores de açúcares, ácido láctico e AGCC foram medidos com HPLC usando condições analíticas previamente descritas por Coelho et al. (2018) e Padilha et al. (2017).

2.6 Avaliação dos efeitos prebióticos utilizando inóculo fecal

2.6.1 Preparação das amostras fecais e pré-cultura

Os procedimentos experimentais foram aprovados por um comitê institucional de ética em pesquisa com seres humanos (Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil) e seguiu as orientações do Conselho Nacional de Saúde (Resolução 466, 2012). As amostras fecais foram coletadas de quatro voluntários adultos saudáveis (dois homens e duas mulheres, de 19 a 36 anos). Como critérios de inclusão, os doadores seguiram uma dieta onívora, sem precedentes de doença no intestino grosso, sem o uso de probióticos ou prebióticos incluídos em alimentos ou concentrados apresentados na forma farmacêutica, além de não ter feito uso de antibióticos ou qualquer outro medicamento de uso controlado por, pelo menos, seis meses antes da coleta (Guergoletto et al., 2016). As amostras fecais foram coletadas em tubos estéreis, dispostos em uma jarra com um sistema gerador de anaerobiose (AnaeroGen, Oxoid, Basingstoke, Inglaterra) e transportadas para o laboratório. As amostras fecais foram verificadas em laboratório quanto à ausência de parasitas e sangue, sendo utilizadas em até 30 min após a coleta, para garantir uma microbiota fecal fresca. Amostras fecais frescas de voluntários foram misturadas (1:1:1:1, p/p), diluídas (1:10, p/v) em solução tampão fosfato-salino estéril (PBS; 0,1 mol/L; pH 7,4) e homogeneizadas por 2 min com agitação (200 rpm) (Rodrigues et al., 2016). A mistura fecal (120 g) foi cultivada ($37 \pm 0,5$ °C) em condições anaeróbicas (AnaeroGen) em um meio de pré-cultura formulado com 10 g de triptona, 5 g de extrato de levedura, 10 g de NaCl, 5 g de glicose, 6 g de lactose e água destilada (1 L) previamente esterilizada em autoclave (121 °C, 1 atm, 15 min). Após a incubação durante a noite, a pré-cultura foi filtrada com uma gaze tripla esterilizada (Albuquerque et al., 2021).

2.6.2 Preparação do meio de fermentação

Para o processo de fermentação foi utilizado 1 L de meio de crescimento esterilizado em autoclave (121 °C, 1 atm, 15 min), com a seguinte composição: 4,5 g de

NaCl, 4,5 g de KCl, 1,5 g de NaHCO₃, 0,69 g de MgSO₄, 0,8 g de L-cisteína HCl, 0,5 g de KH₂PO₄, 0,5 g de K₂HPO₄, 0,4 g de sal biliar, 0,08 g de CaCl₂, 0,005 g de FeSO₄, 1 mL de Tween 80 e 4 mL de solução de resazurina (0,025%, como um indicador anaeróbico) e água destilada. A MF digerida foi submetida à fermentação com o pré-cultivo da microbiota fecal humana. O volume final da fermentação foi de 40% do meio de fermentação, 40% da pré-cultura fecal humana e 20% da MF digerida, incubados anaerobicamente a 37 °C por 48 h (Hu et al., 2013; Albuquerque et al., 2021). Um meio de fermentação contendo FOS (20%) e sem substrato adicionado foram utilizados como controle positivo e negativo, respectivamente, sendo submetidos aos mesmos procedimentos citados anteriormente. Os ingredientes usados para preparar o meio de fermentação foram obtidos da Sigma-Aldrich.

2.6.3 Enumeração bacteriana por fluorescência de hibridização *in situ* (FISH) acoplado com citometria de fluxo multiparamétrica

A técnica de fluorescência de hibridização *in situ* (FISH) usando sondas de oligonucleotídeos designadas para regiões alvo específicas do gene 16S rRNA de distintos grupos bacterianos em combinação com citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) foram utilizadas para avaliar a capacidade da MF digerida em induzir mudanças na composição da população bacteriana colônica (Conterno et al., 2019; Menezes et al., 2021). Cinco diferentes sondas (Lab 158 específica para *Lactobacillus* – *Enterococcus*, Bif 164 específica para *Bifidobacterium*, Bac 303 específica para *bacteroides* – *Prevotella*, Chis 150 específica para *Clostridium histolyticum* e Erec 482 específica para *Eubacterium rectale* – *Clostridium coccoides*) sintetizadas comercialmente e marcadas com o fluoróforo Cy3 (Sigma-Aldrich) foram utilizadas (Rodrigues et al., 2016; Menezes et al., 2021). O marcador SYBR Green (Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) foi usado para enumerar a população total de bactérias por meio da marcação da fita dupla de DNA (Conterno et al., 2019).

No tempo zero (logo após a homogeneização dos componentes do meio de fermentação) e após 24 e 48 h de fermentação, alíquotas de 375 µL das culturas foram fixadas *overnight* a 4 °C com 1125 µL de solução de paraformaldeído filtrada (4%, p/v) para estabilizar a estrutura celular. Após esse período, as alíquotas foram centrifugadas (10000 × g, 5 min, 4 °C), lavadas duas vezes (10000 × g, 5 min, 4 °C) com PBS a 1 M esterilizado, ressuspensas em 300 µL de PBS: etanol 99% (1:1 v/v), filtradas com filtro de membrana tamanho de poro 0,45 µm (Whatman®) e armazenadas a -20 °C.

Para a realização da hibridização *in situ*, 10 μL das células fixadas foram ressuspensas em 190 μL de PBS 1x (Gibco®, Gaithersburg, EUA; pH 7,2), centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C), descartando-se o sobrenadante, ressuspensas em 200 μL de tampão Tris-EDTA (100 mM Tris-HCl e 50 mM EDTA; pH 8) e centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C). As amostras foram tratadas com 200 μL de Tris-EDTA contendo lisozima (1 mg/mL) e incubadas por 10 min no escuro em temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C), para permeabilizar as células que receberam as sondas Lab 158 e Bif 164, seguindo por centrifugação ($4000 \times g$, 15 min, 4 °C). As amostras foram ressuspensas em 45 μL de tampão de hibridização [0,9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl (pH 7,5), 0,1% (p/v) de dodecil sulfato de sódio (DSS)] e com 5 μL de sonda oligonucleotídica fluorescente (50 ng/ μL) e mantidas sob temperatura de hibridização apropriada para cada sonda (45 ou 50 °C) no escuro por 4 h.

Após essa etapa, as amostras foram centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C), ressuspensas em 200 μL de tampão de hibridização sem DSS e mantidas sob temperatura de lavagem apropriada para cada sonda (45 ou 50 °C) no escuro por 30 min, para retirar sondas não ligadas. As amostras foram centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C), ressuspensas em 200 μL de PBS 1x + 20 μL de SYBR Green (1:1000 solução estoque diluída em dimetil sulfoxido $\geq 99.9\%$, Sigma-Aldrich), incubadas por 10 min no escuro sob temperatura ambiente ($25 \pm 0,5$ °C), centrifugadas ($4000 \times g$, 15 min, 25 °C) e ressuspensas com 200 μL de PBS 1x.

Uma amostra em branco (sem a sonda oligonucleotídica e sem SYBR Green), e uma amostra marcada somente com SYBR Green, foram preparadas para todas as amostras, seguindo os mesmos passos das amostras hibridizadas, como um controle para definir o limiar das comportas do citômetro de fluxo (BD Accuri C6, New Jersey, EUA), o que permite revelar a potencial autofluorescência das amostras, excluindo os falsos positivos. Na análise de CFM, os sinais fluorescentes das células individuais passam através de uma zona de laser, sendo coletados como sinais logaritmos. Os sinais fluorescentes (mensuramento da área de pulso) foram coletados pelos canais FL1 (SYBR Green) e FL2 (Lab 158, Bif 164, Bac 303, Chis 150 e Erec 482). A aquisição das amostras foi configurada para passar em um baixo fluxo, com nível limite para dispersão direta (FSC) ajustado para 30.000 e com total de 10.000 eventos coletados para cada amostra. Os citogramas de emissão de fluorescência foram gravados com o software BD Accuri C6 (Becton Dickinson and Company). Os resultados foram expressos como abundância relativa (porcentagem) de células hibridizadas com cada sonda Cy3 específica de grupo

bacteriano (registrados como eventos fluorescentes) em relação ao total de bactérias enumeradas com coloração SYBR Green (Albuquerque et al., 2021; Conterno et al., 2019; Menezes et al., 2021).

2.6.4 Determinação de índices prebióticos

Para obter uma medida comparativa quantitativa geral do equilíbrio entre diferentes populações bacterianas nas amostras de fermentação colônica, bem como para comparar a influência da MF examinada na modulação microbiana seletiva durante a fermentação colônica, um índice prebiótico foi calculado com dados obtidos na análise de FISH-CFM. A equação usada foi adaptada (Owolabi et al., 2020; Palframan et al., 2003), em que diferentes populações bacterianas foram enumeradas com cinco sondas oligonucleotídicas usando a técnica de FISH-CFM. Após o cálculo da abundância relativa (porcentagem relativa), onde foi feita uma correlação com o número total (abundância, %) de bactérias enumeradas, com a Equação 2 aplicada:

$$\text{Índice prebiótico} = \% \text{Lab} + \% \text{Bif} - \% \text{Bac} - \% \text{Chis} - \% \text{Erec} \quad (2)$$

Onde: %Lab = abundância encontrada para Lab após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Lab no tempo zero; %Bif = abundância encontrada para Bif após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Bif no tempo zero; %Bac = abundância encontrada para Bac após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Bac no tempo zero; %Chis = abundância encontrada para Chis após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Chis no tempo zero; e %Erec = abundância encontrada para Erec após 24 ou 48 h – abundância encontrada para Erec no tempo zero.

A equação assume que um aumento na população de *Lactobacillus* – *Enterococcus* (hibridizado pela sonda Lab 158) e/ou *Bifidobacterium* (hibridizado pela sonda Bif 164) é um efeito positivo, enquanto um aumento na população de *Bacteroides* – *Prevotella* (hibridizado pela sonda Bac 303), *C. histolyticum* (hibridizado pela sonda Chis 150) e *E. rectale* – *C. coccoides* (hibridizado pela sonda Erec 482) é um efeito negativo. Mudanças na abundância desses grupos são inseridas na equação em relação aos seus níveis iniciais (abundância). Se um grupo bacteriano mostra diferenças negativas entre o tempo de fermentação e o tempo zero, o sinal (positivo ou negativo) imediatamente anterior a essa sonda é alterado na equação. Isso permite normalizar o uso da equação para um número variado de sondas. A obtenção de um valor de índice

prebiótico positivo indica um equilíbrio benéfico dos grupos bacterianos identificados na fermentação colônica induzida pelo substrato examinado e, consequentemente, um potencial de atividade prebiótica. Por sua vez, a obtenção de um valor de índice prebiótico negativo indica uma modulação indesejável da microbiota pelo substrato examinado.

2.6.5 Monitoramento de indicadores de atividade metabólica

A atividade metabólica da microbiota colônica em meios com MF digerida e FOS (controle positivo) e controle negativo (meio sem adição de fermento substrato) foi avaliada com medidas de valores de pH, teores de ácidos orgânicos, açúcares, perfil de fenólicos e atividade antioxidante no tempo zero e após 24 e 48 h de fermentação.

As análises de pH, açúcares e ácidos orgânicos foram realizadas de acordo com as metodologias descritas no tópico 2.5.2.

O perfil dos compostos fenólicos totais foi determinado por CLAE. Nessa análise, especificamente, foram analisados os seguintes compostos fenólicos: ácido gálico, ácido siríngico, ácido cafárico, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido p-coumárico, hesperitin, naringenina, catequina, miricetina, quercitina 3-glucosídeo, rutina, kaempferol 3-glucosídeo, trans-resveratrol, cis-resveratrol, epicatequina, epicatequina galato, epigallocatequina galato, procianidina A2, procianidina B1 e procianidina B2. Os compostos fenólicos individuais foram determinados seguindo a metodologia validada por Padilha et al. (2017), com adaptações, em gradiente e tempo de execução para quantificação de diferentes classes de fenólicos, utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência Agilent 1260 Infinity System LC (Agilent Technologies, Santa Clara – EUA) acoplado a um detector de arranjo de diodo (DAD) (G1315D). A coluna utilizada foi a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm) e a pré-coluna foi a Zorbax C18 (12,6 × 4,6 mm, 5 µm) (Zorbax, EUA). A temperatura do forno foi de 35 °C e o volume de injeção foi de 20 µL da amostra, previamente diluída na fase A, e filtrada através de membrana de 0,45 µm (Millex Millipore). O fluxo de solvente foi de 0,8 mL/min. O novo gradiente utilizado na separação foi de 0 a 5 min: 5% B; 5 a 14 min: 23% de B; 14 a 30 min: 50% de B; 30-33 min: 80% B, em que o solvente A era uma solução de ácido fosfórico (0,1 M, pH = 2,0) e o solvente B era metanol acidificado com 0,5% de H₃PO₄. Os dados foram processados usando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition (Agilent Technologies, Santa Clara-EUA). A detecção dos compostos foi realizada a 220, 280, 320, 360 e 520 nm, e a identificação e quantificação

foram feitas por comparação com padrões externos (Sigma-Aldrich). Os resultados foram expressos em mg de compostos fenólicos por 100 g da amostra (mg/100 g).

A atividade antioxidante foi determinada pelo método ABTS e DDPH de acordo com as metodologias descritas por Shehata et al. (2021) e Lee et al. (2020), respectivamente.

O radical cátion ABTS foi gerado pela reação de 5 mL de solução aquosa de ABTS (7 mM) e 88 µL de 140 mM (concentração final de 2,45 mM) de uma solução de persulfato de potássio. A mistura foi mantida no escuro a 29 °C por 14 h antes de ser utilizada e, em seguida, foi diluída com etanol para obter uma absorbância de $0,7 \pm 0,02$ unidades em 734 nm usando um espectrofotômetro UV-vis. Extratos de casca (30 µL) ou substâncias de referência (BHA), foram deixados para reagir com 3 mL da solução de radical ABTS azul-verde resultante em uma condição escura. A diminuição da absorbância em 734 nm foi medida no ponto final de 6 min. A capacidade de eliminação de ABTS do extrato foi comparada com a de BHA e a porcentagem de inibição calculada de acordo com a Equação 3:

$$\text{Atividade sequestrante do radical ABTS (\%)} = \frac{1}{4} \left[\frac{(\text{Valor absoluto controle} - \text{Valor absoluto amostra})}{(\text{valor absoluto})} \right] \times 100. \quad (3)$$

Onde o valor absoluto controle é a absorbância do radical ABTS p metanol; valor absoluto da amostra é a absorbância do radical ABTS p extrato da amostra/padrão.

A atividade sequestrante do radical DPPH foi medida usando um método colorimétrico. No total, 0,03 mL de amostras foram reagidos com 0,4 mL de solução de DPPH em metanol. A mistura de reação foi incubada no escuro por 25 min. A atividade de eliminação de DPPH foi medida em um comprimento de onda de 517 nm. Os controles foram preparados da mesma maneira usando etanol em vez da amostra. A atividade de eliminação do radical DPPH (%) foi determinada de acordo com a Equação 4:

$$\text{Atividade de eliminação do radical DPPH (\%)} = (1 - (\text{absorbância da amostra}/\text{absorbância do controle})) \times 100. \quad (4)$$

2.6 Análise estatística

Os ensaios foram feitos em triplicata em três repetições. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. O teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov foi executado para avaliar se os dados obtidos tinham distribuição normal. O teste de Levene foi executado para avaliar se os dados satisfaziam a suposição de homogeneidade (variância igual). Os dados foram submetidos a Teste t de Student ou análise de variância

(ANOVA unidirecional) seguido pelo teste de Tukey para determinar diferenças significativas ($p \leq 0,05$) usando GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1 Escores de atividade prebiótica da MF

Os escores da atividade prebiótica de FOS e da MF em *L. acidophilus* LA-05, *L. fermentum* 139 e *L. fermentum* 296 estão expostos na Tabela 1.

Observa-se escores superiores para a MF digerida, quando comparado com o FOS, para os três *Lactobacillus* testados. Resultado similar foi apresentado por Albuquerque et al. (2020) avaliando as propriedades prebióticas de farinhas de diferentes variedades de batata-doce. Escores prebióticos positivos encontrados nesse estudo, indica que a MF tem capacidade de estimular de forma seletiva espécies de *Lactobacillus*, ao invés de patógenos entéricos (*Escherichia coli* ATCC 8739 e *E. coli* ATCC 11775), assim como descrito por Ribeiro et al. (2020) e Massa et al. (2020).

3.2 Medidas da atividade metabólica probiótica

3.2.1 Enumeração de contagens de células viáveis de *Lactobacillus* e valores de pH

As contagens de células viáveis dos três *Lactobacillus* em meio de MF digerida, bem como com glicose, FOS e sem fonte de carbono, durante 48 h de fermentação são apresentados na Fig. 1 (A-C).

As contagens de células viáveis de *Lactobacillus* em diferentes meios de cultivo, variou de $> 6,2$ (tempo 0) – $7,24$ (tempo 48) log UFC/mL. Para todos os meios de cultivo e cepas de *Lactobacillus*, não houve fase lag clara e a duração da fase de crescimento exponencial foi de 12 h, resultando em aumentos de contagem > 2 log UFC/mL quando comparados com o número de contagem inicial. Aumento nas contagens > 2 log UFC/mL também foi relatado no estudo de Albuquerque et al. (2020) ao final de 48 h de fermentação analisando o efeito prebiótico. Ao final das 48 h de fermentação as contagens das cepas de *Lactobacillus* eram > 7 log UFC/mL.

Já foi demonstrado que tanto o consumo de fibras como de microrganismos probióticos, como os *Lactobacillus*, tem ação benéfica sobre o sistema imunológico, na regulação do peso corporal e atividade da microbiota e na regulação da flora intestinal, bem como, no metabolismo do açúcar e na prevenção de doenças cardiovasculares (Oh

et al., 2020; Liu et al., 2021; Ren et al., 2022). Essas funções estariam relacionadas à estimulação seletiva do crescimento e/ou atividade de bactérias benéficas promovida por esses ingredientes (Gibson et al., 2017). Neste estudo, foi verificado que o meio de cultivo contendo MF estimulou tão bem quanto o FOS o maior crescimento de *L. acidophilus* LA-05 (Fig. 1A) (7.87 ± 0.06), seguido de *L. fermentum* 139 (Fig. 1B) (7.70 ± 0.01) e *L. fermentum* 296 (Fig. 1C) (7.59 ± 0.02) após 48 h fermentação ($p \leq 0.05$), indicando que essas cepas utilizaram a farinha como fonte de carbono, o que torna essa matriz um ingrediente com fortes indicações para a alimentação humana, considerando esse efeito similar ao FOS, que é um prebiótico padrão. Muito provavelmente, a presença de fibras e compostos fenólicos podem aumentar a população de bactérias benéficas, em cactáceas, justificando o estímulo do crescimento das cepas de *Lactobacillus* usadas neste estudo (Bezerril et al., 2021; Gibson et al., 2017; Machado et al., 2021).

Quanto ao pH, observa-se que após 48 h de fermentação das cepas de *Lactobacillus* nos diferentes meios de cultivos houve redução deste parâmetro, com maiores quedas nos meios contendo FOS ou glicose e menores quedas no meio contendo MF ($p \leq 0.05$). Comportamento semelhante foi observado por Massa et al. (2020), indicando efeitos positivos do uso de MF como fonte de carbono em processos fermentativos, atuando como um ingrediente com boa estimulação do crescimento e metabolismo de cepas *Lactobacillus* probióticos.

3.2.2 Determinação do consumo de açúcar e produção de ácidos orgânicos

Os teores de ácidos orgânicos produzidos e o consumo de açúcares durante 48 h de fermentação de cepas de *Lactobacillus* em diferentes meios de cultivo estão expostos na Tabela 2.

Em geral, os teores de ácido láctico aumentaram significativamente após 48 h de fermentação em meios com glicose (20 g/L), frutooligossacarídeos (20 g/L) e farinha do cladódio do mandacaru digerida (20 g/L) inoculada com *L. acidophilus* LA-05, *L. fermentum* 139 e *L. fermentum* 296. Destaca-se também, valores superiores para esse ácido ($p \leq 0.05$) em meios com FOS ou glicose, independente da cepa de *Lactobacillus* após 24 ou 48 h de incubação.

A produção de ácido láctico é favorecida por processos fermentativos ou por rotas metabólicas, concomitantemente ao consumo de açúcares e depende da fonte de carbono presente no meio (Ahmad; Banat; Taher, 2020). Neste estudo foi verificado que após 48 h de fermentação houve maior consumo de glicose e frutose, com maior produção,

principalmente, de ácido lático e ácido acético, cuja quantidade dependeu da fonte de carbono presente no meio de cultivo ($p \leq 0,05$) (Tabela 2). Além disso, durante a fermentação houve queda do pH nos meios com glicose, FOS e MF contendo a maioria das cepas de *Lactobacillus*, indicando a produção de ácido lático (Candry et al., 2020).

De acordo com Albuquerque et al. (2020), o ácido acético é um metabólito formado por *Lactobacillus* no intestino. Em nosso estudo, durante a incubação de 48 h, ocorreu um aumento deste ácido nos meios de cultivo com FOS ou MF quando comparado com o tempo inicial (0 h) (Tabela 2). Esses dados confirmam que em processos fermentativos os metabólitos formados estão relacionados às atividades fisiológicas das bactérias (Kang et al., 2022).

Ainda foi mensurada a quantidade de ácido propiônico, e verificando-se que após 48 h de incubação os valores para este ácido foram superiores no meio de cultivo com MF quando comparado com o meio contendo FOS ($p \leq 0,05$), independente da cepa de *Lactobacillus* envolvida na fermentação. Este resultado pode estar associado pela presença de fibras da MF que possivelmente estimulou o metabolismo fermentativo das cepas em converter o ácido lático em ácido propiônico, esse ácido seria uma via de obtenção de ATP por bactérias, em que há uma produção de energia para sua multiplicação (Wang et al., 2020; Zhang et al., 2010).

3.3 Abundância relativa de população de bactérias durante a fermentação colônica

Na Fig. 2 é demonstrado o percentual de abundância relativa de população de *Lactobacillus/Enterococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides/Prevotella*, *Clostridium histolyticum* e *Eubacterium rectale/Clostridium coccooides* em meios de cultivo com MF, FOS (controle positivo) e controle negativo (meio sem substrato) durante 48 h de fermentação colônica *in vitro*.

Os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são probióticos que atuam no equilíbrio da flora intestinal (Abatenh et al., 2018). Desta forma, o aumento da abundância relativa destes, proporciona benefícios a saúde humana, com efeitos no intestino grosso (Jung et al., 2021). Neste estudo, após 48 h em meios com FOS e MF obteve-se 6,66% e 3,29% de *Lactobacillus* e 5,42% e 4,32% de *Bifidobacterium*, respectivamente.

Quando comparados com o tempo 0, verifica-se que o controle negativo diminuiu seu percentual, e FOS e MF houve um aumento do percentual para *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* após 48h (Fig 2), pois houve uma estimulação benéfica durante a

fermentação colônica para esses grupos de microrganismos, assim como relatado por Menezes et al. (2021).

Bacteroides/Prevotella tiveram a menor abundância relativa em meio com MF e controle após 48 h, quando comparado com as médias de 24 h de fermentação. Esse resultado é desejável, pois *bacteroides/Prevotella* são patógenos que podem levar a infecções e disbiose (Veloo et al., 2019). No entanto, acredita-se na ocorrência de um equilíbrio do microbioma intestinal, responsável pela saúde do sistema digestório (Neon et al., 2018).

Houve uma diminuição na abundância relativa de *C. histolyticum* em meios com MF (6,91 - 4,98%), FOS (6,10 - 5,96%) e controle negativo (6,51 - 6,04%) entre os tempos de 0 h e 24 h de fermentação colônica, respectivamente. Essa redução continuou após 48 h apenas para os meios com MF (3,59%) e controle negativo (5,56%) ($p \leq 0,05$). Estes resultados corroboram com o estudo de Albuquerque et al. (2021) que avaliaram diferentes variedades de raízes de batata-doce, em que houve uma diminuição da abundância relativa de *C. histolyticum* (patógeno), que possivelmente estimula efeitos seletivos em microrganismos da microbiota humana.

Os percentuais de abundância relativa para *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* nos tempos 0 h e 48 h foram superiores no meio controle negativo (7,87% e 5,04%), e inferiores para os meios com MF (7,70% e 4,01%) e FOS (7,10% e 4,26%), respectivamente. Esses resultados são desejáveis na perspectiva da saúde do hospedeiro (Medeiros et al., 2021), pois valores elevados estão associados a maiores concentrações de microrganismos patogênicos a microbiota intestinal (Tan & Nie, 2021).

De modo geral, observa-se que a MF e FOS estimularam seletivamente bactérias benéficas, importante para a saúde intestinal. Reforça-se, que uma microbiota saudável depende do equilíbrio entre as bactérias, pois majoritariamente o trato intestinal é colonizado por estas. Neste estudo, verificou-se que o consumo de MF pode contribuir para o melhor equilíbrio das bactérias comumente presentes na flora intestinal e, conseqüentemente, proporcionar benefícios a saúde do consumidor. No entanto, para manter o equilíbrio da microbiota intestinal é imprescindível a homeostase de alguns fatores, tais como: fatores genéticos, prática de exercício físico regular, não utilização de fumo e uso de drogas, e uma dieta rica em fibras, baixo teor de gordura e de proteína animal (Aya et al., 2021; Ellner et al., 2022; Fan & Pedersen, 2020; Rezende et al., 2021).

3.4 Determinação do índice prebiótico durante a fermentação colônica

Foram encontrados índices prebióticos positivos para o meio de fermentação colônica com MF e FOS em 24 e 48 h de fermentação colônica, enquanto índices prebióticos negativos foram encontrados para o meio de cultivo controle (Tabela 3).

Após 24 h de fermentação colônica, não houve diferença ($p > 0,05$) para os meios com MF (3,95) e FOS (4,92), destacando-se um índice prebiótico superior ($p \leq 0,05$) para a MF (7,53) quando comparado com o FOS (5,34) após 48 h de fermentação, comprovando que pode ocorrer efeitos estimuladores seletivos sobre o cólon. Índices prebióticos positivos encontrados para MF durante a fermentação colônica indicam a capacidade dessa matriz em causar modulação da microbiota intestinal tão bem quanto O FOS, prebiótico padrão largamente comercializado (Medeiros et al., 2021).

3.5 Determinação da atividade metabólica durante a fermentação colônica

Durante a fermentação colônica em meio de cultivo com MF digerida, FOS e controle negativo houve uma diminuição ($p \leq 0,05$) nos valores de pH após 24 e 48 h de fermentação (Tabela 4).

A diminuição do pH durante a fermentação colônica é considerada benéfica, indicando produção de ácidos orgânicos (Tabela 5) (Ayimbila & Keawsompong, 2018). Além disso, também foi relatado no estudo de Albuquerque et al. (2021) que esta redução é um fator limitante para *C. histolyticum*, corroborando com nossa pesquisa, cuja a abundância relativa da população desta bactéria diminuiu ao longo da fermentação colônica (Fig. 2).

Os teores de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta (propriônico, acético e butírico) e açúcares (glicose e frutose) em meios com MF, FOS e controle negativo durante a fermentação colônica *in vitro* com fezes humanas no tempo zero (linha de base) e após 24 e 48 h de incubação estão expostos na Tabela 5.

Os teores de ácido láctico, acético, butírico e propiônico foram superiores após 48 h de fermentação colônica ($p \leq 0,05$), em meios com FOS e MF (controle positivo) quando comparado com o controle negativo (Tabela 5).

Valores elevados de ácido láctico durante a fermentação colônica podem estar relacionados com a abundância relativa de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* elucidados nesse estudo, com destaque para o controle positivo (FOS e MF). A produção de ácidos orgânicos, como o ácido láctico, contribui para a inibição de crescimento de bactérias patogênicas no intestino, estes aderem às células epiteliais intestinais, atuando como

sistema de barreira contra patógenos (Gharbi et al., 2021; Liu et al., 2020). Em estudo realizado por Ruíz-García et al. (2022) com fermentação colônica de extrato de casca de uva, foi verificado um aumento da produção de ácido acético, sugerindo que esse extrato favoreceu a atividade metabólica da microbiota, assim como em nosso estudo. Essa intensa atividade metabólica (aumento da produção do ácido acético, butírico e propiônico) durante a fermentação colônica sugere que a MF possui potencial prebiótico, assim como relatado por Menezes et al. (2021).

Quanto aos teores de açúcares avaliados (glicose, frutose e maltose) (Tabela 5), foi observada uma redução dos teores de frutose e glicose em meios com MF e FOS ao longo do tempo de fermentação ($p \leq 0,05$). Como já relatado anteriormente, em processos fermentativos, pode ocorrer crescimento microbiano associado ao consumo de açúcar, diminuição do pH e produção de ácidos orgânicos (Leite et al., 2021).

Os teores de compostos fenólicos foram determinados durante a fermentação colônica *in vitro* com fezes humanas inoculadas com MF ou FOS, bem como em um controle negativo no tempo zero e após 24 e 48 h de incubação. Foram identificados três compostos fenólicos (ácido gálico, galato de epicatequina e trans-resveratrol) (Tabela 6).

Houve uma diminuição dos parâmetros referentes aos ácidos gálico e trans-resveratrol após 48 h de fermentação, quando comparado com o tempo 0 ($p \leq 0,05$), que poderia ser justificada pela baixa estabilidade que estes compostos possuem às condições alcalinas da fermentação colônica (Liu et al., 2020).

Em contrapartida, ocorreu um aumento da epicatequina galato ($p \leq 0,05$) após 48 horas de incubação em todos os meios de cultivo, com destaque para MF. Esses resultados possivelmente podem estar associados à mudança da abundância relativa da microbiota benéfica (Medeiros et al., 2021), impactando diretamente sobre o metabolismo desses compostos.

Vale salientar que em humanos, estes compostos fitoquímicos estão relacionados com sua biodisponibilidade e catabolismo. Desta forma, os metabólitos identificados também são passíveis de serem gerados no cólon humano após o consumo da MF ou FOS, sendo formados pela ação de bactérias de origem fecal humana (Phan et al., 2020).

A atividade antioxidante em meios com MF, FOS e controle negativo durante 48 h de fermentação colônica *in vitro* pode ser verificada na Tabela 6. Os ensaios utilizando os métodos de ABTS e FRAP demonstram ação de componentes com atividade antioxidante ou de radicais livres (Craft et al., 2012). Foi observado que, após 48 h de fermentação colônica *in vitro* em meios contendo FOS ou MF, os efeitos sobre as

atividades antioxidantes foram superiores ao controle negativo. Provavelmente, no processo de fermentação colônica a presença de FOS ou MF nos meios de cultivo estimularam a multiplicação das bactérias presentes na microbiota, corroborando com os dados de viabilidade celular, o que levou a uma maior metabolização dos compostos bioativos associados com a atividade antioxidante.

Na metodologia utilizada, a MF e o FOS passaram por uma digestão *in vitro*, a qual contribuiu na liberação dos compostos bioativos, justificado pela progressão da digestão gastrointestinal (Luzardo-Ocampo et al., 2017).

A atividade antioxidante é imprescindível na melhoria da qualidade de vida, pois inibe os radicais livres, prevenindo o envelhecimento, efeitos anti-inflamatórios, danos à pele e várias doenças (câncer, doenças pulmonares, cerebrais e cardiovasculares) (Neha et al., 2019; Rizzo, 2020), o que demonstra a importância da realização de estudos como esse, que propõe novos ingredientes com propriedades prebióticas tão boas quanto a de insumos vastamente já usados pela indústria de alimentos funcionais ou farmacêutica, a exemplo dos frutooligossacarídeos (FOS).

4. Conclusão

Os resultados deste estudo elucidam que a farinha do cladódio do mandacaru digerida e liofilizada, quando adicionada em meio de fermentação, apresentou atividade potencialmente prebiótica frente a cepas probióticas de *Lactobacillus*, com aumento de suas contagens, diminuição do pH e aumento da produção de ácido lático e AGCC, e consumo de açúcar, indicando intensas atividades metabólicas bacterianas sobre esses substratos. Foi demonstrado também, que a MF durante a fermentação colônica *in vitro* influenciou positivamente na abundância relativa de diferentes grupos bacterianos encontrados como parte da microbiota colônica humana. Além disso, também foi observada uma intensa atividade metabólica, com um aumento da produção de AGCG, diminuição do pH e consumo de açúcar, comprovando mais uma vez que a MF tem potencial de propriedades prebióticas similar ao FOS. Esses efeitos podem estar associados ao conteúdo de fibras alimentares, açúcares, compostos fenólicos e antioxidantes da MF, caracterizando-a como um ingrediente potencialmente prebiótico a ser inserida na alimentação humana, em formulações ou suplementos alimentares.

Declaration of competing interest

Authors declare no conflict of interest.

Funding: This research was partially funded by CAPES (Brazil), grant number 001.

Referencias

- Abatenh, E., Gizaw, B., Tsegay, Z., Tefera, G., & Aynalem, E. (2018). Health benefits of probiotics. *J Bacteriol Infec Dis*, 2.
- Ahmad, A., Banat, F., & Taher, H. (2020). A review on the lactic acid fermentation from low-cost renewable materials: Recent developments and challenges. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101138.
- Albuquerque, T. M. R., Borges, C. W. P., Cavalcanti, M. T., dos Santos Lima, M., Magnani, M., & de Souza, E. L. (2020). Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) roots cultivated in Northeastern Brazil. *Food Bioscience*, 36, 100614.
- Albuquerque, T. M. R., Garcia, E. F., de Oliveira Araújo, A., Magnani, M., Saarela, M., & de Souza, E. L. (2018). *In vitro* characterization of *Lactobacillus* strains isolated from fruit processing by-products as potential probiotics. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(4), 704-716.
- Albuquerque, T. M. R., Magnani, M., Lima, M. D. S., Castellano, L. R. C., & de Souza, E. L. (2021). Effects of digested flours from four different sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) root varieties on the composition and metabolic activity of human colonic microbiota *in vitro*. *Journal of Food Science*, 86(8), 3707-3719.
- Almeida, M. M. V., dos Santos Araújo, F., Andrade, A. P., Aquino, P. G. V., de Lima Valença, R., & Bruno, R. D. L. A. (2022). Nutritional Potential and Bioactive Compounds in *Cereus jamacaru* DC: An Multifaceted Cactus From Brazilian Semiarid.
- AOAC, 2019. Official methods of analysis, 21st Edn; 2011.14; Cha 50.1.37; vol 3; Pg.58.
- Araújo, D. F. D. S., Oliveira, M. E. G. D., Carvalho, P. O. A. A. D., Tavares, E. D. A., Guerra, G. C. B., Queiroga, R. D. C. R. D. E., ... & Melo, N. M. D. C. (2021). Food Plants in the Caatinga. In *Local Food Plants of Brazil* (pp. 225-250). Springer, Cham.
- Aya, V., Flórez, A., Perez, L., & Ramírez, J. D. (2021). Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review. *PLoS One*, 16(2), e0247039.
- Ayimbila, F., & Keawsompong, S. (2018). In vitro Starch Digestion and Colonic Fermentation of Thai Jasmine Rice. *Starch-Stärke*, 70(9-10), 1800049.
- Bezerril, F. F., de Souza, M. D. F. V., Lima, M. D. S., Pacheco, M. T. B., de Carvalho, P. O. A. A., Sampaio, K. B., ... & Queiroga, R. D. C. R. D. E. (2021). Physicochemical characteristics and bioactive compounds of the Xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) cactus from Caatinga Brazilian: are they nutritive and functional?. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(4), 3284-3297.

- Candry, P., Radić, L., Favere, J., Carvajal-Arroyo, J. M., Rabaey, K., & Ganigué, R. (2020). Mildly acidic pH selects for chain elongation to caproic acid over alternative pathways during lactic acid fermentation. *Water Research*, 186, 116396.
- Coelho, E. M., da Silva Padilha, C. V., Miskinis, G. A., de Sá, A. G. B., Pereira, G. E., de Azevêdo, L. C., & dos Santos Lima, M. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160-167.
- Conterno, L., Martinelli, F., Tamburini, M., Fava, F., Mancini, A., Sordo, M., ... & Tuohy, K. (2019). Measuring the impact of olive pomace enriched biscuits on the gut microbiota and its metabolic activity in mildly hypercholesterolaemic subjects. *European journal of nutrition*, 58(1), 63-81.
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148-173.
- Ellner, C., Wessels, A. G., & Zentek, J. (2022). Effects of Dietary Cereal and Protein Source on Fiber Digestibility, Composition, and Metabolic Activity of the Intestinal Microbiota in Weaner Piglets. *Animals*, 12(1), 109.
- Fan, Y., & Pedersen, O. (2021). Gut microbiota in human metabolic health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 55-71.
- Garcia, E. F., Luciano, W. A., Xavier, D. E., da Costa, W. C., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., ... & de Souza, E. L. (2016). Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *Frontiers in microbiology*, 7, 1371.
- Gharbi, Y., Fhoula, I., Ruas-Madiedo, P., Afef, N., Boudabous, A., Gueimonde, M., & Ouzari, H. I. (2019). In-vitro characterization of potentially probiotic *Lactobacillus* strains isolated from human microbiota: interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line HT29. *Annals of Microbiology*, 69(1), 61-72.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., ... & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 14(8), 491-502.
- Guarrera, P. M., & Savo, V. (2016). Wild food plants used in traditional vegetable mixtures in Italy. *Journal of ethnopharmacology*, 185, 202-234.
- Guergoletto, K. B., Costabile, A., Flores, G., Garcia, S., & Gibson, G. R. (2016). *In vitro* fermentation of juçara pulp (*Euterpe edulis*) by human colonic microbiota. *Food Chemistry*, 196, 251-258.

- He, M., & Shi, B. (2017). Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics. *Cell & bioscience*, 7(1), 1-14.
- Hu, J. L., Nie, S. P., Li, C., & Xie, M. Y. (2013). *In vitro* fermentation of polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. by human fecal microbiota. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 384-392.
- Jung, S. J., Hwang, J. H., Park, E. O., Lee, S. O., Chung, Y. J., Chung, M. J., ... & Chae, S. W. (2021). Regulation of alcohol and acetaldehyde metabolism by a mixture of *Lactobacillus* and *bifidobacterium* species in human. *Nutrients*, 13(6), 1875.
- Kang, J., Zhou, X., Zhang, W., Pei, F., & Ge, J. (2022). Análise transcriptômica da síntese de bacteriocinas e resposta ao estresse em *Lactobacillus paracasei* HD1. 7 sob estresse de ácido acético. *LWT*, 154, 112897.
- Lee, S. Y., Lee, S. J., Yim, D. G., & Hur, S. J. (2020). Changes in the content and bioavailability of onion quercetin and grape resveratrol during *in vitro* human digestion. *Foods*, 9(6), 694.
- Leite, A. K., Santos, B. N., Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2021). Cashew apple juice containing gluco-oligosaccharides, dextran, and tagatose promotes probiotic microbial growth. *Food Bioscience*, 42, 101080.
- Liu, C., Kolida, S., Charalampopoulos, D., & Rastall, R. A. (2020). An evaluation of the prebiotic potential of microbial levans from *Erwinia* sp. 10119. *Journal of Functional Foods*, 64, 103668.
- Liu, H., Zeng, X., Huang, J., Yuan, X., Wang, Q., & Ma, L. (2021). Dietary fiber extracted from pomelo fruitlets promotes intestinal functions, both *in vitro* and *in vivo*. *Carbohydrate Polymers*, 252, 117186.
- Luzardo-Ocampo, I., Campos-Vega, R., Gaytán-Martínez, M., Preciado-Ortiz, R., Mendoza, S., & Loarca-Piña, G. (2017). Bioaccessibility and antioxidant activity of free phenolic compounds and oligosaccharides from corn (*Zea mays* L.) and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) chips during *in vitro* gastrointestinal digestion and simulated colonic fermentation. *Food Research International*, 100, 304-311.
- Machado, A.D.G., Pacheco, M. T. B., do Egypto Queiroga, R. D. C. R., Cavalcante, L. M., Bezerril, F. F., Ormenese, R. D. C. S. C., ... & de Oliveira, M. E. G. (2021). Nutritional, physicochemical and sensorial acceptance of functional cookies enriched with xiquexique (*Pilosocereus gounellei*) flour. *PloS one*, 16(8), e0255287.
- Massa, N. M. L., Menezes, F. N. D. D., de Albuquerque, T. M. R., de Oliveira, S. P. A., dos Santos Lima, M., Magnani, M., & de Souza, E. L. (2020). Effects of digested jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) by-product on growth and metabolism of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* indicate prebiotic properties. *LWT*, 131, 109766.
- Medeiros, V. P. B., de Souza, E. L., de Albuquerque, T. M. R., da Costa Sassi, C. F., dos Santos Lima, M., Sivieri, K., ... & Magnani, M. (2021). Freshwater microalgae

biomasses exert a prebiotic effect on human colonic microbiota. *Algal Research*, 60, 102547.

Menezes, F. N. D. D., de Melo, F. H. C., Vieira, A. R. S., Almeida, É. T., Lima, M. S., Aquino, J. S., ... & de Souza, E. L. (2021). Acerola (*Malpighia glabra* L.) and guava (*Psidium guayaba* L.) industrial processing by-products stimulate probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* growth and induce beneficial changes in colonic microbiota. *Journal of Applied Microbiology*, 130(4), 1323-1336.

Meyer, D. (2015). Health benefits of prebiotic fibers. *Advances in food and nutrition research*, 74, 47-91.

Müller, M., Canfora, E. E., & Blaak, E. E. (2018). Gastrointestinal transit time, glucose homeostasis and metabolic health: modulation by dietary fibers. *Nutrients*, 10(3), 275.

Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European journal of medicinal chemistry*, 178, 687-704.

Neoh, H. M., Osman, M. A., Ab Mutalib, N. S., Chin, S. F., Ang, M. Y., Mazlan, L., ... & Jamal, R. (2018). IDDF2018-ABS-0199 Gut microbiome profiling of malaysians: A snapshot.

Oh, J. K., Amoranto, M. B. C., Oh, N. S., Kim, S., Lee, J. Y., Oh, Y. N., ... & Kang, D. K. (2020). Synergistic effect of *Lactobacillus gasseri* and *Cudrania tricuspidata* on the modulation of body weight and gut microbiota structure in diet-induced obese mice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(14), 6273-6285.

Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Gancarz, M., & Szymańska, J. (2021). Role of gut microbiota, probiotics and prebiotics in the cardiovascular diseases. *Molecules*, 26(4), 1172.

Owolabi, I. O., Dat-arun, P., Yupanqui, C. T., & Wichienhot, S. (2020). Gut microbiota metabolism of functional carbohydrates and phenolic compounds from soaked and germinated purple rice. *Journal of Functional Foods*, 66, 103787.

Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & dos Santos Lima, M. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food chemistry*, 228, 106-115.

Palframan, R., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2003). Development of a quantitative tool for the comparison of the prebiotic effect of dietary oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology*, 37(4), 281-284.

Phan, A. D. T., Williams, B. A., Netzel, G., Mikkelsen, D., D'Arcy, B. R., & Gidley, M. J. (2020). Independent fermentation and metabolism of dietary polyphenols associated with a plant cell wall model. *Food & Function*, 11(3), 2218-2230.

Plamada, D., & Vodnar, D. C. (2022). Polyphenols—Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics. *Nutrients*, *14*(1), 137.

Prasad, K. N., & Bondy, S. C. (2019). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre*, *17*, 100170.

Ren, M., Li, H., Fu, Z., & Li, Q. (2022). Centenarian-Sourced *Lactobacillus casei* Combined with Dietary Fiber Complex Ameliorates Brain and Gut Function in Aged Mice. *Nutrients*, *14*(2), 324.

Rezende, E. S. V., Lima, G. C., & Naves, M. M. V. (2021). Dietary fibers as beneficial microbiota modulators: A proposed classification by prebiotic categories. *Nutrition*, *89*, 111217.

Ribeiro, T. S., Sampaio, K. B., Menezes, F. N. D. D., de Assis, P. O. A., dos Santos Lima, M., de Oliveira, M. E. G., ... & do Egypto, R. D. C. R. (2020). *In vitro* evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. *3 Biotech*, *10*(10), 1-9.

Rizzo, G. (2020). The antioxidant role of soy and soy foods in human health. *Antioxidants*, *9*(7), 635.

Rodrigues, D., Walton, G., Sousa, S., Rocha-Santos, T. A., Duarte, A. C., Freitas, A. C., & Gomes, A. M. (2016). *In vitro* fermentation and prebiotic potential of selected extracts from seaweeds and mushrooms. *LWT*, *73*, 131-139.

Ruíz-García, Y., Beres, C., Chávez, D. W., Pereira, D. C. D. S., Santiago, M. C., Godoy, R. D. O., ... & Cabral, L. M. (2022). *In vitro* digestion and colonic fermentation of an Alicante Bouschet (*Vitis vinifera* L.) skin extract. *LWT*, 113083.

Shehata, M. G., Awad, T. S., Asker, D. H., Abd El-Aziz, N. M., & Youssef, M. M. (2021). Antioxidant and antimicrobial activities and UPLC-ESI-MS/MS polyphenolic profile of sweet orange peel extracts. *Current research in food science*.

Soares, L. M. N., Silva, G. M., Alonso Buriti, F. C., & Alves, H. S. (2021). *Cereus jamacaru* DC (Mandacaru): a promising native Brazilian fruit as a source of nutrients and bioactives derived from its pulp and skin. *Plant Foods for Human Nutrition*, *76*(2), 170-178.

Sousa, S., Pinto, J., Pereira, C., Malcata, F. X., Pacheco, M. B., Gomes, A. M., & Pintado, M. (2015). *In vitro* evaluation of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour prebiotic potential. *Food and Bioproducts Processing*, *95*, 96-105.

Tan, H., & Nie, S. (2021). Functional hydrocolloids, gut microbiota and health: picking food additives for personalized nutrition. *FEMS Microbiology Reviews*, *45*(4), fuaa065.

Veloo, A. C. M., Baas, W. H., Haan, F. J., Coco, J., & Rossen, J. W. (2019). Prevalence of antimicrobial resistance genes in *Bacteroides spp.* and *Prevotella spp.* Dutch clinical isolates. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(9), 1156-e9.

Wang, X., Kristo, E., & LaPointe, G. (2020). Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids*, 100, 105453.

Wang, X., Kristo, E., & LaPoite, G. (2020). Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids*, 100, 105453.

Zhang, C., Brandt, M. J., Schwab, C., & Gänzle, M. G. (2010). Propionic acid production by cofermentation of *Lactobacillus buchneri* and *Lactobacillus diolivorans* in sourdough. *Food microbiology*, 27(3), 390-395.

Zhang, S., Hu, H., Wang, L., Liu, F., & Pan, S. (2018). Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. *Food chemistry*, 244, 232-237.

Figure captions

Fig. 1 – Contagens viáveis (—) de *L. acidophilus* LA-05 (A), *L. fermentum* 139 (B) e *L. fermentum* 296 (C) e pH (---) em meio com glicose (20 g/L, Δ), FOS (20 g/L, ○), MF (20 g/L, □) ou sem fonte de carbono (♦) durante um cultivo de 48 h.

Fig. 2 – Abundância relativa de diferentes grupos bacterianos mensurados por hibridização *in situ* de fluorescência combinada com Citometria de fluxo multiparamétrica em sistema de fermentação colônica *in vitro* com farinha digerida do cladódio do mandacaru e frutooligossacarídeos (FOS), bem como, controle negativo (sem adição de substrato fermentável) inoculado com inóculo fecal humano, no tempo zero (basal) e após 24 e 48 horas de incubação (37 °C).

Table 1. Escores da atividade prebiótica (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) de frutooligossacarídeos (FOS) e farinha do cladódio do mandacaru (MF) digerida em *L. acidophilus* LA-05, *L. fermentum* 139 e *L. fermentum* 296.

Isolados	FOS	MF
<i>L. acidophilus</i> LA-05	0,69 $\pm$ 0,01 ^{Cb}	0,73 $\pm$ 0,01 ^{Ba}
<i>L. fermentum</i> 139	0,85 $\pm$ 0,01 ^{Ab}	0,91 $\pm$ 0,01 ^{Aa}
<i>L. fermentum</i> 296	0,79 $\pm$ 0,01 ^{Bb}	0,91 $\pm$ 0,02 ^{Aa}

a – b: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma linha indicam uma diferença ($p \leq 0,05$) entre FOS e MF para o mesmo isolado, com base em Teste t de Student.

A – C: Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna denotam uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) para a mesma amostra entre diferentes isolados, baseado no teste de Tukey.

Glicose	Controle	0,09 ±0,01 ^{Ba}	0,05 ±0,03 ^{Cb}	0,01 ±0,01 ^{Cc}	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Glicose	11,57 ±0,03 ^{Aa}	6,92 ±0,01 ^{Ab}	0,89 ±0,05 ^{Ac}	14,07 ±0,02 ^{Aa}	0,76 ±0,06 ^{Ab}	0,04 ±0,05 ^c	13,83 ±0,06 ^{Aa}	5,08 ±0,03 ^{Ab}	3,44 ±0,01 ^{Ac}
	FOS	1,00 ±0,07 ^{Ba}	0,81 ±0,08 ^{Bb}	0,64 ±0,03 ^{Bc}	1,34 ±0,05 ^{Ba}	0,12 ±0,03 ^{Bb}	0,01 ±0,00 ^c	0,40 ±0,01 ^{Ba}	0,10 ±0,05 ^{Bb}	0,04 ±0,01 ^{Bc}
	MF	0,36 ±0,03 ^{Ca}	0,33 ±0,01 ^{Cb}	0,06 ±0,03 ^{Cc}	0,15 ±0,01 ^{Ca}	0,06 ±0,06 ^{Cb}	0,01 ±0,06 ^b	0,28 ±0,03 ^{Ba}	0,08 ±0,02 ^{Bb}	0,03 ±0,01 ^{cBc}
Frutose	Controle	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Glicose	0,27 ±0,03 ^B	< LOD	< LOD	0,06 ±0,01 ^C	< LOD	< LOD	0,07 ±0,02	< LOD	< LOD
	FOS	6,06 ±0,04 ^{Aa}	5,22 ±0,01 ^{Ab}	2,19 ±0,05 ^{Ac}	5,26 ±0,01 ^{Aa}	2,70 ±0,02 ^{Ab}	0,01 ±0,04 ^{Bc}	4,32 ±0,05 ^{Aa}	3,58 ±0,03 ^{Ab}	0,13 ±0,01 ^c
	MF	0,09 ±0,01 ^{Ba}	0,23 ±0,01 ^{Bb}	0,16 ±0,03 ^{Bc}	0,15 ±0,05 ^{Ba}	0,07 ±0,02 ^{Bb}	0,05 ±0,03 ^{Ac}	0,09 ±0,02 ^{Ba}	0,02 ±0,04 ^{Bb}	0,10 ±0,02 ^c

<LOD: abaixo do limite de detecção.

A - D: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam uma diferença ($p \leq 0,05$) entre os meios de cultivo, com base em Teste t de Student ou Tukey.

a – c: Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha denotam uma diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tempos de incubação para a mesma cepa de *Lactobacillus*, baseado no teste de Tukey.

Table 3. Índice prebiótico (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) da MF, frutooligossacarídeos (FOS) e controle negativo (sem substrato) após 24 e 48 horas de fermentação colônica *in vitro*.

Amostras	Índice prebiótico	
	24 h	48 h
MF	3,95 $\pm$ 0,04 ^{Ab}	7,53 $\pm$ 0,05 ^{Aa}
FOS	4,92 $\pm$ 0,02 ^{Ab}	5,36 $\pm$ 0,03 ^{Ba}
Controle	-0,90 ^{Ba}	-0,45 ^{Cb}

a-b: Different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$), based on Student's t test. A-C: Different superscript small letters in the same column denote difference ($p \leq 0.05$) among the different treatments, based on Tukey's test.

Table 4. Determinação de pH (média $\pm$ desvio padrão, n = 3) em meios com MF digeridas, frutooligossacarídeos (FOS) e controle negativo (sem adição de substrato fermentável) no tempo zero e após 24 e 48 horas de fermentação colônica *in vitro*

Amostras	Valores de pH		
	0 h	24 h	48 h
MF	7,83 $\pm$ 0,15 ^{Aa}	5,87 $\pm$ 0,18 ^{Ab}	4,80 $\pm$ 0,11 ^{Ac}
FOS	7,57 $\pm$ 0,07 ^{Ba}	4,21 $\pm$ 0,09 ^{Bb}	3,52 $\pm$ 0,12 ^{Bc}
Controle	7,79 $\pm$ 0,13 ^{ABa}	5,78 $\pm$ 0,033 ^{Ab}	4,73 $\pm$ 0,03 ^{Ac}

a-b: Different superscript capital letters in the same row denote differences ($p \leq 0.05$), based on Student's t test. A-C: Different superscript small letters in the same column denote difference ($p \leq 0.05$) among the different treatments, based on Tukey's test.

Table 5. Teores de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) e açúcares (glicose e frutose) (média ± desvio padrão, n = 3) durante a fermentação colônica *in vitro* com fezes humanas inoculadas com farinha do cladódio do mandacaru (MF) e frutooligosacarídeos (FOS), bem como em um controle negativo (sem substrato fermentável adicionado) no tempo zero (linha de base) e após 24 e 48 horas de incubação.

Parâmetros	Amostras	Tempo de incubação		
		0 h	24 h	48 h
Ácidos orgânicos (g/L)				
Ácido láctico	Controle	0,50 ±0,02 ^{Bc}	0,60 ±0,03 ^{Bb}	0,86 ±0,07 ^{Ca}
	FOS	0,46 ±0,01 ^{Cc}	3,70 ±0,05 ^{Ab}	5,51 ±0,10 ^{Aa}
	MF	0,59 ±0,01 ^{Ac}	0,74 ±0,03 ^{Bb}	2,93 ±0,09 ^{Ba}
Ácido acético	Controle	0,34 ±0,07 ^{Ba}	0,30 ±0,01 ^{Ba}	0,20 ±0,01 ^{Cb}
	FOS	0,26 ±0,03 ^{Bc}	0,47 ±0,07 ^{Bb}	0,67 ±0,04 ^{Ba}
	MF	0,64 ±0,03 ^{Ab}	1,04 ±0,09 ^{Aa}	1,10 ±0,10 ^{Aa}
Ácido butírico	Controle	0,27 ±0,01 ^{Ba}	0,26 ±0,03 ^{Ba}	0,14 ±0,01 ^{Cb}
	FOS	0,22 ±0,04 ^{Bc}	0,30 ±0,02 ^{Bb}	0,36 ±0,01 ^{Ba}
	MF	0,35 ±0,06 ^{Ab}	0,37 ±0,01 ^{Ab}	0,58 ±0,17 ^{Aa}
Ácido propiônico	Controle	0,21 ±0,01 ^{Bc}	0,58 ±0,01 ^{Bb}	0,62 ±0,01 ^{Ba}
	FOS	0,15 ±0,02 ^{Bc}	0,77 ±0,05 ^{Bb}	1,90 ±0,07 ^{Aa}
	MF	1,56 ±0,03 ^{Ac}	1,91 ±1,02 ^{Ab}	2,36 ±0,09 ^{Aa}
Açúcares (g/L)				
Glicose	Controle	0,01 ±0,01 ^{Ca}	0,02 ±0,01 ^{Ca}	0,01 ±0,00 ^{Ba}
	FOS	1,39 ±0,07 ^{Aa}	0,10 ±0,01 ^{Bb}	0,04 ±0,01 ^{Ac}
	MF	1,06 ±0,01 ^{Ba}	0,16 ±0,01 ^{Ab}	0,06 ±0,02 ^{Ac}

Frutose	Controle			
	FOS	0,03 ±0,02 ^{Ca}	0,02 ±0,01 ^{Ca}	0,01 ±0,01 ^{Ca}
		14,08 ±0,30 ^{Aa}	10,44 ±1,10 ^{Ab}	5,99 ±0,09 ^{Ac}
	MF	0,33 ±0,01 ^{Ba}	0,17 ±0,03 ^{Bb}	0,05 ±0,00 ^{Bc}

A - D: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam uma diferença ($p \leq 0,05$), com base em Teste t de Student.
a – c: Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha denotam uma diferença significativa ($P = 0,05$) entre os tempos de incubação para o mesmo meio de cultivo, baseado no teste de Tukey.

Table 6. Teores de compostos fenólicos (mg/L, média $\pm$ desvio padrão, n = 3) e atividade antioxidante durante (% , média $\pm$ desvio padrão, n = 3) da fermentação colônica *in vitro* com fezes humanas inoculadas com MF digerida e frutooligossacarídeos (FOS), bem como em um controle negativo (sem substrato fermentável adicionado) no tempo zero (linha de base) e após 24 e 48 horas de incubação.

Parâmetros (g/L)	Amostras	Tempo de incubação		
		0 h	24 h	48 h
Ácido gálico	Controle	3,92 $\pm$ 0,03 ^{Ba}	3,87 $\pm$ 0,04 ^{Bb}	1,89 $\pm$ 0,01 ^{Bc}
	FOS	9,57 $\pm$ 0,10 ^{Aa}	4,00 $\pm$ 0,05 ^{Bb}	1,13 $\pm$ 0,06 ^{Cc}
	MF	9,48 $\pm$ 0,39 ^{Aa}	8,81 $\pm$ 0,10 ^{Ab}	5,91 $\pm$ 0,09 ^{Ac}
Galato de epicatequina	Controle	1,81 $\pm$ 0,05 ^{Bc}	2,52 $\pm$ 0,09 ^{Bb}	4,73 $\pm$ 0,10 ^{Ca}
	FOS	2,04 $\pm$ 0,03 ^{Bc}	2,82 $\pm$ 0,02 ^{Ab}	5,17 $\pm$ 1,00 ^{Ba}
	MF	2,56 $\pm$ 0,03 ^{Ab}	2,67 $\pm$ 0,01 ^{Bb}	5,70 $\pm$ 0,03 ^{Aa}
Trans- resveratrol	Controle	1,32 $\pm$ 0,50 ^{Ba}	1,00 $\pm$ 0,10 ^{Cb}	1,01 $\pm$ 0,60 ^{Ab}
	FOS	7,43 $\pm$ 0,90 ^{Ab}	9,82 $\pm$ 0,50 ^{Aa}	1,14 $\pm$ 0,07 ^{Ac}
	MF	1,21 $\pm$ 0,04 ^{Ba}	1,23 $\pm$ 0,03 ^{Ba}	1,10 $\pm$ 0,04 ^{Ac}
Atividade antioxidante (%)				
ABTS ¹	Controle	83,38 $\pm$ 0,09 ^{Bc}	88,63 $\pm$ 0,05 ^{Aa}	70,50 $\pm$ 0,02 ^{Bb}
	FOS	84,75 $\pm$ 0,04 ^{Bc}	88,75 $\pm$ 0,07 ^{aA}	85,25 $\pm$ 0,06 ^{Ab}
	MF	89,13 $\pm$ 0,03 ^{Aa}	88,50 $\pm$ 0,05 ^{Ab}	85,38 $\pm$ 0,03 ^{Ac}
DPPH ¹	Controle	29,49 $\pm$ 0,02 ^{Bc}	54,46 $\pm$ 0,05 ^{Ba}	43,29 $\pm$ 0,07 ^{Cb}
	FOS	62,33 $\pm$ 0,03 ^{Ab}	74,62 $\pm$ 0,06 ^{Aa}	54,29 $\pm$ 0,02 ^{Bc}
	MF	63,20 $\pm$ 0,04 ^{Ab}	75,67 $\pm$ 0,062 ^{Aa}	58,72 $\pm$ 0,09 ^{Ac}

A - C: Diferentes letras maiúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam uma diferença ($p \leq 0,05$), baseado no teste de Tukey. a - c: Diferentes letras minúsculas sobrescritas na mesma linha denotam uma diferença significativa entre os tempos e incubação ($p \leq 0,05$) para o mesmo meio de cultivo, baseado no teste de Tukey. ¹Resultado expresso em percentual (%).

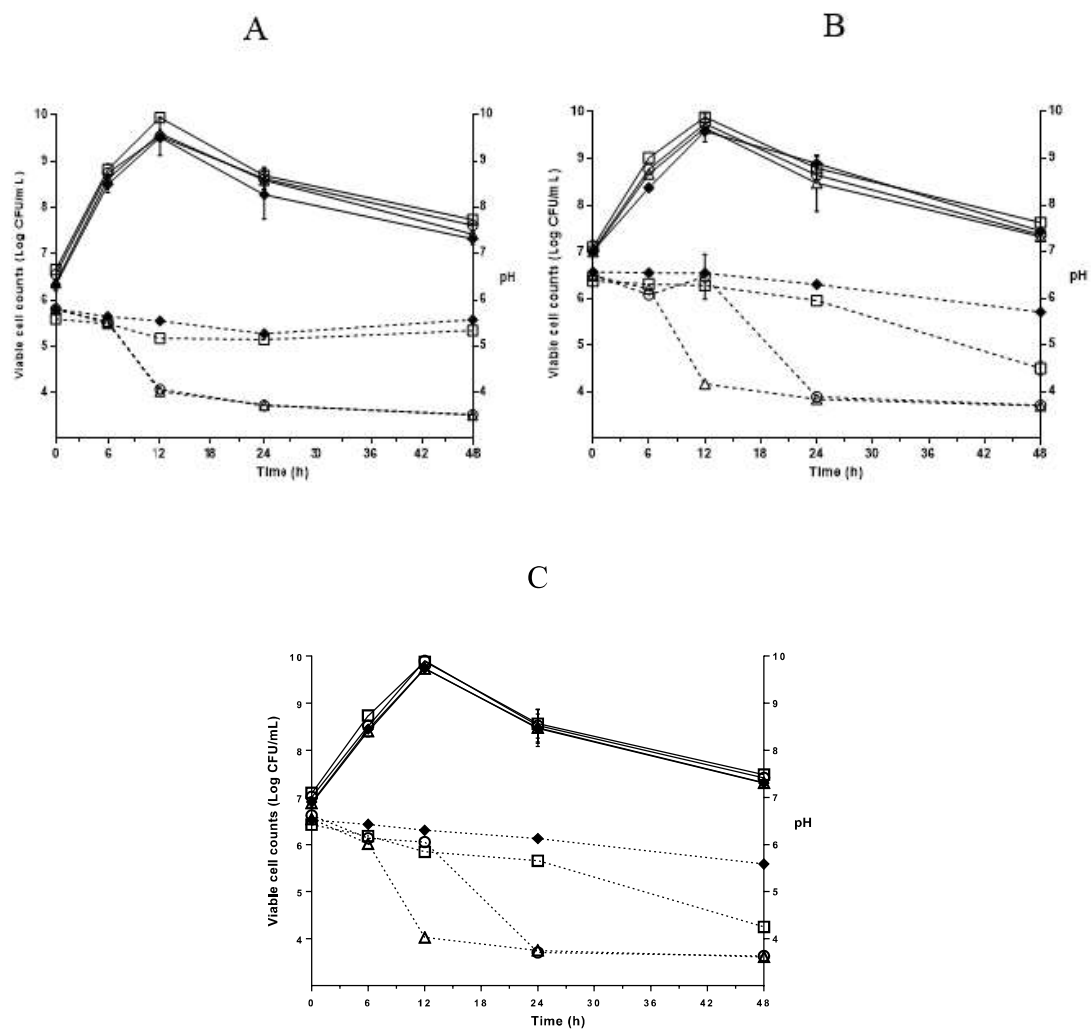


Fig. 1.

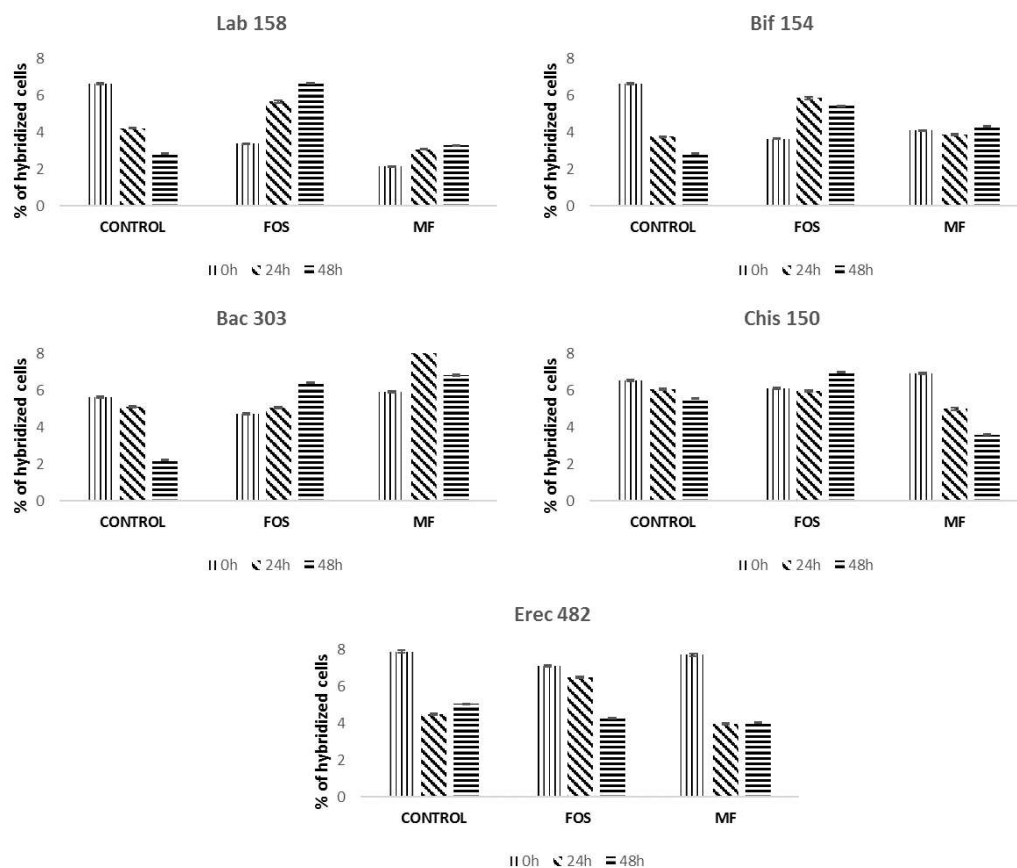


Fig. 2.

ARTIGO 3

Goat yogurt supplemented with tamarind jelly and mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.) cladode flour: Technological, nutritional, microbiological, and antioxidant effects

Abstract

In this study we elaborated goat yogurts supplemented with mandacaru cladode flour (MCF), and flavored with tamarind jelly (TG), and characterized their technological, nutritional, bioactive, and microbiological properties. Four goat yogurt formulations were processed: CY (control yogurt); YJ (yogurt flavored with tamarind jelly at 10%); YJF1% (yogurt flavored with tamarind jelly at 10% and MCF at 1%) and YJF2% (yogurt flavored with tamarind jelly at 10% and MCF at 2%). These were characterized at 1, 14, and 28 days of cold storage ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). We observed reductions in both syneresis and apparent viscosity during storage, with greater reductions for the YJ, YJF1%, and YJF2% formulations when compared to the controls. During storage, there were reductions in both pH and sugar contents with concurrent increases in acidity. At 28 days, higher counts for *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* were observed in the YJF2% yogurt, possibly due to a prebiotic effect that higher MCF concentrations presented to the *starter culture*. Fourteen phenolic compounds were detected, emphasizing myricetin and kaempferol 3-glucoside, found mainly in the formulations supplemented with the MCF. At 28 days of storage, the YJF2% yogurt presented higher levels of total phenolic compounds and flavonoids, as well as higher antioxidant activity (ABTS). Together with tamarind jelly, mandacaru cladode flour can be used to produce nutritional and functional activities in goat yogurts without adversely affecting their technological characteristics; adding to the product's value.

Key words: Cactaceae; Goat dairy product; nutritional composition; apparent viscosity; bioactive compounds.

1. Introduction

The Brazilian semiarid region is characterized by being a region with agricultural production; supporting cattle and goats (Aquino et al., 2016). Consequently, the milk of these animals has become an important product on the local markets (Clark; García, et al., 2020). Goat milk stands out in particular for its nutritional benefits to human health. When compared to bovine milk, goat milk presents higher short-chain fatty acid contents; minerals such as zinc, iron, and magnesium; antibacterial compounds; proteins (β -casein, k-casein and α -casein), with lower amounts of α -casein, (making the milk less allergenic); and higher percentages of vitamins A, C, and E (Elzeini et al., 2020; Safdar et al., 2020; Santos et al. 2020; Verruck et al., 2019)

Although its nutritional value is relevant and already defined in studies, goat milk continues to suffer from low consumer demand, either because of its cost or its peculiar odor and flavor (Marius et al., 2021). Its sensory characteristics are attributed to its constitution of capric, caprylic, and caproic acids (Costa et al., 2017). Improving manufacturing techniques for derivatives of this matrix; through application of technological fermentation processes, incorporation of fruits and fruit jellies as natural flavorings, and enrichment with alternative - sustainable ingredients, such as cactus flour has become common (Bezzeril et al., 2020; Dantas et al., 2022).

Cereus jamacaru DC., popularly known as *mandacaru*, presents remarkable functional characteristics, with high nutritional value, containing: carbohydrates, fiber, vitamins, and antioxidant compounds (Dutra et al., 2019; Pereira et al., 2013; Silveira, 2020). Tamarind jelly is also an excellent alternative to chemical additives in goat dairy processing, and brings excellent bioactive and functional potentials as already reported in the literature (Cao et al., 2017). Tamarind jelly may improve sensory acceptance of fermented goat milk products, while adding technological and nutritional value.

Various dairy products are produced from goat's milk such as cheeses, curd, sweets, and yogurts (Pal et al., 2017; Shabbir et al., 2019). Yogurt is a viable matrix for insertion of functional ingredients, and its fermentation is performed with proto-symbiotic *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; cultures that contribute to the storage characteristics of the final product (FAO, 2011).

Elaboration of goat's milk products supplemented with mandacaru cladode flour is a promising alternative that can contribute to the growth and economic development of the semiarid region. In view of the above, the objective of this study was to elaborate formulations of goat yogurts flavored with tamarind jelly and supplemented with mandacaru cladode flour, and to characterize the technological, nutritional, microbiological, and bioactive properties over 28 days of refrigerated storage.

2. Material and methods

2.1 Raw materials

Mandacaru cladodes (3 batches of 10 kg, August 2020) were obtained in the city of Cuité-PB [6°29'46.0"S - 36°09'34.7"W]. The botanical material was registered in the

National System for Management of Genetic Heritage and Associated Traditional Knowledge (SISGEN), under number (A1FECD5).

Tamarinds (*Tamarindus indica* Linn) were acquired at the Aroeira site, Paraná-RN [6°25'15.4"S - 38°15'49.6"W]. *Toggenburg* goat milk was collected from a small farm located in the city of Nova Floresta – PB [6°27'33.2"S - 36°12'04.6"W]. Refined sugar (União®, São Paulo) and starter culture (Y472, Sacco®, Lot C156109A, Campinas, São Paulo, Brazil) composed of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, were obtained commercially.

2.2 Preparation of the Mandacaru cladode flour (MCF)

Mandacaru cladode flour (MCF) was prepared in accordance with the method described by Machado et al. (2021), with modifications. Initially, the cladodes were sanitized with running water and sodium hypochlorite (100 ppm); being then cut into slices approximately 1 cm thick using a sterilized stainless steel knife. The cladode slices were dehydrated in an oven with forced air circulation (Quimis, Q314M, São Paulo, Brazil) at a temperature of $55 \pm 1^\circ\text{C}$, moisture content, which took approximately 26 h. After drying, the mandacaru cladodes were ground in a knife mill (Willey, Solab, Piracicaba, São Paulo, Brazil), and screened in a 230 mm sieve in a shaker sieve (Bertel®, Caieiras, São Paulo, Brazil), yielding 5% MCF, as compared to the cladode *in natura*. This product was vacuum sealed in sterile polyethylene bags (approximately 100 g per bag), and wrapped in aluminum foil and frozen ($-20 \pm 1^\circ\text{C}$) until analysis was performed. After drying, the MCF presented 0.423 ± 0.001 water activity; 4.18 ± 0.01 pH; 5.94 ± 0.10 g/100 g of titratable acidity; 91.76 ± 0.21 g/100 of total solids; 8.24 ± 0.21 g/100 g of moisture; 2.82 ± 0.02 of ash; 5.18 ± 0.10 g/100 g of proteins; 1.88 ± 0.14 g/100 g of lipids; 48.46 g/100 g of total fibers; 1285.47 ± 0.01 mg EGA/100 g of total phenolics; 15.19 ± 0.01 mg EGA/100 g of total flavonoids; and antioxidant activity of 249.45 ± 0.01 $\mu\text{mol Trolox CAET/g}$ using the FRAP method, and 0.39 ± 0.01 $\mu\text{mol Trolox CAET/100g}$ using the ABTS method. The MCF was packed in sterile polypropylene bags and frozen ($-20 \pm 1^\circ\text{C}$), protected from light until further analysis.

2.3 Tamarind Jelly Preparation

Tamarind jelly was prepared based on the methodology described by Bezerril et al. (2021), with modifications. The tamarinds (*Tamarindus indica* L.) were sanitized, then peeled and pulped, and the seeds discarded. The tamarind pulp was homogenized in

an industrial blender (Spolu, SPL -048W, Brazil) with 30% drinking water in a 70:30 ratio (tamarind:sugar) and the juice was filtered. Sugar was added to the juice and brought to a low heat ($180 \pm 1^\circ\text{C}$). Checking the gel point was performed based on the total soluble solids content (Brasil, 1978), using a digital refractometer (Hanna®, model HI 96801), until reaching a content of 62 to 65%, w/w. Finally, the jelly was packed in an airtight and sterile glass jar, followed by storage at refrigeration temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) until further analysis.

The values of the physical, physical-chemical parameters, and antioxidant potential at the end of the tamarind jelly processing are presented in Table 1.

2.4 Preparation of yogurts

Yogurts were processed in two independent experiments in accordance with a methodology adapted from Machado et al., (2017). For this, the pasteurized goat milk ($65 \pm 1^\circ\text{C}/30\text{ min}$) was supplemented with 10% sucrose, and later subjected to a heat treatment ($90 \pm 1^\circ\text{C}/10\text{ min}$). Then, the milk was cooled to $45 \pm 1^\circ\text{C}$ and a *starter culture*, composed of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* was inoculated at a concentration of 0.4 g/L. Fermentation was performed in a BOD incubator (Marconi®, model MA 415, Piracicaba, São Paulo, Brazil) at a temperature of $45 \pm 1^\circ\text{C}$, for 4 h. The yogurt fermentation end point was verified through checking clot firmness and determining the pH, at a 4.5. The product was then cooled to $4 \pm 1^\circ\text{C}$ and the clot was broken by manual stirring with a glass rod. Then the tamarind jelly and mandacaru cladode flour formulations were elaborated in the concentrations described below.

Four formulations were processed: CY (control yogurt, without either MCF or tamarind jelly); YJ (yogurt, supplemented only with 10% tamarind jelly); YJF1% (yogurt supplemented with 10% jelly and 1% MCF), and YJF2% (yogurt supplemented with 10% jelly and 2% MCF).

These goat yogurt samples were analyzed in triplicate at 1, 14, and 28 days of cold storage ($4 \pm 1^\circ\text{C}$), in accordance with the methodologies described below.

2.5 Technological, physical, physicochemical, and microbiological characterization of yogurts

Technological characterization involved evaluation of syneresis, instrumental color, and apparent viscosity parameters. Susceptibility to syneresis was determined

using the drainage method, in accordance with the methodology of Riener and Willingham (2010).

Instrumental color determination was performed using a colorimeter (Konica Minolta®, CR 400, Osaka, Japan), in a CIELAB system (CIE, 1978). In the CIELAB colorimetric space, defined by L^* , a^* , b^* . The L^* coordinate corresponds to luminosity; a^* and b^* respectively refer to the green (-)/red(+), and blue(-)/yellow(+) chromaticity coordinates.

The apparent viscosity in mPa.s was determined using a viscometer with a concentric cylinder geometry (Brookfield, DV-II+ Pro, Middleboro, USA), coupled to a thermostatic bath for temperature control (4°C), using the *spindle* SC4-27, and under a constant rotation speed of 60 rpm.

The physical and physico-chemical sample evaluations involved analysis of pH, acidity in lactic acid, total soluble solids, ash, proteins, and total sugars in accordance with the methodology recommended by the *Association of Official Analytical Chemist Methods* (AOAC, 2019). Fat determination was performed in accordance with Folch, Lees, and Sloane-Stanley (1957).

The microbiological analyses evaluated sanitary-hygienic quality through microorganism *starter culture* viability. *E. coli* count quality control tests, total mold and yeast counts in CFU/g, as well *Salmonella* spp./25 g (APHA, 2015) tests were performed. Lactic bacteria viability testing included *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (APHA, 2015), and *Lactobacillus* subsp. *bulgaricus* (Lima et al., 2009) counts. Results were expressed as the log of colony forming units per g of yogurt (log CFU/g).

2. 6 Sugar and organic acid profiles in the yogurts

Initially, to determine the sugar (glucose, galactose, and lactose) and organic acid (citric, lactic, formic, and propionic) contents, an aqueous extract of the yogurt samples was prepared; 2 g of each formulation was homogenized in 10 mL of ultrapurified water (Milli - Q® Integral Water Purification System, EMD Millipore, Billerica, MA, USA) for 10 min in a homogenizer (Turratec, Tecnal®, Piracicaba, São Paulo, Brazil). The suspension was then centrifuged (4000 $\times$ g, 15 min, 4°C) and the supernatant was filtered with a 0.45 μ m filter (Millex Millipore, Barueri, São Paulo, Brazil).

Each sample was analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC) system, with a 1260 Infinity LC system (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) equipped with a quaternary solvent pump (model G1311C), degasser,

column compartment thermostat (model G1316A), and an auto-sampler (model G1329B) coupled with a diode array detector (DAD) (model G1315D) and refractive index detector (RID) (model G1362A). During analysis, the Agilent column Hi-Plex H (300 x 7.7 mm) with a particle size of 8.0 μm and PL Hi-Plex H guard column (5 x 3 mm) (Agilent Technologies) were kept at 50°C, the volume of injection was 10 μL , the flow rate was 0.5 mL/min, the mobile phase was H_2SO_4 at 4.0 mM in ultrapure water, for 20 min runs. The data obtained were processed using OpenLAB CDS ChemStation EditionTM (Agilent Technologies) software. Peaks and mean peak areas were used for samples quantification comparing retention times with organic acid and sugar standards (Coelho et al., 2018; Padilha et al., 2018; Batista et al., 2018; Lima et al., 2019).

The glucose and lactose standards were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MA, USA); galactose was obtained from Chem Service (West Chester, USA); organic acid standards were obtained from Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brazil). All presented $\geq 99\%$ purity. Ultrapure water was obtained using a MilliQ[®] system (EMD Millipore), and sulfuric acid was obtained from Merck (Darmstadt, Germany). The sugar and organic acid results were expressed in g per 100 g of sample (g/100 g).

2.7 The total phenolic and total flavonoid contents of the yogurts

To prepare the extract, 2 g of each yogurt was homogenized with 80% methanol (Sigma-Aldrich) for 10 min in a mini-Turrax apparatus (Tecnal, Piracicaba, São Paulo, Brazil); kept at rest for 24 h, and then filtered with 125 mm-filter paper (Whatman[®], GE Healthcare, Chicago, IL, USA). Total phenolic content was measured using the Folin-Ciocalteu method (Liu et al., 2002), and absorbance was measured at 765 nm with a spectrophotometer (BEL Photonics, Piracicaba, São Paulo, Brazil). The phenolic content was determined using a standard curve prepared with gallic acid (Sigma-Aldrich). Results were expressed as mg equivalent of gallic acid (EGA) per 100 g of sample (mg EGA/100 g).

Total flavonoid content was measured using the procedure described by Guevara-Figueroa et al. (2010). Sample absorbance was measured at 510 nm with a spectrophotometer (BEL Photonics) against a blank (without extract). Total flavonoid content was determined using standard catechin (Sigma-Aldrich) curve equivalents (CE). Results were expressed as mg catechin equivalent (CE) per 100 g of sample (mg CE/100 g).

2.8 Phenolic profiles and antioxidant activity of the yogurts

To prepare the extracts, 5 g of each yogurt formulation was homogenized with 5 mL of 80% methanol (Sigma-Aldrich), centrifuged ($9000 \times g$, 15 min, 4°C) and filtered with a $0.45 \mu\text{m}$ -filter (Millex Millipore, Barueri, SP, Brazil). Identification of the phenolic compounds was performed in accordance with Padilha et al. (2018), with gradient and runtimes adapted for quantification of stilbenes, flavonols, and flavanones. Analysis was performed using an Agilent 1260 Infinity LC System liquid chromatograph (Agilent Technologies, Santa Clara - USA) coupled to a diode array detection (DAD) system (model G1315D). The column used was a Zorbax Eclipse Plus RP-C18 ($100 \times 4.6 \text{ mm}$, $3.5 \mu\text{m}$), with a Zorbax C18 pre-column ($12.6 \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$) (Zorbax, USA). The data were processed using the OpenLAB CDS ChemStation Edition software (Agilent Technologies, Santa Clara - USA). Identification and quantification was performed by comparison with external standards (Sigma-Aldrich). The results were expressed in phenolic mgs of per 100 g of sample (mg/100 g).

To analyze antioxidant activity, 2 g of each yogurt formulation was homogenized with 10 mL of 80% methanol (Sigma-Aldrich), for 10 min with a mini-Turrax apparatus (Tecnal), and left to rest for 24 h, to be then filtered with a 125 mm -filter (Whatman[®]). The ability of the extracts to reduce iron was measured using the FRAP (ferric reducing ability of plasma) method as previously described (Rockenbach et al., 2011). The FRAP reagent was prepared using 3 mol/L of acetate buffer (pH 3.6) + 10 mM/L of TPTZ (2,4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazine) in a 40 mM/L HCl solution + 20 mM FeCl_3 . A $200 \mu\text{L}$ -aliquot of the extract was added to $1800 \mu\text{L}$ of the FRAP solution, stirred with a vortex mixer (Quimis) for 30 s and placed in a water bath for 30 min at 37°C . Absorbance was measured at 593 nm with a spectrophotometer (Bel Photonics). The standard curve was created with Trolox 1 mM, and results were expressed in micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per 100 g ($\mu\text{mol TEAC}/100\text{g}$).

The ability of the extracts to capture the $\text{ABTS}^{+\cdot}$ cation (2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) was measured with using the ABTS method as previously described (Sariburun, Sahin, Demir, Turkben, & Uylaser, 2010). The ABTS reagent was prepared mixing 5 mL of 7 mM ABTS with $88 \mu\text{L}$ of 140 mM potassium persulfate (final concentration of 2.45 mM). The $\text{ABTS}^{+\cdot}$ radical was formed after letting the ABTS reagent rest in the dark for 12–16 h at room temperature ($25 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$). The

ABTS^{•+} solution was diluted with distilled water to an absorbance value of 0.800–0.900 at 734 nm. Absorbance of the reaction mixture (600 µL) with 100 µL of extract and 500 µL of ABTS^{•+} solution was measured at 734 nm in a spectrophotometer (Bel Photonics). A control solution (100 µL of extracting solvent + 500 µL of ABTS radical) was also prepared. The negative control solution used to reset the spectrophotometer was the extracting solvent for each extract. The standard curve was created with Trolox 1 mM, and results were expressed in micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per g of sample (µmol TEAC/g).

2.9 Statistical analysis

All assays were performed in triplicate and in two different experiments. The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA), using Tukey's mean test at a 5% significance level ($p \leq 0.05$). GraphPad Prism 6.0 computer software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used to perform the statistical analysis.

3 Results and discussion

3.1 Assessment of technological "shelf life" characteristics

The average values for syneresis and the color parameters for the different goat yogurt formulations are presented in Table 3.

Syneresis is an important technological parameter, used to evaluate yogurt quality during storage. It is directly related to the separation of the liquid phase (serum) from the gel, and high values are thus undesirable, since they represent an accumulation of whey on the yogurt surface (Bierzuńska et al., 2019; Dönmez et al., 2017; Sah et al., 2016).

In this study, the formulations presented reduced syneresis during storage, being lower in the higher percentage formulations ($p \leq 0.05$). The high total fiber content in the MCF (48.46 g/100 g) might be responsible for the lower syneresis observed in the YJF1% and YJF2% samples, as compared to the formulations without flour. Fiber is responsible for reducing serum expulsion from the gel (Dabija et al., 2018). In a study performed by Wang et al. (2020), the addition of 2-3% lyophilized apple pomace powder resulted in firmer, more viscous and cohesive yogurts, significantly reducing free whey release during cold storage when compared to the controls. The authors

justified this behavior by the presence of fibers in freeze-dried apple pomace, corroborating our findings. Our results are also consistent with studies performed by Ismail et al. (2018), using fermented goat's milk fortified with barley flour, honey, vanilla, and cocoa powder; and by Abdalla et al. (2019), evaluating yogurts supplemented with green banana flour.

Color is one of the most significant parameters in food products and in fermented milk, color can be affected by spoilage, and addition of ingredients (Pan et al., 2019). Luminosity is attributable to solid matrix compression, as the growth of soluble complexes reduce gel opacity during storage (Trigueros, Wojdylo, & Sendra, 2014). In this study, we observed the influences of storage time, and the tamarind jelly - MCF soluble complexes in relation to the evaluated instrumental color parameters ($p \leq 0.05$). A reduction in luminosity (L^*) was observed during refrigerated storage for yogurts supplemented with tamarind jelly and/or mandacaru flour, and the greatest reductions in this parameter were proportional to the concentration of flour added ($p \leq 0.05$). This was suggested by the yellowish-green hue of the mandacaru flour.

As for the instrumental colors a^* [chromatic green (-)/ red (+)], and b^* [chromatic blue (-)/yellow (+)], we observed green-yellow hue predominating ($p \leq 0.05$), as the concentrations of mandacaru flour increased, probably due as well to the influence of the yellow-green hue of mandacaru flour. Similar results have also been observed by Bezerril et al. (2021a), in yogurts supplemented with xique-xique jelly (*Pilosocereus gounellei*); by Dantas et al. (2022), evaluating goat yogurt supplemented with xique-xique flour; and by Machado et al. (2021), in cookies prepared with xique-xique flour.

Figure. 1 shows a reduction in viscosity ($p \leq 0.05$) for all goat yogurt formulations through the 14th day of cold storage, with greater reductions for the YJF2% formulation (from 721.47 to 579.05 mPa.s), and the CY (from 415.77 to 242.37 mPa.s). However, on the 14th day of storage, the YJF1% and YJF2% yogurt formulations were more viscous than the CY and YJ formulations ($p \leq 0.05$). This continued until the 28th day of cold storage, with only slight variation in the apparent viscosities of the formulations studied.

The higher apparent viscosity observed in the YJF1% and YJF2% formulations (28th day of cold storage) likely occurred due to acidification of these formulations at 4°C, as can be seen in Figure 2b. At this temperature, milk proteins form a firmer gel and therefore experience higher viscosity (Mohammadi-Gouraji, Soleimanian-Zad, &

Ghiaci, 2019). Further, the higher concentration of mandacaru flour in the YJF2% formulation may have stimulated greater formation of exopolysaccharides (EPS) by lactic acid bacteria (LAB) during storage, which causes an increase in viscosity (Parvarei et al., 2021). EPSs produced by LAB are known to interact with milk constituents, as gelling, stabilizing, texturizing, and viscosity agents (Korcz & Varga, 2021; Parvarei et al., 2021).

The phenolic compounds and polysaccharides found in supplemented yogurt formulations can interact with the protein network, and lead to network rearrangements which increase yogurt viscosity during storage (Almusallam et al., 2021; Safdari et al., 2021; Trigueros et al., 2014; Vital et al., 2015). The mandacaru flour used in this study presented total fiber at roughly 48.46 g/100. Table 5 shows that the yogurt supplemented with the highest concentration of mandacaru flour (YJF2%) presented higher total phenolic compound levels throughout storage (45.53 to 46.79 mg GAE/100 g). This may have influenced the stability of the three-dimensional protein network towards maintaining viscosity.

3.2 Physical and physicochemical "shelf life" characterization

In Figure. 2, the average pH (a), acidity, (b) and total sugar (c) values of goat yogurts during 28 days refrigerated storage are presented.

Overall, during cold storage, a reduction in pH and sugar content was observed with a concomitant increase in acidity ($p \leq 0.05$). Such behavior is desirable since it demonstrates that the fermentation process has occurred and that lactic acid bacteria metabolic activity has been maintained (Fagnani et al., 2017).

Fermentation improves shelf life stability, safety, and functionality of the final product, as well as sensory aspects and nutritional composition - bioactive molecule and vitamin bioavailability (Reza et al., 2018). During the fermentation process, lactose is broken down into glucose and galactose by the enzymatic action of lactic acid bacteria; glucose is converted to pyruvate in the Embden Meyerhoff-Parnas pathway, and pyruvate is used as an H-acceptor, as lactate is formed (Costa, Frasao, Lima, Rodrigues, & Conte Junior, 2016). This normally increases acidity and reduces pH in yogurt formulations (Costa et al., 2016; Ndabikunze et al., 2017); as was observed in our research. In dairy matrices, these same conditions reduce pathogenic proliferation and are favorable to gelling (Cutrim et al., 2016; Kamal et al., 2018; Xiang et al., 2019). In this study, although an increase in acidity was observed in the formulations, it did not affect the viscosity of

the mandacaru flour and tamarind jelly supplemented formulations (Fig. 1). It is likely that their ingredients contributed to stability by rearranging the protein network despite an increase in acidity. This was not observed in the CY formulation.

Table 4 presents the results concerning physical and physicochemical composition. The addition of tamarind jelly and especially of mandacaru flour in the yogurts directly influenced the total soluble solids, ash (minerals), and proteins ($p \leq 0.05$). YJF2% generally presented higher values for these variables at most of the times ($p \leq 0.05$) evaluated, following the contents of total soluble solids, ash, and proteins respectively found in both mandacaru flour (91.76 g/100 g, 2.82 g/100 g, and 5.18 g/100 g, respectively) and tamarind jelly (65.30 g/100 g, 1.70 g/100 g, and 1.58 g/100 g).

The tamarind jelly and mandacaru flour supplements did not influence the lipid content in the formulations studied ($p > 0.05$). The data corroborate the low amounts of lipids in their constitution, since no significant impact on this parameter in the evaluated yogurts was observed. In food processing, low fat content is an important food matrix property. This is also true, from a technological point of view, since lipid oxidation affects shelf life in dairy products (Sartori, Alencar, Bastos, Regitano, & Skibsted, 2018).

Dantas et al. (2022), evaluating the effects of xique-xique flour on the technological, nutritional, and bioactive properties of probiotic goat yogurts has obtained similar results. Likewise, Karnopp et al. (2017), Ismail et al. (2018), and Kaur et al. (2020) found that the addition of flours and jellies in yogurts, in addition to improving flavor, increases nutritional value and functionality. Our study, confirms that supplementing goat yogurt with tamarind jelly and mandacaru flour promotes nutritional and technological improvements, and demonstrates the potential applicability of these ingredients in the dairy industry, especially in fermented milks.

3.3 Goat yogurt sugar and organic acid profiles under storage

In this study, the presence of three sugars were detected: lactose, glucose, and galactose (Table 5).

In food products, sugars directly influence food sensory aspects such as flavor and texture (Rybacka and Gliszczyńska-Świąło, 2021). In this study, we observed that regardless of storage time, the addition of jam and mandacaru flour directly impacted lactose levels, with lower levels in YJF2% as compared to the other formulations ($p \leq 0.05$). This is likely related to the metabolic activities of lactic acid bacteria in the yogurt fermentation process, in which there is an increasing need for energy for multiplication

(Wang et al., 2020). Phenolic compounds and fibers present in the flour (respectively 1285.47 mg/100 g and 48.46 g/100 g) may have been used as substrates, stimulating a selective multiplication of lactic acid bacteria in the starter culture, and consequently greater consumption of lactose in the YJF2% formulation ($p \leq 0.05$). The data agreed with the viable cells analyses for the strains present in the yogurt samples (Fig. 3), whose counts in most cases were always higher in YJF1% and YJF2%, suggesting synergy between the starter culture and the *mandacaru* flour.

The other sugars also suggested bacterial fermentation. The presence of glucose and galactose in the formulations suggests lactose hydrolysis during fermentation and the release of these disaccharides into the medium (Barros, Cutrim, Costa, Conte Junior, & Cortez, 2019; Laaksonen et al., 2021). The starter culture used in the present study (YF L903) has a short latency phase, resulting in fast fermentation with excellent lactose hydrolysis and release of the simple sugars glucose and galactose (Asensio-Vegas et al., 2016). In this study, reductions in lactose, glucose, and galactose levels ($p \leq 0.05$) was observed during cold storage, possibly due to greater lactose hydrolysis and more consumption of simple sugars (a source of energy in starter culture bacterial metabolism) (Costa et al., 2019).

Table 5 presents organic acid values in the yogurt formulations during cold storage. Citric, lactic, malic, and propionic acids were identified. In all yogurt formulations, lactic acid was the principle organic acid. As expected in fermentation processes, this organic acid increases during storage and the YJF1% and YJF2% formulations presented greater amounts of lactic acid at 28 days of refrigerated storage ($p \leq 0.05$); corroborating the observed acidity data (Fig. 1b). Lactic acid results from starter culture metabolism during fermentation (Bezerril et al., 2021a; Costa et al., 2016). This may remove pyruvic acid, convert malic acid, and/or degrade lactose (Ozcan, Ozdemir, & Avci, 2021). Such results may be associated with the higher consumption of sugars in the product (Fig. 1C and Table 4). Similar results were observed by Dantas et al. (2022), studying goat yogurt supplemented with flour from another cactus (*xique-xique*), by Almusallam et al. (2021) and Öztürk et al. (2018) as well, and in yogurt supplemented with *Elaeagnus 18rolox 18fölia* L., flour in yogurt supplemented with moringa extract (Zhang et al., 2018), and also in yogurt supplemented with jujube pulp (Feng et al., 2019).

In this study, the production of propionic acid was also observed, a short-chain fatty acid (SCFA) important in stimulating ATP production (Singh, Vishwakarma, & Singhal, 2018). Propionic acid is known for its other benefits, such as inhibiting

cholesterol synthesis, and helping to fight diseases such as diabetes, cancer, obesity, and autoimmune disease (Diez - Gutierrez et al., 2020). Short-chain fatty acid synthesis is a feature of lactic acid bacteria fermentative activity (Nagpal et al., 2018). In this study, propionic acid probably came from the hetero-fermentative metabolic pathway of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, and consumption might well be beneficial for people suffering from the above-mentioned health conditions.

3.4 Antioxidant 'shelf life' potential of goat yogurts

The goat yogurts' phenolic compound profiles, total phenolic content, flavonoids, and antioxidant activity are shown in Table 6.

Table 6 presents the phenolic and flavonoid contents and the antioxidant activity of the yogurt samples. The yogurt mandacaru flour supplemented samples presented at least 14 phenolic compounds: flavonoids (catechin, epigallocatechin gallate, epicatechin and epicatechin gallate), flavonols (quercetin 3-glucoside, kaempferol 3-glucoside, myricetin, rutin), flavanones (hesperidin), anthocyanins (procyanidin B1 and procyanidin B2), stilbenes (cis-resveratrol and trans-resveratrol), and hydroxycinnamic acids (caffeic). Myricetin was the main phenolic compound present, followed by kaempferol 3-glucoside, and epigallocatechin gallate, and cis-resveratrol.

In general, storage time had an effect on the phenolic compounds detected, with slight increases over time ($p \leq 0.05$). Interestingly, only the phenolic compounds hesperidin, cis-resveratrol, caffeic acid, trans-resveratrol, and rutin were detected in the formulations with mandacaru flour, and the concentrations of these compounds increased with greater supplementation ($p \leq 0.05$). Myricetin and Kaempferol 3-glucoside were the most abundant phenolic compounds found. The data suggest that mandacaru flour is the main source of these bioactive compounds.

The phenolic compounds detected are very common in plants and because they have antioxidant activity, they are beneficial to the body, exerting antimicrobial and anti-inflammatory effects, and reducing the incidence of chronic non-communicable diseases, diabetes, cardiovascular disease, cancers, and even neurological disease (Bezerril et al., 2021b; Gheda et al., 2021; Marković et al., 2017; Pawlowska et al., 2019; Sobhani et al., 2020; Song et al., 2021). In addition to promoting health, the presence of these natural antioxidant components in dairy products influences sensory acceptance. These compounds have also been identified in goat's milk yogurt supplemented with xique-xique jelly (Bezerril et al., 2021a) and xique-xique flour (Dantas et al., 2022).

Increasing the concentration of mandacaru flour in the yogurt samples significantly increased ($p \leq 0.05$) total phenolic and total flavonoid levels, and potentially promoted increased antioxidant activity as measured by the ABTS assay. This corroborates the phenolic compounds profile results detected in these formulations. The greatest increase ($p \leq 0.05$) was observed for YJF2% (Table 5). The highest antioxidant activity was observed using the FRAP method, for the formulation using only tamarind jelly (YJ), as well as the formulations supplemented with both tamarind jelly and mandacaru flour (YJF1% and YJF2%). This leads us to believe that the total phenolic contents found in the jelly and flour matrices (respectively 147.10 mg/100 g and 1285.47 mg/100 g) justify the findings.

Similar results were obtained by Dantas et al. (2022), when evaluating goat yogurt formulations supplemented with differing of xique-xique cactus flour concentrations. Almusallam et al. (2021), observed increased antioxidant activity when date palm extract was added to yogurt. Jovanović et al. (2020), studying yogurts supplemented with apple pomace flour also observed increased antioxidant activity. Oliveira et al., (2020), evaluating yogurt supplemented with sorghum flour; and Feng et al., (2019), studying phenolic compounds in yogurt supplemented with jujube pulp observed increased antioxidant activity as well, and Marchiani et al. (2016), observed increased antioxidant activity in yogurt supplemented with grape pomace. Finally Vital et al. (2015), observed increased antioxidant activity when evaluating skimmed yogurts supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract.

In our study, we observed (during storage) a reduction in total phenolic compounds, total flavonoids, and antioxidant activity (FRAP and ABTS) for most formulations ($p \leq 0.05$). However, the reductions were smaller ($p \leq 0.05$) in the formulations supplemented with mandacaru flour, this is likely due to their richness in total phenolic compounds and total flavonoids, and consequent antioxidant activity (total phenolics 1285.47 ± 0.01 mg/100 g); total flavonoids 15.19 ± 0.01 mg/100 g; and antioxidant activity - 249.45 ± 0.01 μ mol Trolox CAET/100g - FRAP method, and 0.39 ± 0.01 μ mol Trolox CAET/g - ABTS method). The observed reductions in total phenolic compounds, total flavonoids, and in consequent antioxidant activity suggests milk protein complex associations with phenolic compounds, affecting phenolic levels and causing a consequent reduction in antioxidant activity during storage (Almusallam et al., 2021; Dantas et al., 2022; Feng et al., 2021; Vital et al., 2015).

Phenolic compounds may increase lactic acid bacteria populations, including probiotics, this suggests a mutual relationship between phenolic compounds and lactic acid bacteria and/or probiotics (Gibson et al., 2017; Llano et al., 2017; Ozdal. et al., 2016); Succi et al., 2017). Selected lactic acid bacteria have been shown to improve phenolic compound metabolism and bioavailability. Phenolic compounds positively modulate the composition of the intestinal microbiota and protect lactic acid and/or probiotic bacteria from the conditions of gastrointestinal passage (and during storage) (Souza, Albuquerque, Santos, Massa, & Brito Alves, 2018). Their properties are due to bioconversion of these original phenolic compounds into secondary metabolites by lactic acid bacteria in food and/or the intestinal microbiota. Biotransformation of phenolic compounds by the starter bacteria present in the yogurt formulations studied may have contributed to their observed reduction, and consequently to their antioxidant properties, yet without major losses in these properties, especially in the YJF2% formulation.

Knowing that dairy products usually do not present significant levels of polyphenols (Dhawi et al., 2020), it was interesting to add ingredients that are rich in these compounds, such as jellies and flours. In this study, it was shown that the addition of tamarind jelly and mandacaru cladode flour promoted higher phenolic compound and flavonoid levels, directly impacting antioxidant activity when compared to the control formulation.

3.5 Microbiological "shelf life" analyses

Microbiological analysis of the hygienic-sanitary conditions revealed that all of the prepared goat yogurt formulations were suitable for human consumption throughout the evaluated cold storage period. The *E. coli*, molds, and yeasts counts were negative, and no *Salmonella* spp. was found; indicating good manufacturing practices. The viability count of lactic acid bacteria in fermented milks such as yogurt is an important indicator of technological and functional quality (Feng et al., 2019). Viable cell counts from the initial culture (*S. thermophilus* and *L. bulgaricus*) are presented in Figure 3.

There was a continuous increase ($p \leq 0.05$) in *Streptococcus thermophilus* counts (Figure 2a) up until the 14th day of cold storage in the YJF2% formulation (ranging from 4.71 ± 0.06 to 4.87 ± 0.08 log CFU /g). From that time until day 28, all of the formulations presented increased counts for this bacteria, especially YJF2%, which presented the highest number of colony forming units (5.45 ± 0.03 log CFU/g), as compared to the

other formulations ($p \leq 0.05$), CY ($5.01 \pm 0.04 \log \text{CFU/g}$), YJ ($5.27 \pm 0.06 \log \text{CFU/g}$), and YJF1% ($5.34 \pm 0.05 \log \text{CFU/g}$).

As for the *Lactobacillus bulgaricus* counts (Figure 2b), the YJF2% formulation presented a higher number of viable cells, mainly from the 14th day of storage, remaining at higher counts until the end of the "shelf life" period ($p \leq 0.05$).

Both *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* were observed in the (YJF2%) formulation. This might be explained by the potential prebiotic effects of mandacaru flour on the *starter culture*, considering the fiber content and phenolic compounds present in this matrix (respectively 48.46 g/100 g and 1285.47 mg/100 g). The potential prebiotic effects of mucilage extracted from two cacti, *Opuntia ficus – indica*, and *Opuntia xocconostle* have already been demonstrated by Cruz- Rubio et al. (2020). Ribeiro et al. (2020) demonstrated the potential prebiotic effects of freeze-dried xique-xique juice; stimulating multiplication and metabolism in differing *Lactobacillus* isolates. This activity is similar to fructooligosaccharides (FOS, a proven prebiotic ingredient), which would justify the prebiotic effect potential of the flours in *starter cultures*. Additionally, the phenolic compounds present in mandacaru cladode flour can selectively stimulate lactic acid bacteria, modulating the intestinal microbiota and favoring protection of these bacteria in adverse intestinal tract conditions and in foods (Marhuenda-Muñoz et al., 2019; Souza et al., 2018).

It is also noteworthy that the addition of ingredients with prebiotic potential in food products provides beneficial health effects, modulating healthy intestinal bacteria, leading to the production of fatty acids, preventing gastrointestinal disorders, helping mineral absorption, and preventing obesity and cancer. In addition, prebiotics can substitute fats and sugars, improving the sensory characteristics of foods (Sanders et al., 2019; Singla; Chakkaravarth, 2017). Our findings may direct future *in vitro* studies on the prebiotic effect of this flour, an important feature that will reinforce the bioactivity of dairy supplemented products and provide beneficial effects to consumer health (Diez - Gutierrez et al. al., 2020).

5 Conclusion

This study was a pioneer for using mandacaru cladode flour (*Cereus jamacaru* DC.) in goat yogurts to demonstrate that incorporation of the cladode flour positively affects nutritional (proteins and minerals), technological (lower syneresis and higher

apparent viscosity) and bioactive characteristics (higher phenolic content, flavonoids and antioxidant activity). The fermentation process mediated by the synergy between the initiating bacteria and the mandacaru cladode flour led to lactose degradation, with consequent increases in lactic acid production during storage. These conditions were probably influenced during storage by lactic acid bacteria multiplication, and were higher in the YJF2% formulation. This suggests a prebiotic effect of the flour on the *starter culture*. Although during storage there were reductions in total phenolic compounds and antioxidant activity, these reductions were smaller in the yogurts supplemented with the mandacaru cladode flour, and this effect is probably due to the higher content of bioactive compounds (myricetin and kaempferol 3-glucoside). This study may help to promote the beneficial use of mandacaru cladode flour in probiotic goat milk yogurt formulations, and result in products with great nutritional, bioactive and technological potential for the functional food industry.

Declaration of competing interest

Authors declare no conflict of interest.

Funding: This research was partially funded by CAPES (Brazil), grant number 001.

References

- Abdalla, A. K., & Ahmed, Z. F. R. (2019). Physicochemical and sensory properties of yoghurt supplemented with green banana flour. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 47, 1-9.
- Agostini-Costa, T. S. (2020). Bioactive compounds and health benefits of Pereskioideae and Cactoideae: A review. *Food Chemistry*, 126961.
- Almusallam I. A., Ahmed, I. A. M., Babiker, E. E., Al-Juhaimi, F. Y., Saleh, A., Qasem, A. A., et al. (2021). Effect of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) spikelets extract on the physicochemical and microbial properties of set-type yogurt during cold storage. *LWT – Food Science and Technology*, 148, 111-762.
- AOAC. (2016). Official methods of analysis of AOAC international (20th edn.) Washington: Association of Official Analytical Chemist Methods.
- APHA. (2015). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (5th edn.). Washington: American Public Health Association.
- Aquino, R. S., Lemos, C. G., Alencar, C. A., Silva, E. G., Lima, R. D. S., Gomes, J. A. F., et al. (2016). The reality of sheep and goat production in Brazilian Semiarid: a picture of Araripe Sertao, Pernambuco. *PUBVET*, 10, 271-281.
- Asensio-Vegas, C., Tiwari, B., Gredilla, A. E., Bueno, F., Delgado, D., & Martín-Diana, A. B. (2016). Development of yoghurt from ovine milk with enhanced texture and flavour properties. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 112-121.
- Barros, R. F., Cutrim, C. S., Costa, M. P., Conte-Junior, C. A., & Cortez, M. A. S. (2019). Lactose hydrolysis and organic acids production in yogurt prepared with different onset fermentation. *Ciência Animal Brasileira*, 20, 1-10.
- Batista, K. S., Alves, A. F., Santos, L. M., Silva, L. A., Lins, P. P., Sousa Gomes, J.A., et al. (2018). Beneficial effects of consumption of acerola, cashew or guava processing by-products on intestinal health and lipid metabolism in dyslipidaemic female Wistar rats. *The British journal of nutrition*, 119, 30.
- Bezerril, F. F., Magnani, M., Pacheco, M. T. B., de Souza, M. D. F. V., Figueiredo, R. M. F., et al. (2020). *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) jam is source of fibers and mineral and improves the nutritional value and the technological properties of goat milk yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 110512.
- Bierzuńska, P., Cais-Sokolińska, D., & Yiğit, A. (2019). Storage stability of texture and sensory properties of yogurt with the addition of polymerized whey proteins. *Foods*, 8, 548.
- Cao, G. H., Li, Z. D., Wang, F. H., Xing, H. W., Chen, Y. Y., & He, S. (2017). Development of the Honeysuckle Tamarind Jelly. *Food Research and Development*, 05.

Clark, S., & García, M. B. M. (2017). A 100-year review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*, 100, 10026-10044.

Coelho, E. M., Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., Sá, A. G. B., Pereira, G. E., Azevêdo L. C., et al. (2018). Simultaneous analysis of sugars and organic acids in wine and grape juices by HPLC: Method validation and characterization of products from northeast Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 160-167.

Costa, A., Lopez-Villalobos, N., Sneddon, N. W., Shalloo, L., Franzoi, M., Marchi, M., et al. (2019). Invited review: Milk lactose—Current status and future challenges in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 102(7), 5883-5898.

Costa, M. P., Monteiro, M. L. G., Frasao, B. S., Silva, V. L., Rodrigues, B. L., Chiappini, C. C., et al. (2017). Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. *Journal of Dairy Science*, 100, 157-168.

Costa, R. G., Beltrão Filho, E. M., Sousa, S., Cruz, G. R. B., Queiroga, R. C. R. E., & Cruz, E. N. (2016). Physicochemical and sensory characteristics of yoghurts made from goat and cow milk. *Animal Science Journal*, 87, 703–709.

Cruz-Rubio, J. M., Mueller, M., Loeppert, R., Viernstein, H., & Praznik, W. (2020). The Effect of Cladode Drying Techniques on the Prebiotic Potential and Molecular Characteristics of the Mucilage Extracted from *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia joconostle*. *Scientia Pharmaceutica*, 88, 43.

Cutrim, C. S., Barros, R. F., Costa, M. P., Franco, R. M., Conte-Junior, C. A., & Cortez, M. A. S. (2016). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during manufacture and storage of traditional and low lactose yogurt. *LWT – Food Science and Technology*, 70, 178-184.

Dabija, A., Codină, G. G., Gâtlan, A. M., & Rusu, L. (2018). Quality assessment of yogurt enriched with different types of fibers. *CyTA-Journal of Food*, 16, 859-867.

Dhawi, F.; El-Beltagi, H.S.; Aly, E.; Hamed, A. M. (2020). Antioxidant, Antibacterial Activities and Mineral Content of Buffalo Yoghurt Fortified with Fenugreek and Moringa oleifera Seed Flours. *Foods*, 9, 1157.

Dantas, D. L. S., Viera, V. B., Soares, J. K. B., Santos, K. M. O., Egito, A. S., Figueirêdo, R. M. F., et al. (2022). *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) flour: Improving the nutritional, bioactive, and technological properties of probiotic goat-milk yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 113165.

Diez-Gutiérrez, L., Vicente, L. S., Barrón, L. J., Villarán, M. C., & Chávarri, M. (2020). Gamma-aminobutyric acid and probiotics: Multiple health benefits and their future in the global functional food and nutraceuticals market. *Journal of Functional Foods*, 64, 103-669.

Dönmez, Ö., Mogol, B. A., & Gökmen, V. (2017). Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science*, 100, 901-907.

Dutra, J. C. V., Oliveira, J. B. H., Santos, V. S., Pereira, P. R. C., Ferreira, J. M., & Batitucci, M. D. C. P. (2019). Fruiting increases total content of flavonoids and antiproliferative effects of *Cereus jamacaru* DC cladodes in sarcoma 180 cells in vitro. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 9, 66.

El-Zeini, H. M., El-Abd, M. M., Soryal, K. A., & Abo Hasiba, S. G. (2020). A Comparison Between Goat and Human Milk in Infant Feeding. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 11, 121-125.

Fagnani, R., Schuck, J., Botaro, B. G., & Santos, F. C. D. (2017). Extended storage of cold raw milk on yogurt manufacturing. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52, 104-112.

Feng, C., Wang, B., Zhao, A., Wei, L., Shao, Y., Wang, Y., et al. (2019). Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. *Food chemistry*, 277, 238-245.

Folch, J., Less, M., Sloane-Stanley, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.

Gheda, S., Naby, M. A, Mohamed, T., Pereira, L., & Khamis, A. (2021). Antidiabetic and antioxidant activity of phlorotannins extracted from the brown seaweed *Cystoseira compressa* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 11, 1-16.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., et al. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 491-502.

Guevara-Figueroa, T., Jiménez-Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G., Laursen, B. B., Lin, L. W., et al. (2010). Proximate composition, phenolic acids, and flavonoids characterization of commercial and wild nopal (*Opuntia* spp.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 525-532.

Ismail, M. M., Hamad, M. F., & Elraghy, E. M. (2018). Using goat's milk, barley flour, honey, and probiotic to manufacture of functional dairy product. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10, 677-691.

Jovanović, M., Petrović, M., Miočinović, J., Zlatanović, S., Laličić Petronijević, J., Mitić-Ćulafić, D. et al. (2020). Bioactivity and sensory properties of probiotic yogurt fortified with apple pomace flour. *Foods*, 9, 763.

- Kamal, R. M., Alnakip, M. E., Abd El Aal, S. F., & Bayoumi, M. A. (2018). Bio-controlling capability of probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* against some common foodborne pathogens in yoghurt. *International Dairy Journal*, 85, 1-7.
- Karnopp, A. R., Oliveira, K. G., Andrade, E. F., Postingher, B. M., & Granato, D. (2017). Optimization of an organic yogurt based on sensorial, nutritional, and functional perspectives. *Food Chemistry*, 233, 401-411.
- Kaur Sidhu, M., Lyu, F., Sharkie, T. P., Ajlouni, S., & Ranadheera, C. S. (2020). Probiotic Yogurt Fortified with Chickpea Flour: Physico-Chemical Properties and Probiotic Survival during Storage and Simulated Gastrointestinal Transit. *Foods*, 9, 1144.
- Korcz, E., & Varga, L. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: techno-functional application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 375-384.
- Laaksonen, O., Kahala, M., Marsol-Vall, A., Blasco, L., Järvenpää, E., Rosenvald, S., et al. (2021). Impact of lactic acid fermentation on sensory and chemical quality of dairy analogues prepared from lupine (*Lupinus angustifolius* L.) seeds. *Food Chemistry*, 346, 128852.
- Lima, R. S., Ferreira, S. R. S., Vitali, L., & Block, J. M. (2019). May the superfruit red guava and its processing waste be a potential ingredient in functional foods? *Food Research International*, 115, 451-459.
- Llano, D. G. I., Gil-Sanchez, A., Eteban-Fernandez, A. M., Ramos, M., Fernandez-Diaz, C., Cueva, M. V., et al. (2017). Reciprocal beneficial effects between wine polyphenols and probiotics: an exploratory study. *European Food Research Technology*, 243, 531-538.
- Liu, M., Li, X. Q., Weber, C., Lee, C. Y., Brown, J., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 2926-2930.
- Machado, A. D. G., Pacheco, M. T. B., Egypto Queiroga, R. D. C. R., Cavalcante, L. M., Bezerril, F. F., Ormenese, R. D. C. S. C., et al. (2021). Nutritional, physicochemical and sensorial acceptance of functional cookies enriched with xiquexique (*Pilosocereus gounellei*) flour. *PloS One*, 16, e0255287.
- Machado, T. A. D. G., Oliveira, M. E. G., Campos, M. I. F., Assis, P. O. A., Souza, E. L., Madruga, M. S., et al. (2017). Impact of honey on quality characteristics of goat yogurt containing probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *LWT – Food Science and Technology*, 80, 221-229.
- Marchiani, R., Bertolino, M., Belviso, S., Giordano, M., Ghirardello, D., Torri, L., et al. (2016). Yogurt enrichment with grape pomace: Effect of grape cultivar on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Journal of Food Quality*, 39, 77-89.

- Marhuenda-Muñoz, M., Laveriano-Santos, E. P., Tresserra-Rimbau, A., Lamuela-Raventós, R. M., Martínez-Huélamo, M., & Vallverdú-Queralt, A. (2019). Microbial phenolic metabolites: Which molecules actually have an effect on human health? *Nutrients*, 11, 2725.
- Marius, L. N., Shipandeni, M. N. T., & Togarepi, C. (2021). Review on the status of goat production, marketing, challenges and opportunities in Namibia. *Tropical Animal Health and Production*, 53, 1-9.
- Marković, J. M. D., Pejin, B., Milenković, D., Amić, D., Begović, N., Mojović, M., et al. (2017). Antiradical activity of delphinidin, pelargonidin and malvin towards hydroxyl and nitric oxide radicals: The energy requirements calculations as a prediction of the possible antiradical mechanisms. *Food Chemistry*, 218, 440–446.
- Mohammadi-Gouraji, E., Soleimanian-Zad, S., & Ghiaci, M. (2019). Phycocyaninenriched yogurt and its antibacterial and physicochemical properties during 21 days of storage. *LWT - Food Science and Technology*, 102, 230–236.
- Nagpal, R., Wang, S., Ahmadi, S., Hayes, J., Gagliano, J., Subashchandrabose, S. et al. (2018). Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports*, 8, 1-15.
- Ndabikunze, B. K., Mumba, F. G., Ngowi, H., Chove, L., Mongi, R., & Abdulsud, I. (2017). Development and sensory evaluation of yoghurt flavoured with solar dried fruits. *Journal of Agricultural Science and Food Technology*, 3, 125-131.
- Ng, K. S., Chang, Y. C., Chen, Y. P., Lo, Y. H., Wang, S. Y., & Chen, M. J. (2022). Characterization of exopolysaccharide – producing lactic acid bacteria from Taiwanese rosy fermented milk and their application in low-fat fermented milk. *Milk Bioscience*, 35, 281.
- Oliveira, F., Pontes, J. P., Queiroz, V. A. V., Ronchetti, E. F. S., Dutra, V. L. M., Correia, V. D. V., et al. (2020). Greek yogurt with added sorghum flours: antioxidant potential and sensory acceptance. *Revista Chilena de Nutricion*, 47, 272-280.
- Özcan, T., Ozdemir, T., & Avci, H. (2021). Survival of *Lactobacillus casei* and functional characteristics of reduced sugar red beetroot yoghurt with natural sugar substitutes. *International Journal of Dairy Technology*, 74, 148-160.
- Ozdal, T., Sela, D. A., Xiao, J., Boyacioglu, D., Chen, F., & Capanoglu, E. (2016). The reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. *Nutrients*, 8, 1–36.
- Öztürk, H. İ., Aydın, S., Sözeri, D., Demirci, T., Sert, D., & Akin, N. (2018). Fortification of set-type yoghurts with *Elaeagnus angustifolia* L. flours: Effects on physicochemical, textural, and microstructural characteristics. *LWT – Food Science and Technology*, 90, 620-626.
- Padilha, C. V. S., Miskinis, G. A., Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., et al. (2017). Rapid determination of flavonoids and phenolic

acids in grape juices and wines by RP-HPLC/DAD: Method validation and characterization of commercial products of the new Brazilian varieties of grape. *Food chemistry*, 228, 106-115.

Pal, M., Dudhrejiya, T. P., Pinto, S., Brahamani, D., Vijayageetha, V., Reddy, Y.K., et al. (2017). Goat milk products and their significance. *Beverage & food world*, 44(7), 21-25.

Pan, L. H., Liu, F., Luo, S. Z., & Luo, J. P. (2019). Pomegranate juice powder as sugar replacer enhanced quality and function of set yogurts: Structure, rheological property, antioxidant activity and in vitro bioaccessibility. *LWT - Food Science and Technology*, 115, 108479.

Pawlowska, E., Szczepanska, J., Blasiak, J. (2019). Pro-and antioxidant effects of vitamin C in cancer in correspondence to its dietary and pharmacological concentrations. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019. 1-18.

Pereira, M. C., Steffens, R. S., Jablonski, A., Hertz, P. F., Rios, A. D. O., Vizzotto, M., et al. (2013). Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29, 19-24.

Rezac, S., Kok, C. R., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented foods as a dietary source of live organisms. *Frontiers in microbiology*, 9, 1785.

Ribeiro, T. S., Sampaio, K. B., Menezes, F. N. D. D., Assis, P. O. A., Santos Lima, M., Oliveira, M. E. G., et al. (2020). *In vitro* evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. *3 Biotech*, 10, 1-9.

Riener, C., & Willingham, D. (2010). The myth of learning styles. *Change: The magazine of higher learning*, 42, 32-35.

Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Gonzaga, L. V., Caliar, V., Genovese, M. I., Gonçalves, A. E. D. S. S., et al. (2011). Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. *Food Chemistry*, 127.

Rybicka, I., & Gliszczyńska-Świgło, A. (2021). Sugars in dairy products of different flavours. *International Dairy Journal*, 114, 104933.

Safdar, A., Azman, K. F., Zakaria, R., Ab Aziz, C. B., & Rashid, U. (2020). Goat milk enhances memory of d-galactose-induced aging rats. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11, 117-122.

Safdari, Y., Vazifedoost, M., Didar, Z., & Hajirostamloo, B. (2021). The Effect of Banana Fiber and Banana Peel Fiber on the Chemical and Rheological Properties of Symbiotic Yogurt Made from Camel Milk. *International Journal of Food Science*, 2021, 1-7.

Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 978-986.

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 16, 605-616.

Santos P. E. V., Sousa F. D. D., Araújo, M. C. U., Diniz, P. H. G. D., & Maciel, M. I. S. (2020). Simultaneous determination of goat milk adulteration with cow milk and their fat and protein contents using NIR spectroscopy and PLS algorithms. *LWT - Food Science and Technology*, 127, 109427.

Sariburun, E.; Sahin, S.; Demir, C.; Turkben, C., & Uylaser, V. (2010). Phenolic content and antioxidant activity of raspberry cultivars. *Journal Food Science*, 75, 328–335.

Sartori, A. G. O., Alencar, S. M., Bastos, D. H. M., Regitano d'Arce, M. A. B., & Skibsted, L. H. (2018). Effect of water activity on lipid oxidation and nonenzymatic browning in Brazil nut flour. *European Food Research and Technology*, 244, 1657– 1663.

Singh, A., Vishwakarma, V., & Singhal, B. (2018). Metabiotics: the functional metabolic signatures of probiotics: Current state-of-art and future research priorities—Metabiotics: Probiotics effector molecules. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 09, 147–189.

Singla, V., & Chakkaravarthi, S. (2017). Applications of prebiotics in food industry: A review. *Food Science and Technology International*, 23, 649-667.

Sobhani, M., Farzaei, M. H, Kiani, S., & Khodarahmi, R. (2020). Immunomodulatory; anti-inflammatory/antioxidant effects of polyphenols: a comparative review on the parental compounds and their metabolites. *Food Reviews International*, 37, 1-53.

Song, X., Tan, L., Wang, M., Ren, C., Guo, C., Yang, B., et al. (2021). Myricetin: A review of the most recent research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 134, 111017.

Souza, E. L., Albuquerque, T. M. R., Santos, A. S., Massa, N. M. L., & Brito Alves, J. L. (2018). Potential interactions among phenolic compounds and probiotics for mutual boosting of their health-promoting properties and food functionalities—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 1645–1659

Succi, M., Tremonte, P., Pannella, G., Tipaldi, L., Cozzolino, A., Coppola, R., et al. Survival of commercial probiotic strains in dark chocolate with high cocoa and phenols content during the storage and in a static *in vitro* digestion model. *Journal of Functional Foods*, 35, 60 – 67.

Trigueros, L., Wojdyło, A., & Sendra, E. (2014). Antioxidant activity and protein–polyphenol interactions in a pomegranate (*Punica granatum* L.) yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 6417-6425.

Verruck, S., Dantas, A., & Prudencio, E. S. (2019). Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. *Journal of functional foods*, 52, 243-257.

Vital, A. C. P., Goto, P. A., Hanai, L. N., Gomes-da-Costa, S. M., Abreu Filho, B. A., Nakamura, C. V., et al. (2015). Microbiological, functional and rheological properties of low-fat yogurt supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract. *LWT - Food Science and Technology*, 64, 1028–1035.

Wang, X., Kristo, E., & LaPointe, G. (2020). Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. *Food Hydrocolloids*, 100, 105453.

WHO, & FAO. (2011). *Codex Alimentarius, Milk and Milk Products* (2nd. Edn). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations and the World Health Organization.

Xiang, H., Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I., Cui, C., & Ruan, Z. (2019). Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. *Food Science and Human Wellness*, 8, 203-243.

Zhang, T., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Bae, H., Seo, H. G., Petriello, M. C., et al. (2018). Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 101, 276–284.

Figure captions

Fig. 1 – Mean apparent viscosity values of goat yoghurts during 28 days refrigerated storage. CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF

Fig. 2 - Mean values of pH (a), acidity (b) and total sugars (c) of goat yogurts during. CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF

Fig. 3 – Viable cell counts (log CFU/g) count from the initial culture (*S. thermophilus* and *L. bulgaricus*) values of goat yogurts for 28 days refrigerated storage are presented.

Table 1 - Physicochemical characteristic and antioxidant potential (mean $\pm$ standard deviation) of tamarind jelly.

Parameter	Tamarind jelly
Physicochemical characteristic	
a_w ¹	0.808 $\pm$ 0.002
Brix (g 100 g ⁻¹)	65.30 $\pm$ 0.03
Moisture (g 100 g ⁻¹)	41.51 $\pm$ 0.45
RMF (g 100 g ⁻¹) ²	1.70 $\pm$ 0.01
pH	2.50 $\pm$ 0.02
Protein(g 100 g ⁻¹)	1.58 $\pm$ 0.13
Lipids (g 100 g ⁻¹)	0.17 $\pm$ 0.08
Antioxidant activity	
Total phenolics (mg AGE 100 g ⁻¹) ³	147.10 $\pm$ 0.01
Total flavonoids (mg EC 100 g ⁻¹) ⁴	12.06 $\pm$ 0.01
FRAP (μ mol Trolox TEACT 100g ⁻¹) ⁵	58.23 $\pm$ 0.01
ABTS (μ mol trolox TEACT g ⁻¹) ⁶	0.28 $\pm$ 0.01

a_w ¹ – Water activity ; RMF² - Fixed mineral residue, ash;³The results are expressed in milligram equivalents of galic acid (AGE) per hundred grams of sample (mg AGE 100 g⁻¹). ⁴The results are expressed in milligram equivalents of catechin (EC) per hundred grams of sample (mg EC 100 g⁻¹). ⁵The results are expressed as micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per hundred grams of sample μ mol TEAC 100 g⁻¹).⁶The results are expressed as micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per gram of sample (μ mol TEAC g⁻¹).

Table 2 - Mean values ($\pm$ standard deviations) of syneresis and color of yogurts during 28 days stored refrigerated.

Parameter	Days	Treatment			
		CY	YJ	YJF1%	YJF2%
Syneresis (%)	1	39.00 $\pm$ 1.32 ^{aA}	31.05 $\pm$ 1.01 ^{bA}	27.30 $\pm$ 0.73 ^{bA}	22.75 $\pm$ 0.11 ^{cA}
	14	33.32 $\pm$ 0.81 ^{aB}	31.49 $\pm$ 0.29 ^{aA}	23.38 $\pm$ 0.55 ^{bB}	21.87 $\pm$ 0.07 ^{cB}
	28	27.56 $\pm$ 0.50 ^{aC}	24.88 $\pm$ 0.01 ^{bB}	20.83 $\pm$ 0.12 ^{cC}	20.50 $\pm$ 0.13 ^{cC}
<i>Color</i>					
L*	1	84.16 $\pm$ 0.17 ^{aB}	80.63 $\pm$ 0.12 ^{bB}	77.40 $\pm$ 0.20 ^{cA}	75.83 $\pm$ 0.07 ^{dB}
	14	85.37 $\pm$ 0.30 ^{aA}	82.31 $\pm$ 0.15 ^{bA}	78.42 $\pm$ 0.22 ^{cA}	76.55 $\pm$ 0.23 ^{dA}
	28	85.07 $\pm$ 0.06 ^{aA}	79.78 $\pm$ 0.01 ^{bC}	75.73 $\pm$ 0.64 ^{cB}	74.62 $\pm$ 0.10 ^{dC}
a*	1	-2.23 $\pm$ 0.07 ^{bA}	-1.89 $\pm$ 0.08 ^{aA}	-2.07 $\pm$ 0.11 ^{abA}	-2.19 $\pm$ 0.18 ^{abA}
	14	-2.62 $\pm$ 0.01 ^{bB}	-2.16 $\pm$ 0.11 ^{aB}	-2.30 $\pm$ 0.10 ^{aB}	-2.52 $\pm$ 0.03 ^{bB}
	28	-3.04 $\pm$ 0.05 ^{cC}	-2.16 $\pm$ 0.06 ^{aB}	-2.52 $\pm$ 0.02 ^{bB}	-2.45 $\pm$ 0.10 ^{bAB}
b*	1	6.94 $\pm$ 0.20 ^c	9.56 $\pm$ 0.25 ^b	12.56 $\pm$ 0.96 ^a	13.82 $\pm$ 0.79 ^a
	14	6.88 $\pm$ 0.04 ^d	9.40 $\pm$ 0.13 ^c	13.25 $\pm$ 0.12 ^b	14.56 $\pm$ 0.30 ^a
	28	6.96 $\pm$ 0.18 ^d	9.72 $\pm$ 0.08 ^c	12.66 $\pm$ 0.26 ^b	14.69 $\pm$ 0.20 ^a

CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF

^{a-d} Mean $\pm$ standard deviation with different lowercase letters on the same line differed by the Tukey test ($p < 0.05$), between treatments.

^{A-C} Mean $\pm$ standard deviation with different capital letters in the same column differed by Tukey's test ($p < 0.05$), over storage time.

Tabela 3 – Mean values ($\pm$ standard deviation) of physical and physicochemical variables of goat yogurts during 28 days storage refrigerated.

Parameter		Days	Treatment			
			CY	YJ	YJF1%	YJF2%
Total Soluble Solids (g 100 g ⁻¹)		1	18.16 $\pm$ 0.02 ^{dA}	21.15 $\pm$ 0.19 ^{cA}	22.11 $\pm$ 0.11 ^{bA}	23.08 $\pm$ 0.08 ^{aA}
		14	16.01 $\pm$ 0.18 ^{cB}	19.93 $\pm$ 0.22 ^{bB}	20.64 $\pm$ 0.44 ^{abB}	21.23 $\pm$ 0.097 ^{aB}
		28	16.66 $\pm$ 0.34 ^{cB}	19.02 $\pm$ 0.14 ^{bC}	19.49 $\pm$ 0.038 ^{abC}	20.21 $\pm$ 0.18 ^{aC}
Ash (g 100 g ⁻¹)		1	0.60 $\pm$ 0.06 ^c	0.66 $\pm$ 0.05 ^{bc}	0.76 $\pm$ 0.01 ^b	0.93 $\pm$ 0.01 ^a
		14	0.65 $\pm$ 0.01 ^b	0.68 $\pm$ 0.01 ^b	0.81 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.90 $\pm$ 0.08 ^a
		28	0.63 $\pm$ 0.01 ^c	0.67 $\pm$ 0.01 ^{bc}	0.79 $\pm$ 0.05 ^b	0.92 $\pm$ 0.04 ^a
Protein (g 100 g ⁻¹)		1	3.48 $\pm$ 0.02 ^b	4.11 $\pm$ 0.15 ^b	4.34 $\pm$ 0.16 ^{ab}	4.81 $\pm$ 0.23 ^a
		14	3.18 $\pm$ 0.18 ^b	4.10 $\pm$ 0.14 ^a	4.33 $\pm$ 0.16 ^a	4.81 $\pm$ 0.22 ^a
		28	3.02 $\pm$ 0.08 ^d	3.81 $\pm$ 0.13 ^c	4.11 $\pm$ 0.04 ^b	4.75 $\pm$ 0.08 ^a
Lipids (g 100 g ⁻¹)		1	2.80 $\pm$ 0.11 ^A	2.90 $\pm$ 0.16	2.94 $\pm$ 0.06	3.41 $\pm$ 0.17
		14	2.87 $\pm$ 0.09 ^A	2.88 $\pm$ 0.02	2.89 $\pm$ 0.08	2.96 $\pm$ 0.07
		28	2.55 $\pm$ 0.11 ^B	2.82 $\pm$ 0.11	3.47 $\pm$ 0.31	3.75 $\pm$ 0.50

CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF

^{a-d} Mean $\pm$ standard deviation with different lowercase letters on the same line differed by the Tukey test ($p < 0.05$), between treatments.

^{A-C} Mean $\pm$ standard deviation with different capital letters in the same column differed by Tukey's test ($p < 0.05$), over storage time.

Table 4 – Sugar and organic profile of goat yogurts stored refrigerated for 28 days.

Parameter	Days	Treatment			
		CY	YJ	YJF1%	YJF2%
Sugar (g 100 g ⁻¹)					
Lactose	1	7.75 ±0.04 ^{aA}	6.63 ±0.13 ^{bA}	6.39 ±0.04 ^{bA}	5.25 ±0.01 ^{cA}
	14	7.27 ±0.08 ^{aB}	6.08 ±0.08 ^{bB}	5.74 ±0.09 ^{cB}	5.35 ±0.13 ^{dA}
	28	7.17 ±0.10 ^{aB}	6.03 ±0.06 ^{bB}	5.68 ±0.04 ^{cB}	4.14 ±0.10 ^{dB}
Glucose	1	6.71 ±0.06 ^{cA}	8.57 ±0.08 ^{bA}	8.73 ±0.01 ^{bA}	9.96 ±0.02 ^{aA}
	14	5.50 ±0.04 ^{bB}	7.89 ±0.09 ^{aB}	7.79 ±0.18 ^{aB}	7.39 ±0.14 ^{aB}
	28	3.98 ±0.02 ^{cC}	5.70 ±0.14 ^{aC}	4.50 ±0.11 ^{bC}	4.19 ±0.16 ^{bC}
Galactose	1	6.16 ±0.14 ^{cA}	7.29 ±0.06 ^{bA}	7.41 ±0.05 ^{bA}	8.54 ±0.19 ^{aA}
	14	5.14 ±0.08 ^{bB}	6.77 ±0.04 ^{aB}	6.59 ±0.16 ^{aB}	6.39 ±0.14 ^{aB}
	28	5.01 ±0.07 ^{aC}	3.29 ±0.10 ^{bC}	3.87 ±0.13 ^{bC}	3.90 ±0.04 ^{bC}
Acid organics (g 100 g ⁻¹)					
Citric	1	0.17 ±0.11 ^{aA}	0.11 ±0.11 ^{aA}	0.20 ±0.04 ^{aA}	0.22 ±0.07 ^{aA}
	14	0.23 ±0.03 ^{aA}	0.14 ±0.11 ^{aA}	0.14 ±0.01 ^{aA}	0.27 ±0.10 ^{aA}
	28	0.28 ±0.03 ^{aA}	0.19 ±0.01 ^{aA}	0.09 ±0.06 ^{aA}	0.30 ±0.06 ^{aA}
Lactic	1	2.38 ±0.04 ^{aB}	2.24 ±0.04 ^{aB}	2.14 ±0.04 ^{aC}	1.48 ±0.08 ^{bC}
	14	2.78 ±0.01 ^{bB}	3.16 ±0.09 ^{aAB}	3.20 ±0.07 ^{aB}	3.40 ±0.09 ^{aB}
	28	3.33 ±0.05 ^{bA}	3.88 ±0.06 ^{bA}	4.23 ±0.09 ^{aA}	4.54 ±0.09 ^{aA}
Formic	1	0.02 ±0.57 ^{aA}	0.04 ±0.98 ^{aA}	0.01 ±0.68 ^{aA}	0.04 ±0.00 ^{aA}
	14	0.04 ±0.01 ^{aA}	0.03 ±0.78 ^{aA}	0.03 ±0.78 ^{aA}	0.03 ±0.78 ^{aA}
	28	0.47 ±0.56 ^{aA}	0.24 ±0.99 ^{aA}	0.14 ±1.00 ^{aA}	0.12 ±1.20 ^{aA}
Propionic	1	0.34 ±0.10 ^{aB}	0.31 ±0.17 ^{aA}	0.41 ±0.06 ^{aA}	0.34 ±0.12 ^{aA}
	14	0.57 ±0.03 ^{aAB}	0.44 ±0.20 ^{aA}	0.39 ±0.02 ^{aA}	0.51 ±0.13 ^{aA}
	28	0.63 ±0.07 ^{aA}	0.66 ±0.01 ^{aA}	0.70 ±0.16 ^{aA}	0.76 ±0.11 ^{aA}

CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF

^{a-d} Mean ± standard deviation with different lowercase letters on the same line differed by the Tukey test ($p < 0.05$), between treatments.

^{A-C} Mean ± standard deviation with different capital letters in the same column differed by Tukey's test ($p < 0.05$), over storage time.

Table 5 – Profile of phenolic compounds, total content of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of goat yogurts during 28 days refrigerated storage.

Parameter	Days	Treatment			
		CY	YJ	YJF1%	YJF2%
Phenolic compounds (mg 100 g ⁻¹)					
Hesperidin	1	<LOD	<LOD	<LOD	0.23 ±0.01 ^B
	14	<LOD	<LOD	<LOD	0.27 ±0.01 ^B
	28	<LOD	<LOD	<LOD	0.36 ±0.06 ^A
Cis-Resveratrol	1	<LOD	<LOD	0.53 ±0.03 ^{bb}	1.34 ±0.07 ^{aA}
	14	<LOD	<LOD	0.51 ±0.00 ^{bb}	1.26 ±0.38 ^{aA}
	28	<LOD	<LOD	0.86 ±0.05 ^{ba}	1.75 ±0.11 ^{aA}
Procyanidin B1	1	0.07 ±0.01 ^{cB}	0.12 ±0.01 ^{aB}	0.12 ±0.01 ^{aA}	0.10 ±0.01 ^{bb}
	14	0.11 ±0.01 ^{aA}	0.14 ±0.01 ^{aA}	0.13 ±0.02 ^{aA}	0.10 ±0.02 ^{aB}
	28	0.06 ±0.01 ^{cB}	0.15 ±0.01 ^{ba}	0.15 ±0.01 ^{ba}	0.48 ±0.03 ^{aA}
Catechin	1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	14	0.15 ±0.01 ^B	<LOD	<LOD	<LOD
	28	0.39 ±0.01 ^{aA}	<LOD	0.14 ±0.01 ^c	0.21 ±0.01 ^b
Procyanidin B2	1	<LOD	0.17 ±0.02 ^{bb}	0.23 ±0.01 ^{aA}	0.22 ±0.01 ^{aAB}
	14	0.09 ±0.01 ^{bb}	0.24 ±0.02 ^{aA}	0.22 ±0.02 ^{aA}	0.15 ±0.05 ^{aB}
	28	0.19 ±0.01 ^{ba}	0.20 ±0.00 ^{baB}	0.30 ±0.03 ^{aA}	0.33 ±0.02 ^{aA}
Epigallocatechin gallate	1	0.10 ±0.01 ^{ba}	0.08 ±0.00 ^{cB}	0.13 ±0.01 ^{bcA}	0.21 ±0.01 ^{aA}
	14	0.12 ±0.01 ^{aA}	0.10 ±0.04 ^{abA}	0.07 ±0.01 ^{bb}	0.08 ±0.01 ^{bb}
	28	0.12 ±0.00 ^{aA}	0.07 ±0.00 ^{bbB}	0.08 ±0.00 ^{bbB}	0.11 ±0.01 ^{aB}
Epicatechin	1	0.17 ±0.01 ^{aA}	0.15 ±0.01 ^{aA}	0.15 ±0.01 ^{aA}	0.15 ±0.01 ^{aA}
	14	0.17 ±0.01 ^{aA}	0.17 ±0.01 ^{aA}	0.16 ±0.02 ^{aA}	0.15 ±0.04 ^{aA}
	28	0.04 ±0.01 ^{aB}	0.05 ±0.01 ^{aB}	0.05 ±0.05 ^{aB}	0.06 ±0.05 ^{aB}
Epicatechin gallate	1	0.54 ±0.04 ^{bb}	1.06 ±0.02 ^{abB}	1.18 ±0.14 ^{aA}	0.79 ±0.01 ^{ba}
	14	0.84 ±0.08 ^{ba}	1.28 ±0.02 ^{abA}	1.59 ±0.16 ^{aA}	0.94 ±0.23 ^{ba}
	28	0.09 ±0.01 ^{bc}	0.92 ±0.04 ^{aC}	0.91 ±0.1 ^{aB}	1.02 ±0.10 ^{aA}
Caffeic acid	1	<LOD	<LOD	<LOD	0.04 ±0.01 ^B
	14	<LOD	<LOD	<LOD	0.32 ±0.01 ^A
	28	<LOD	<LOD	0.02 ±0.01 ^b	0.05 ±0.01 ^{aB}
Trans-Resveratrol	1	<LOD	<LOD	<LOD	0.05 ±0.02 ^B
	14	<LOD	<LOD	<LOD	0.24 ±0.26 ^A
	28	<LOD	<LOD	0.04 ±0.01 ^b	0.07 ±0.01 ^{aB}
Myricetin	1	<LOD	<LOD	3.81 ±0.20 ^{bb}	9.50 ±0.44 ^{aB}
	14	<LOD	<LOD	3.85 ±0.21 ^{bb}	9.80 ±0.42 ^{aB}
	28	0.06 ±0.01 ^c	0.04 ±0.01 ^c	5.94 ±0.42 ^{ba}	12.52 ±0.76 ^{aA}
Quercetin 3-Glucoside	1	0.09 ±0.01 ^{cA}	0.08 ±0.01 ^{cA}	0.11 ±0.01 ^{bb}	0.18 ±0.01 ^{aA}
	14	0.10 ±0.01 ^{ba}	0.09 ±0.01 ^{ba}	0.10 ±0.01 ^{bb}	0.18 ±0.03 ^{aA}
	28	0.09 ±0.01 ^{cA}	0.09 ±0.01 ^{cA}	0.14 ±0.01 ^{ba}	0.21 ±0.01 ^{aA}
Rutina	1	<LOD	<LOD	0.08 ±0.01 ^{bb}	0.19 ±0.01 ^{aB}
	14	<LOD	<LOD	0.07 ±0.01 ^{bb}	0.23 ±0.01 ^{aAB}
	28	<LOD	<LOD	0.14 ±0.01 ^{ba}	0.27 ±0.02 ^{aA}
Kaempferol 3-glucosideo	1	<LOD	<LOD	3.05 ±0.16 ^{bb}	7.58 ±0.43 ^{aB}
	14	<LOD	0.27 ±0.01 ^{cA}	2.96 ±0.03 ^{bb}	7.14 ±0.42 ^{aB}
	28	<LOD	0.03 ±0.01 ^{cB}	4.85 ±0.28 ^{ba}	9.81 ±0.61 ^{aA}
Total phenolics (mg EAG/100 g) ¹	1	9.68 ±0.01 ^{dA}	17.86 ±1.09 ^{cA}	37.35 ±1.09 ^{ba}	46.79 ±1.09 ^{aA}
	14	7.79 ±0.01 ^{dB}	15.97 ±1.09 ^{cA}	27.92 ±1.09 ^{bb}	45.53 ±0.50 ^{aA}
	28	7.16 ±1.09 ^{dB}	16.60 ±1.09 ^{cA}	23.52 ±1.09 ^{bc}	45.53 ±0.01 ^{aA}
Total flavonoids (mg EC/100 g) ²	1	0.58 ±0.01 ^{dA}	0.64 ±0.02 ^{cA}	0.95 ±0.02 ^{ba}	1.14 ±0.10 ^{aA}
	14	0.58 ±0.02 ^{dA}	0.64 ±0.01 ^{cA}	0.89 ±0.02 ^{aB}	0.88 ±0.10 ^{aB}
	28	0.58 ±0.01 ^{cA}	0.64 ±0.01 ^{ba}	0.77 ±0.05 ^{aC}	0.77 ±0.50 ^{aC}
	1	0.07 ±0.01 ^{cA}	0.24 ±0.02 ^{ba}	0.28 ±0.01 ^{ba}	0.32 ±0.01 ^{aA}

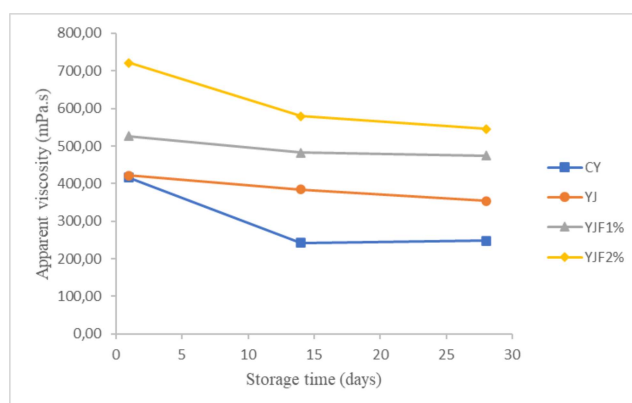
ABTS (μmol Trolox	14	0.07 ±0.01 ^{cA}	0.23 ±0.01 ^{bA}	0.26 ±0.01 ^{bb}	0.28 ±0.01 ^{aB}
TEAC/g) ³	28	0.06 ±0.01 ^{cA}	0.21 ±0.01 ^{bB}	0.22 ±0.01 ^{bC}	0.26 ±0.02 ^{aB}
FRAP (μmol Trolox	1	1.11 ±0.02 ^{cA}	4.77 ±0.09 ^{aA}	4.87 ±0.01 ^{aA}	4.56 ±0.01 ^{bA}
TEAC/100 g) ⁴	14	1.09 ±0.01 ^{bA}	4.34 ±0.09 ^{aB}	4.50 ±0.09 ^{aAB}	4.34 ±0.09 ^{aB}
	28	1.06 ±0.01 ^{cB}	4.13 ±0.09 ^{bB}	4.34 ±0.09 ^{aB}	4.29 ±0.09 ^{abB}

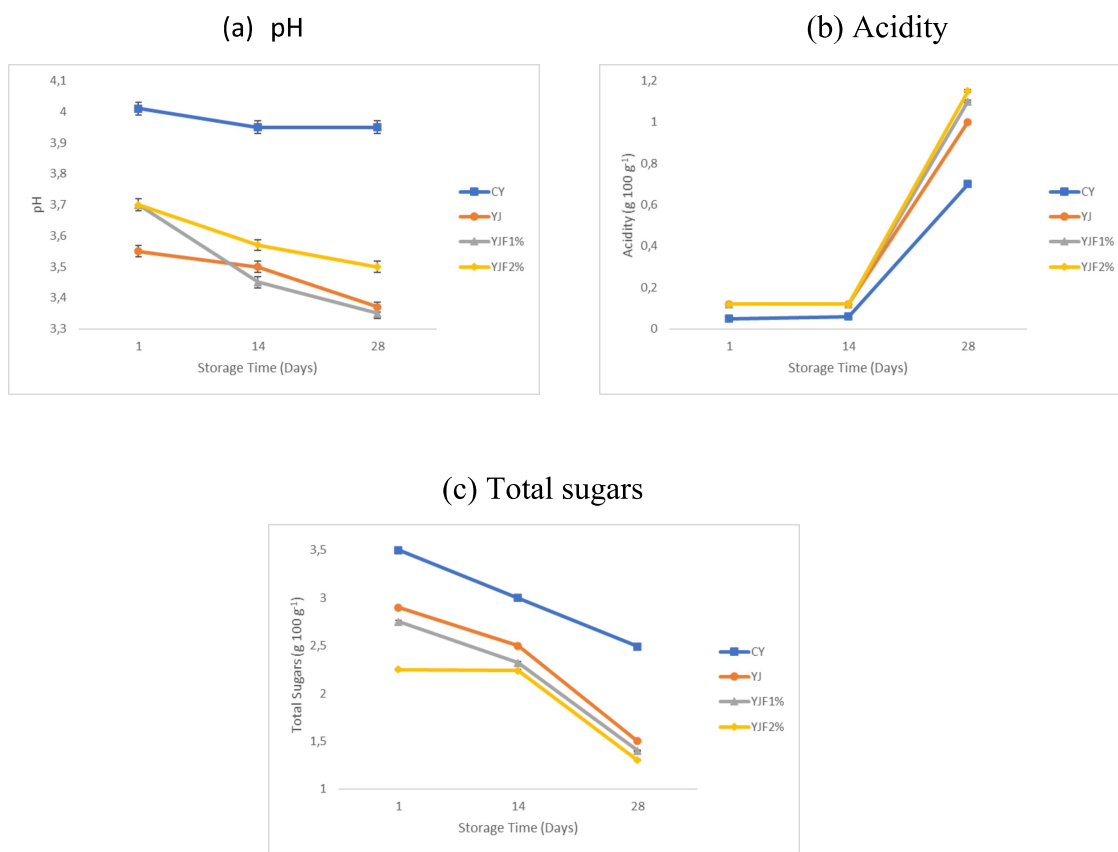
Abbreviations: <LOD: below the limit of detection.– CY - Control goat yogurt (Without jelly and flour); YJ - Goat yogurt added 10% whit TG; YJF1% - Goat yogurt added 10% de TG and 1% MCF; YJF2% - Goat yogurt added 10% de TG and 2% MCF.

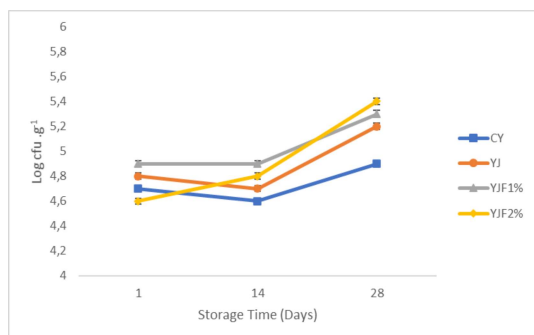
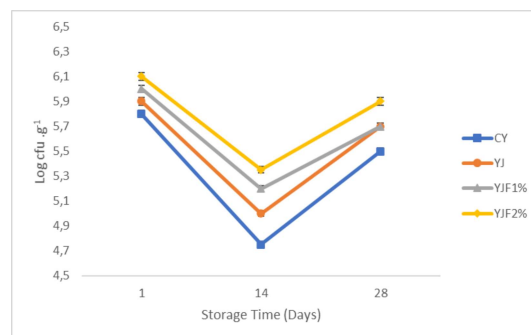
^{a-d} Mean ± standard deviation with different lowercase letters on the same line differed by the Tukey test ($p < 0.05$), between treatments.

^{A-C} Mean ± standard deviation with different capital letters in the same column differed by Tukey's test ($p < 0.05$), over storage time.

¹The results are expressed in milligram equivalents of galic acid (EGA) per hundred grams of sample (mg EGA 100 g⁻¹). ²The results are expressed in milligram equivalents of catechin (EC) per hundred grams of sample (mg EC 100 g⁻¹). ³The results are expressed as micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per hundred grams of sample μmol TEAC 100 g⁻¹). ⁴The results are expressed as micromoles of Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) per gram of sample (μmol TEAC g⁻¹).

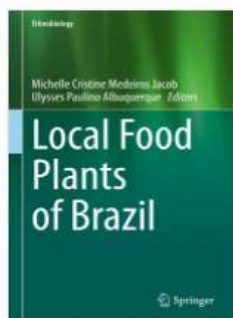
**Fig. 1**

**Fig. 2**

(a) *Streptococcus thermophilus*(b) *Lactobacillus bulgaricus***Fig. 3**

APÊNDICE

APÊNDICE A – Capítulo de Livro Publicado



© 2021

Local Food Plants of Brazil

Editors ([view affiliations](#))

Michelle Cristine Medeiros Jacob, Ulysses Paulino Albuquerque

Broadens understanding of basic theories on the interrelationship between Biodiversity and Food and Nutrition Security

Equips readers a significant set of nutritional data on Brazilian food plants

Explains methods of learning and teaching Brazilian food plants through artificial intelligence, workshops, and social media, among others

Food Plants in the Caatinga

[Daline Fernandes de Souza Araújo](#), [Maria Elieidy Gomes de Oliveira](#), [Paloma Oliveira Antonino Assis de Carvalho](#), [Emanuella de Aragão Tavares](#), [Gerlane Coelho Bernardo Guerra](#), [Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga](#), [Silvana Maria Zucolotto Langassner](#), [Fabrícia França Bezerril](#), [Ana Cristina Silveira Martins](#), [Gracy Kelly Vieira de Vasconcelos Medeiros](#), [Tamires Alcântara Dourado Gomes Machado](#) & [Nadja Maria da Costa Melo](#)

Chapter | [First Online: 04 June 2021](#)

455 Accesses

Part of the [Ethnobiology](#) book series (EBL)