



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS (PPGCTA)
MESTRADO

JANUSE MÍLLIA DANTAS DE ARAÚJO

EFEITOS DA ADIÇÃO DE FIBRAS ALIMENTARES E TRATAMENTO COM
ULTRASSOM EM BEBIDAS DE CLADÓDIO DE PALMA (*Opuntia dillenii*)

JOÃO PESSOA – PB

2024

JANUSE MÍLLIA DANTAS DE ARAÚJO

**EFEITOS DA ADIÇÃO DE PREBIÓTICOS E TRATAMENTO COM ULTRASSOM
EM BEBIDAS DE CLADÓDIO DE PALMA (*Opuntia dillenii*)**

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

Orientadora: Prof^ª Dr^a Jailane de Souza Aquino

Coorientadora: Prof^ª Dr^a Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro

JOÃO PESSOA-PB

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663e Araújo, Januse Míllia Dantas de.

Efeitos da adição de fibras alimentares e tratamento com ultrassom em bebidas de cladódio de palma (*Opuntia dillenii*) / Januse Míllia Dantas de Araújo. - João Pessoa, 2024.
92 f. : il.

Orientação: Jailane de Souza Aquino.

Coorientação: Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CT.

1. Fibras dietéticas. 2. Cactáceas. 3. Compostos fenólicos. 4. Bioacessibilidade. 5. Atividade antidiabética. 6. Análise sensorial. I. Aquino, Jailane de Souza. II. Cordeiro, Angela Maria Tribuzy de Magalhães. III. Título.

UFPB/BC

CDU 677.19(043)

JANUSE MÍLLIA DANTAS DE ARAÚJO

**EFEITOS DA ADIÇÃO DE PREBIÓTICOS E TRATAMENTO COM
ULTRASSOM EM BEBIDAS DE CLADÓDIO DE PALMA (*Opuntia dillenii*)**

Dissertação aprovada em 22 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Jailane de Souza Aquino – CCS/UFPB
Presidente da Banca Examinadora
Orientadora



Profª. Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro – CTDR/UFPB
Coorientadora



Profª. Dra. Taliana Kênia Alencar Bezerra – CT/UFPB
Examinadora Interna



Profª. Dra. Maria Elieidy Gomes de Oliveira – CCS/UFPB
Examinadora Externa

À minha família, por seu amor incondicional, compreensão e apoio.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos e todos os professores e servidores que o integram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) pelo financiamento do projeto, sob processo n. 3104/2021.

À minha orientadora, professora Dra. Jailane de Souza Aquino, por toda compreensão e apoio prestados durante a pesquisa, por todos os ensinamentos e por todas as oportunidades proporcionadas. Sem o seu apoio, a realização e o progresso, desse trabalho, não seriam possíveis. À senhora, dedico toda a minha admiração e gratidão. Muito obrigada!

À minha coorientadora, professora Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro, por todos os ensinamentos e por todo o apoio, durante o período da pesquisa, e por toda solicitude e disponibilidade para auxiliar sempre que necessário. À senhora, dedico toda a minha admiração e gratidão!

Às professoras Marciane Magnani e Tatiana Pimentel por todo apoio e contribuições prestadas durante a pesquisa.

Às professoras Maria Elieidy e Taliana Kenia por terem aceito o convite para compor a banca examinadora, trazendo contribuições valiosas para o enriquecimento deste trabalho.

Aos membros do Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), em especial às técnicas Rosi e Dani, por todo auxílio prestado, pela solicitude e disponibilidade, sempre dispostas a ajudar. Muito obrigada!

Aos membros do Laboratório de Processos Microbianos em Alimentos, agradeço, em especial, à Ísis Meirelles, Whyara Almeida, Fernando Azevedo e Rutchelly Tavares, por me acolherem e por compartilharem momentos de alegria e aflição, tornando a rotina de pesquisa mais leve. Sempre irei me recordar destes momentos com muito carinho!

Agradeço aos professores e técnicos dos laboratórios parceiros, Laboratório de Processos Microbianos em Alimentos (professora Dra. Marciane Magnani e técnica Whyara Almeida – CT/UFPB); Laboratório de Técnica Dietética e Bromatologia (professora Maria Elieidy Gomes de Oliveira e técnico Guilherme Costa - CCS/UFPB);

Laboratório de Físico-Química (Professora Dra. Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro e técnicos Renne Pinto, Maristela Alves - CTDR/UFPB); Laboratório de Bebidas (Professor Dr. Marcos dos Santos Lima - IFSertãoPE); Laboratório de Processos de Alimentos (Professora Tatiana Colombo Pimentel e técnico Carlos Eduardo Barão - IFPR); Laboratório de Leite e Derivados (Professora Dra. Taliana Kenia Bezerra – CT/UFPB), pela parceria estabelecida, que viabilizaram a realização de análises indispensáveis e de grande relevância para esse trabalho. Sou extremamente grata pelo apoio de todos!

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por sua infinita bondade.

Agradeço à minha família, em especial aos meus pais Maria e Juscelino, ao meu irmão Jefferson, à minha avó Mariquinha e aos meus avós e Rita Angelina e Pedro Germano (*in memorian*), por todo amor, zelo, carinho, apoio e compreensão que tiveram comigo durante todos os momentos importantes da minha vida. Sou muito grata por sempre apoiarem em minhas decisões, me amparando e me dando forças nos momentos difíceis e celebrando, com alegria genuína, cada uma das minhas conquistas. Palavras jamais seriam suficientes para expressar o amor e a gratidão que eu sinto por vocês. Essa conquista é nossa!

À Elizângela Alves, Fabrícia Ferreira e Larissa Dutra, que foram presenteadas pela vida acadêmica e se fazem presentes em momentos muito importantes da minha vida, sempre compartilhando boas experiências e sentimentos, tornando a rotina de pesquisa mais leve. A vocês, todo meu carinho e gratidão!

*“Há homens que lutam um dia e são bons,
há outros que lutam um ano e são
melhores, há os que lutam muitos anos e
são muito bons. Mas há os que lutam toda
a vida e, estes, são imprescindíveis.”*

Bertolt Brecht

RESUMO

Os cladódios de *Opuntia dillenii* apresentam uma composição rica em nutrientes e compostos funcionais, destacando-se os compostos fenólicos, vitamina C, fibras dietéticas e minerais. Por este motivo, os cladódios têm se tornado foco de diversos estudos, contudo, informações na literatura sobre seu uso no desenvolvimento de alimentos funcionais e suas atividades biológicas ainda são escassas e limitadas, o que influencia na baixa popularidade desta cactácea na alimentação humana. Dessa forma, este estudo teve como objetivo elaborar bebidas à base de cladódios de palma adicionadas de prebióticos e tratadas com ultrassom e avaliar os parâmetros físico-químicos, nutricionais e sensoriais, bem como a bioacessibilidade de compostos fenólicos, e bioatividade das bebidas. Para isso, foram formuladas cinco bebidas: controle sem tratamento (BC), controle tratada com ultrassom (BU), tratada com ultrassom e adicionada de inulina (BIU), tratada com ultrassom e adicionada de frutoligossacarídeos (BFU) e tratada com ultrassom e adicionada de polidextrose (BPU). Posteriormente foram realizadas análises de determinação de fibras dietéticas, pH, acidez, ácido ascórbico, clorofila, cor, perfil de açúcares, ácidos orgânicos e oligossacarídeos, perfil e bioacessibilidade de compostos fenólicos, atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP e atividade antidiabética *in vitro* por inibição enzimática (alfa-amilase e alfa-glicosidase) e qualidade sensorial. Observou-se que a adição de prebióticos promoveu aumento de 10,44 a 20,70% do conteúdo de fibras dietéticas totais. BPU apresentou a maior concentração e estabilidade dos compostos fenólicos, ácido ascórbico, ácido fórmico e ácido málico durante todo o tempo de armazenamento, além de aumentar o potencial e estabilidade da atividade antioxidante, analisada pelo método FRAP. Ademais, a bebida adicionada de FOS aumentou significativamente a taxa de bioacessibilidade de compostos fenólicos. O tratamento com ultrassom intensificou as características sensoriais desejáveis das bebidas, além de reduzir a intensidade das características sensoriais indesejáveis. Os resultados mostraram que a bebida adicionada de polidextrose apresentou maior preservação da estabilidade de compostos fenólicos e vitamina C ao longo de sua vida útil, preservando sua funcionalidade e aumentando a aceitabilidade do produto.

Palavras-chave: cactáceas, compostos fenólicos, fibras dietéticas, bioacessibilidade, atividade antidiabética, análise sensorial.

ABSTRACT

Opuntia dillenii cladodes have a composition rich in nutrients and functional compounds, highlighting phenolic compounds, vitamin C, dietary fiber and minerals. For this reason, cladodes have become the focus of several studies, however, information in the literature about their use in the development of functional foods and their biological activities is still scarce and limited, which influences the low popularity of this cactus in human food. Therefore, this study aimed to develop beverages based on palm cladodes added with prebiotics and treated with ultrasound and evaluate the physicochemical, nutritional and sensory parameters, as well as the bioaccessibility of phenolic compounds, and bioactivity of the beverages. For this, five beverages were formulated: control without treatment (BC), control treated with ultrasound (BU), treated with ultrasound and added inulin (BIU), treated with ultrasound and added fructooligosaccharides (BFU) and treated with ultrasound and added of polydextrose (BPU). Subsequently, analyses were carried out to determine dietary fiber, pH, acidity, ascorbic acid, chlorophyll, color, sugar profile, organic acids and oligosaccharides, profile and bioaccessibility of phenolic compounds, antioxidant activity by the ABTS, DPPH and FRAP methods and antidiabetic activity in vitro by enzyme inhibition (alpha-amylase and alpha-glucosidase) and sensorial quality. It was observed that the addition of prebiotics promoted an increase of 10.44 to 20.70% in the total dietary fiber content. BPU presented the highest concentration and stability of phenolic compounds, ascorbic acid, formic acid and malic acid throughout the storage time, in addition to increasing the potential and stability of antioxidant activity, analyzed by the FRAP method. Furthermore, the beverage added with FOS significantly increased the bioaccessibility rate of phenolic compounds. Ultrasound treatment intensified the desirable sensory characteristics of the beverages, in addition to reducing the intensity of undesirable sensory characteristics. The results showed that the beverage added with polydextrose presented greater preservation of the stability of phenolic compounds and vitamin C throughout its useful life, preserving its functionality and increasing the acceptability of the product.

Keywords: cacti, phenolic compounds, dietary fiber, bioaccessibility, antidiabetic activity, sensory analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cladódios de <i>Opuntia dillenii</i>	4
Figura 2. Aplicabilidade da tecnologia de ultrassom em alimentos e bebidas.....	9
Figura 3. Efeitos mecânicos do tratamento com ultrassom.....	10
Figura 4. Processo de elaboração das bebidas de cladódio de palma.....	14
Figura 5. Desenho experimental do processamento das bebidas de palma.....	15

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOAC	Association of Official Analytical Chemist
ANOVA	Análise de Variância
BC	Bebida Controle Sem Tratamento
BIU	Bebida Tratada Com Ultrassom e Adicionada de Inulina
BFU	Bebida Tratada Com Ultrassom e Adicionada de Frutoligossacarídeos
BPU	Bebida Tratada Com Ultrassom e Adicionada de Polidextrose
BU	Bebida Controle Tratada Com Ultrassom
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CT	Centro de Tecnologia
CTDR	Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional
°C	Graus Celsius
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
FAO	Food and Agriculture Organization
FOS	Frutoligossacarídeos
FRAP	Poder Antioxidante Redutor Férrico
g	Gramas
h	Hora
IFPR	Instituto Federal do Paraná
min	Minuto
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
n°	Número
PAE	Atributo de Elicitação Preferido
PCA	Análise de Componentes principais
pH	Potencial hidrogeniônico
PPO	Polifenoloxidase
RPM	Rotação por minuto
SGF	Fluido Gástrico Simulado
SSF	Fluido Salivar Simulado
SIF	Fluido Intestinal Simulado
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 PALMA (<i>Opuntia dillenii</i>)	3
2.2 COMPONENTES PREBIÓTICOS.....	5
2.3 USO DE ULTRASSOM COMO MÉTODO DE CONSERVAÇÃO EM ALIMENTOS E BEBIDAS.....	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1 COLETA DE CLADÓDIOS E LOCAL DE EXECUÇÃO DA PESQUISA.....	13
3.2 ELABORAÇÃO DE BEBIDAS À BASE DE PALMA.....	13
3.3 ANÁLISES TECNOLÓGICAS.....	15
3.4 CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	16
3.4.1 Determinação de fibras.....	16
3.4.2 Quantificação de vitamina C e clorofila.....	16
3.4.3 Perfil de açúcares e ácidos orgânicos.....	17
3.4.4 Perfil de compostos fenólicos.....	17
3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELOS MÉTODOS DE ABTS, DPPH E FRAP.....	18
3.6 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	19
3.7 ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA POR INIBIÇÃO ENZIMÁTICA.....	20
3.8 ANÁLISE SENSORIAL.....	21
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
REFERÊNCIAS.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5. ARTIGO.....	32
6. APÊNDICE.....	71
7. ANEXOS.....	73

1. INTRODUÇÃO

Opuntia, mais conhecida como palma, cacto de pera espinhosa ou cacto nopal, pertence à família das angiospermas dicotiledôneas Cactaceae. Trata-se de uma planta que apresenta bom desenvolvimento em regiões com climas árido e semiárido (Bhadane et al., 2023).

Os cladódios de palma (*Opuntia dillenii*) apresentam, em sua composição, diversos compostos com propriedades funcionais, dentre estes compostos se destacam as fibras dietéticas, minerais (Bouhrim et al., 2021; Li et al., 2023), compostos fenólicos, ácido ascórbico e outros compostos bioativos responsáveis por promover efeitos benéficos à saúde (Rodrigues et al., 2023).

Embora seja abundante em regiões de climas árido e semiárido do Brasil e promova efeitos benéficos à saúde que já foram cientificamente comprovados, a palma ainda é um alimento pouco consumido neste país. Todavia, um estudo transcultural realizado por Albuquerque et al. (2018) demonstrou que os brasileiros apresentam interesse em consumir os produtos à base de palma, devido às suas propriedades funcionais.

As aplicações alimentícias das diferentes estruturas que compõem as espécies de *Opuntia* spp., incluindo cladódios, flores e frutos, estão sendo cada vez mais investigadas, com o objetivo de proporcionar melhorias às características sensoriais e tecnológicas de alguns alimentos, sendo utilizada como ingrediente no processamento de farinhas (Chaloulos et al., 2021), cookies (Albuquerque et al., 2018; Nabil et al., 2020), bebidas (Albuquerque et al., 2021), massas em geral (Palmieri et al., 2021) e produtos probióticos (Taheur et al., 2020).

A preocupação em desenvolver produtos alimentícios funcionais tem sido uma das principais tendências das indústrias de alimentos e farmacêutica. Essa preocupação é justificada pela crescente busca, por consumidores mais conscientes, de produtos que promovam efeitos benéficos à sua saúde e influenciem na sua qualidade de vida. Inúmeros alimentos e nutracêuticos, contendo compostos bioativos e fibras prebióticas, têm sido elaborados a fim de atender à demanda global por esses produtos (Costa et al., 2019; Fernandes et al., 2020; Silva et al., 2020).

Além do interesse da indústria alimentícia em desenvolver produtos de alta qualidade nutricional, visando atender o aumento da demanda de consumidores cada

vez mais exigentes na busca por alimentos que promovam benefícios para a saúde, há também a preocupação em desenvolver alimentos que apresentem segurança microbiológica e características sensoriais agradáveis. Considerando estas preocupações, a indústria de alimentos busca, de forma contínua, alternativas de métodos de conservação de alimentos, dentre estes, ressaltam-se as tecnologias emergentes, incluindo o ultrassom, que tem sido empregado visando a conservação de alimentos e bebidas, de modo que as propriedades funcionais e sensoriais não sejam tão afetadas (Albuquerque et al., 2021; Chacha et al., 2021; Wu et al., 2021).

O tratamento de bebidas com ultrassom tem demonstrado vantagens, quando comparado a outros tratamentos térmicos, como a pasteurização. Estudos evidenciam que o tratamento com ultrassom aumentou a liberação de compostos antioxidantes e teve um efeito mínimo no conteúdo de fenólicos e ácido ascórbico e na atividade antioxidante (Reyes-Hernandez et al., 2017; Albuquerque et al., 2021; Wu et al., 2021).

Neste sentido, o desenvolvimento de novos produtos com potencial funcional à base de palma e a disponibilização de informações acerca das suas propriedades nutricionais e funcionais pode incentivar a geração de renda e a cadeia produtiva sustentável desta cactácea através de novas demandas de mercado.

Ademais, a aplicação da tecnologia emergente de ultrassom em alimentos funcionais, exemplo do suco à base dos cladódios de palma, está diretamente relacionada às necessidades e tendências do mercado consumidor, que apresenta uma população preocupada com a redução no uso de aditivos alimentares e com a manutenção da qualidade microbiológica, sensorial e nutricional dos produtos (Siddiqui et al., 2022).

Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com ultrassom e da adição de prebióticos (inulina, oligofrutose ou polidextrose) nas características físico-químicas, compostos bioativos, bioacessibilidade de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antidiabética, e qualidade sensorial de bebidas elaboradas à base de cladódios de palma (*Opuntia dillenii*).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 PALMA (*Opuntia dillenii*)

As espécies de *Opuntia* apresentam grande relevância em termos nutricionais e farmacológicos. A palma forrageira, em sua integralidade, tem se tornado cada vez mais popular pelo destaque de seu valor nutricional, apresentando uma composição rica em fibras dietéticas, vitaminas, minerais e compostos bioativos, incluindo fenólicos e flavonoides, capazes de exercer inúmeros benefícios à saúde (Barba et al., 2022; Bahkar et al., 2020).

Quase todas as espécies de *Opuntia* spp. possuem hastes planas denominadas cladódios (pás), sendo considerada a variação mais comum a palma forrageira (nopal). Os frutos deste cacto, conhecidos como frutos de cacto de pera ou pêra espinhosa se apresentam em formato oval com uma grande quantidade de sementes e uma casca semi-dura que contém espinhos, e podem apresentar cores diferentes, incluindo vermelho, roxo, laranja, amarelo e branco. O México é o principal país produtor de frutas de palma de cacto, representando mais de 45% da produção mundial; no entanto, apenas 1,5% dessa produção é exportada (Farias et al., 2023). Os cladódios, sementes, flores e fruto da palma forrageira são utilizados durante muito tempo na medicina tradicional, como tratamento para diversas doenças, como diabetes, doenças hepáticas e gástricas (Madrigal-Santillán et al., 2014; Mohamed et al., 2023).

As diferentes partes que constituem a palma, incluindo os cladódios, são consideradas como uma fonte rica de compostos bioativos, principalmente fenólicos, flavonoides e betalaínas (Barba et al., 2022; Prisa, 2023). Um estudo conduzido por Chougui et al. (2015) demonstrou que o extrato hidroetanólico das casas de palma espinhosa (*Opuntia-ficus-indica*) apresentou um perfil rico em compostos fenólicos (1512,58 mg de GAE / 100 g DM). Dezesseis compostos pertencentes aos grupos ácido hidroxilbenzóico, ácidos hidroxicinâmicos e flavonoides foram detectados (Eman et al., 2017).

Opuntia dillenii (Ker Gawl.) Haw. destaca-se pela abundância de compostos bioativos e nutrientes presentes em sua composição. Os cladódios do cacto contêm vitaminas, antioxidantes e vários flavonoides, reconhecidos por promoverem atividades biológicas, especialmente atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antiateroscleróticas, anti-hiperlipidêmicas, analgésicas, gastroprotetoras e antidiabéticas

(Wang et al., 2015; Siddiqui et al., 2016; Bouhrim et al., 2021; Li et al., 2023; Abdelkader et al., 2023).

Figura 1. Cladódios de *Opuntia dillenii*



Fonte: Próprio autor, 2023.

México, Argentina, Peru, Bolívia, Brasil, Estados Unidos (Texas), Espanha, Itália, África (Marrocos, Tunísia, Eritreia, Etiópia) e África do Sul são países em que o cultivo desses cactos é popular (Bakour et al., 2017).

Em países, especialmente o México, e em algumas regiões dos Estados Unidos, o consumo de palma já se tornou parte da cultura alimentar. Na maturação inicial, a palma é consumida em saladas, molhos, sopas, guisados, snacks, bebidas e sobremesas. Quando maduro, este cacto é muito utilizado na alimentação animal (Mendez et al., 2015).

No Brasil, os cladódios da palma são popularmente utilizados como ração animal, principalmente na região Nordeste, em que o clima semi-árido é predominante. Mesmo sendo um vegetal abundante na região, a palma não é popular no consumo alimentar humano (Nascimento et al., 2011). Todavia, estudos indicaram que os brasileiros apresentam interesse em introduzir a palma na alimentação, considerando, especialmente, suas propriedades nutricionais (Albuquerque et al., 2022).

2.2 COMPONENTES PREBIÓTICOS

Os prebióticos são componentes alimentares não viáveis que proporcionam fonte seletiva de carbono fermentável para o crescimento e/ou atividade metabólica de microrganismos benéficos da microbiota intestinal, em particular, bactérias probióticas, promovendo benefícios à saúde do hospedeiro, que estão relacionados à modulação da microbiota (Ledomado et al., 2021; Ji et al., 2023). Para que um componente alimentar seja considerado como prebiótico, é necessário que apresente resistência aos processos de digestão, absorção e adsorção do hospedeiro; seja fermentado pela microbiota do trato gastrointestinal; estimule seletivamente o crescimento e/ou atividade metabólica de uma quantidade de bactérias no trato gastrointestinal, modificando a microbiota do cólon, favorecendo uma microbiota majoritariamente saudável (Hueda, 2017).

Entre os componentes prebióticos, destacam-se as fibras dietéticas, os oligossacarídeos e os compostos fenólicos, que estão presentes na composição de uma ampla variedade de vegetais. As fibras dietéticas, encontradas em plantas, podem promover ação prebiótica, ou seja, sua porção comestível ou carboidratos análogos, apresentam resistência ao processo digestivo e absorção no intestino delgado, com processo fermentativo completo ou parcial no intestino grosso. Estas fibras podem ser classificadas como insolúveis, a exemplo da celulose, lignina e algumas hemiceluloses, ou solúveis em água, como grande parte das pectinas, mucilagens e gomas (Kaur et al., 2021).

Inulina, FOS (frutoligossacarídeo), GOS (galactoligossacarídeo), lactulose, e polidextrose são classificados prebióticos, enquanto isomaltoligossacarídeos, XOS (xiloligossacarídeo) e lactitol são classificados como prebióticos emergentes. Os primeiros oligossacarídeos conhecidos comercialmente como prebióticos, foram os FOS, GOS e a inulina (Guo et al., 2019), por serem obtidos, de formas mais práticas e acessíveis, de alimentos (Bajury et al., 2018).

Quando os prebióticos chegam ao cólon, particularmente na porção proximal, passam por um processo de degradação primária por bactérias para oligossacarídeos e monossacarídeos e pequenos compostos fenólicos, respectivamente (Hueda, 2017). Os compostos finais do metabolismo da microbiota de prebióticos são, fundamentalmente, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), incluindo ácido acético, propiônico, láctico e butírico, que são utilizados pelo organismo hospedeiro como fontes de energia, atuam na inibição de patógenos entéricos e intensificam a biodisponibilidade de minerais (Ambalam et al., 2015; Facchin et al., 2024).

A inulina é um polissacarídeo de armazenamento (Morreale et al., 2019; Kiewiet et al., 2021), reconhecido pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP) como prebiótico. Plantas que possuem uma composição rica em inulina, constituem parte da alimentação diária de indivíduos de diversos países. Por promover diversos benefícios à saúde, a inulina é reconhecida como alimento funcional. Seu potencial prebiótico é justificado por seu alto grau de polimerização (Singh; Singh; Larroche, 2019).

Considerando o comprimento da cadeia ou grau de polimerização, os frutanos do tipo inulina são separados em subcategorias em relação ao comprimento e podem ser divididos de acordo com suas cadeias de unidades de frutose: pequena (3-5), média (6-10) e longa (11-60) (Vogt et al., 2015). O grau de polimerização está relacionado, principalmente, a fatores como a fonte vegetal, tempo de colheita, condição climática, estação de crescimento e armazenamento. Considera-se que o hidrolisado monossacarídeo apresenta maior facilidade de fermentação quando comparado ao polissacarídeo, e os diferentes graus de polimerização afetam a taxa de fermentação (Man et al., 2021).

A configuração β da inulina atribui, a esse tipo de frutano, resistência à ação das enzimas do trato digestivo superior, permitindo que a inulina chegue, parcialmente digeridos ou não digeridos, ao intestino grosso, viabilizando sua fermentação, de forma seletiva, por bactérias benéficas que colonizam o intestino grosso (Morrealea; Benavent-Gila; Rosell, 2019). O baixo grau de polimerização, entre 3 e 10, possibilita que as inulinas sejam fermentadas rapidamente no cólon proximal, enquanto o alto grau de polimerização, quando maior que 20, permite que ela apresente maior resistência à fermentação intestinal e, como resultado, exerça uma atividade inferior. Nestas condições, o processo de metabolização ocorre no cólon distal (Pang et al., 2019).

A ação dos prebióticos é afetada pelo grau de polimerização destes que, quando alto, propicia uma maior colonização e diversidade de microrganismos probióticos, além de promover acidificação do cólon, afetando a composição da microbiota intestinal e, conseqüentemente, seu metabolismo (Man et al., 2021; Astó et al., 2019). Pesquisas recentes evidenciam que a introdução de uma quantidade adequada de fibras alimentares na dieta pode ser considerada como uma estratégia de prevenção primária contra o risco dos principais tipos de doenças não transmissíveis (Morrealea; Benavent-Gila; Rosell, 2019; Waddell; Orfila, 2023).

A ingestão de fibras é uma estratégia eficaz de modular a composição da microbiota, melhorar respostas imunológicas, a saúde intestinal e regular níveis de insulina, glicemia e lipídeos séricos (Schaafsma; Slavin, 2015; Ni et al., 2017; Kiewiet et al., 2021; Waddell; Orfila, 2023).

Entre os benefícios promovidos pela inulina, destacam-se sua ação no metabolismo de lipídios, na absorção de íons minerais no intestino, regulação do controle glicêmico e prevenção da obesidade. Partes que compõem plantas, incluindo *Dahlia pinnata* (Dahlia), *Taraxacum officinale* (dente de leão), *Asparagus officinalis* (aspargos), *Helianthus tuberosus* (alcachofra de Jerusalém), *Cichorium intybus* (chicória), são exemplos de vegetais que contêm uma alta quantidade de inulina (Singh; Singh; Larroche, 2019).

O uso combinado de inulina e FOS é capaz de promover a homeostase da microbiota intestinal humana, através do estímulo do crescimento de bactérias bífidas no intestino humano, que proporcionam inúmeros benefícios à saúde (Singh; Singh; Larroche, 2019).

Os prebióticos oligofrutose e o FOS são capazes de reter maiores concentrações de água, quando comparados à inulina (Ozturkoglu-Budak, et al., 2019; Man et al., 2021). A oligofrutose é um frutano encontrado na natureza como carboidrato de armazenamento de plantas. A oligofrutose é formada quando a inulina passa pelo processo de hidrólise com duas a dez unidades de monossacarídeo, podendo apresentar uma unidade de glicose no final da cadeia (Sanyal et al., 2023).

Por sua vez, a polidextrose é uma fibra dietética solúvel em água com conteúdo calórico de 1 kcal/g, é considerada um carboidrato complexo composto por glicose, ácido cítrico e sorbitol. Trata-se de um prebiótico não digerível, que possui ação laxante e promove efeitos na regulação dos níveis de glicemia e colesterol (Veena; Nath; Arora, 201; Huang et al., 2020). Além disso, a polidextrose estimula a peristalse intestinal e aumenta frequência de defecação, esse aumento pode ser justificado pela capacidade que este prebiótico possui de aumentar o volume fecal, tornando a consistência do bolo fecal mais macia (Ibarra et al., 2019).

Ademais, a polidextrose possui propriedades tecnológicas, entre elas a capacidade de formação de um gel altamente viscoso, característica que contribui para a cremosidade e palatabilidade de alguns alimentos e, devido a estas propriedades, é utilizada em alguns produtos lácteos, como substituto de gordura (Huang et al., 2020).

Diante dos benefícios comprovados, estudos com produtos enriquecidos com prebióticos têm sido desenvolvidos, dentre estes produtos, bebidas adicionadas de prebióticos têm se destacado, incluindo suco de laranja enriquecido com xilooligossacarídeos (Silva et al. 2020), suco de maçã adicionado de inulina (Strieder et al., 2023), sucos de morango adicionados de inulina e oligofrutose (Cassani; Tomadoni; Del Rosario Moreira, 2020).

Os compostos fenólicos são compostos bioativos e estão presentes na composição dos vegetais. Os polifenóis podem ser metabolizados pela microbiota intestinal, esse processo pode torná-los mais biologicamente ativos, quando comparados aos compostos primários, aumentando também sua bioacessibilidade. Os compostos fenólicos são capazes de estimular o crescimento seletivo de alguns grupos específicos de microorganismos benéficos a microbiota intestinal (Danneskiold-Samsøe et al., 2019).

Estes compostos são conhecidos por promoverem diversos benefícios à saúde, que podem ser justificados por suas atividades biológicas, que auxiliam na manutenção da saúde e na proteção do organismo, incluindo atividades imunomoduladoras, antioxidantes, antiinflamatórias, antidiabéticas e anticarcinogênicas (Giraldo-Silva et al., 2023; Lu et al., 2023; Wang et al., 2023; Santiago et al., 2018).

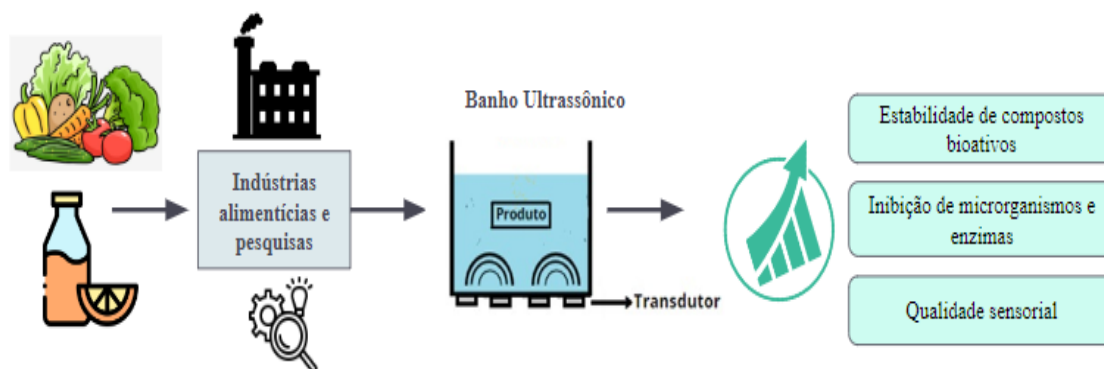
2.3 USO DE ULTRASSOM COMO MÉTODO DE CONSERVAÇÃO DE ALIMENTOS E BEBIDAS

Na área de desenvolvimento e processamento de bebidas não alcoólicas, o processamento térmico apresenta maior aplicabilidade, sendo utilizado com o objetivo de garantir qualidade microbiológica e aumentar a vida útil das bebidas. (Azizi-Lalabadi; Moghaddam; Jafari, 2023).

O tratamento térmico de pasteurização é o método de conservação padrão utilizado para preservar a qualidade deste tipo de produto durante sua vida útil, todavia, este método afeta negativamente as propriedades nutricionais desses alimentos, isso ocorre devido às reações de escurecimento e perda significativa de nutrientes termossensíveis, como os compostos fenólicos, que são afetados pela alta temperatura empregada (Margean et al., 2020). Além de promover perda de valor nutricional, este

tipo de processamento também pode modificar as características sensoriais (textura, sabor, cor e cheiro) de forma indesejada (Shaik; Chakraborty, 2023).

Figura 2. Aplicabilidade da tecnologia de ultrassom em alimentos e bebidas



Fonte: Próprio autor, 2023.

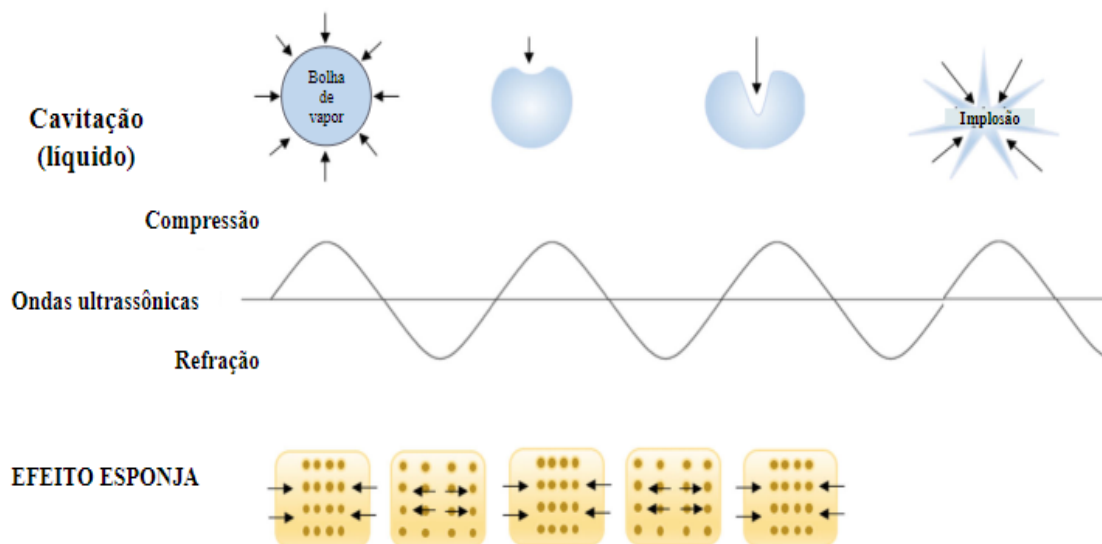
Diante da busca de métodos de conservação que garantam a qualidade microbiológica dos alimentos e promovam perdas mínimas do valor nutricional e características sensoriais desejáveis, as tecnologias emergentes de conservação, incluindo o ultrassom, passaram a receber maior atenção (Lisboa et al., 2024).

O tratamento com ultrassom é utilizado nos ramos da medicina, indústria química e engenharia, desde o início do século XX, entretanto seu uso em alimentos só iniciou em meados do século XX (Alves et al., 2013). Este método pode substituir algumas técnicas convencionais de processamento, promovendo efeitos de emulsificação, homogeneização, esterilização e desgaseificação, bem como também pode ser utilizado para intensificar e/ou acelerar técnicas tradicionais de extração, congelamento, descongelamento, filtração, secagem ou desidratação (Singla; Sit, 2021).

O processo de sonicação, pela utilização do ultrassom, tem como base o fenômeno de cavitação, que consiste em movimentos de compressão e descompressão de moléculas que integram o meio, cujo colapso destas moléculas resulta em uma implosão, que gera energia, podendo aumentar a reatividade química no meio (Sulaiman; Silva, 2023). O ultrassom emite ondas sonoras de alta frequência, que quando transmitidas através de um material líquido, sólido ou gás com propriedades

elásticas, se movem em uma velocidade relativa, que depende da natureza e comprimento da onda e do tipo de material de propagação (Margean et al., 2020).

Figura 3. Efeitos mecânicos do tratamento com ultrassom



Fonte: Adaptado de Astráin-Redín et al., 2021.

O banho ultrassônico se baseia em um tanque de água, que pode conter um ou mais transdutores ultrassônicos, opera em uma frequência fixa e é equipado com um dispositivo que monitora e controla a temperatura. A estrutura do banho ultrassônico permite que mais de uma amostra seja manuseada, de forma simultânea, de forma simples e com riscos químicos e físicos reduzidos (Chemat et al., 2017). Existem três faixas de frequência e potência em que o ultrassom pode operar: ultrassom de alta potência (16–100 kHz), ultrassom de alta frequência (100 kHz - 1MHz) e ultrassom de diagnóstico (1–10 MHz) (Margean et al., 2020).

A finalidade da aplicabilidade do ultrassom na área de ciência e tecnologia de alimentos é de promover melhorias na qualidade microbiológica, nutricional e sensorial dos produtos alimentícios, aumentando, assim, a vida útil destes produtos (Altemimi et al., 2015; Margean et al., 2020). O ultrassom é uma tecnologia emergente que, diferente do processamento térmico, não compromete, de forma significativa, os atributos nutricionais e sensoriais, além de estender a vida útil de alimentos em geral (Ahmad et al., 2023). Ademais, essa tecnologia tem como outras vantagens a redução do tempo de

processamento, o custo relativamente baixo, além de ser ecologicamente sustentável (Mason; Paniwnyk; Lorimer, 1996).

O ultrassom de alta frequência, em frequências superiores a 100 kHz, é um processo não invasivo, que pode ser empregado para monitorar processos alimentares e para avaliar as propriedades físico-químicas dos alimentos, enquanto o ultrassom de alta potência, com frequências entre 16–100 kHz, causa efeitos físicos, mecânicos e químicos e pode oferecer insights sobre a estabilidade em longo prazo de sucos de frutas (Zadeike; Degutyte, 2023).

Um estudo realizado por Dias et al. (2015), avaliou parâmetros de um suco de graviola tratado com ultrassom, em níveis de amplitude variando de 20 a 100% da potência total de entrada (500 W), na frequência constante de 19 kHz por diferentes tempos (2 e 10 min). Nos resultados do estudo, verificou-se a redução da atividade enzimática da enzima polifenoloxidase (PPO), pequenas alterações de cor e uma significativa retenção de compostos fenólicos foi verificada no tratamento com ultrassom de maior intensidade (Dias et al., 2015). Outros estudos realizados avaliando o efeito do tratamento com ultrassom em sucos de frutos corroboram o estudo citado, evidenciando as vantagens deste tipo de tratamento (Roobab et al., 2023).

Um estudo realizado por Shaik & Chakraborty, que analisou a estabilidade de suco de limão tratado com ultrassom, demonstrou que o tratamento foi capaz de garantir a qualidade microbiológica do suco, inibir significativamente a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO), promoveu o aumento do conteúdo de fenólicos, atividade antioxidante e vitamina C em 16,7%, 10,7% e 14,1%, respectivamente.

Uma pesquisa com bebidas elaboradas à base dos cladódios de palma (*Opuntia ficus-indica*) demonstrou efeitos positivos nas bebidas que foram submetidas ao tratamento com ultrassom (42 kHz, potência 240 W nos tempos 10, 20 e 40 min). Os dados demonstraram que a bebida submetida a 40 minutos de ultrassom apresentou maiores concentrações de oligossacarídeos, ácidos orgânicos, ácido ascórbico, minerais, compostos fenólicos e atividade antioxidante ao longo da vida de prateleira, em comparação à bebida de palma controle (não tratada com ultrassom) e à bebida pasteurizada. Ademais, o ultrassom promoveu uma maior aceitação das bebidas tratadas com ultrassom em todos os tempos de tratamento ao longo da vida de prateleira (Albuquerque et al., 2021).

Outros estudos que avaliaram o efeito do tratamento com ultrassom em sucos de tomate (Lafarga et al., 2019), abóbora (Demir; Kilinc, 2019), mirtilo (Wu et al., 2021),

kiwi (Bhutkar et al., 2024), frutos da palma (Cruz-Cansino et al., 2016) corroboraram resultados dos estudos anteriormente citados, evidenciando as vantagens deste tipo de tratamento (Roobab et al., 2023).

Diante das informações reportadas na literatura, verifica-se que o tratamento com um ultrassom se trata de uma técnica promissora para preservar compostos bioativos e potenciais atividades biológicas, bem como melhorar a qualidade nutricional e sensorial destes produtos durante seu processamento e vida útil (Albuquerque et al., 2021) além de ser apontada como uma tecnologia eficaz para assegurar a qualidade microbiológica, sensorial e nutricional durante o processamento de sucos com caráter funcional (Gomes et al., 2017). Um alimento com potencial funcional se refere à alegação relativa ao papel metabólico ou fisiológico que a matriz alimentar/nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e em outras funções normais do organismo humano, apresentando diversas atividades biológicas, promovendo efeitos benéficos para a saúde (Yuan et al., 2024).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COLETA DE CLADÓDIOS DE PALMA E LOCAL DE EXECUÇÃO DA PESQUISA

A coleta de cladódios de palma foi realizada em uma área de cultivo na cidade de Cuité (Latitude: 06° 29' 01" S, Longitude: 36° 09' 13" W), localizada na Paraíba. Os cladódios foram colhidos após 45 dias da brotação, pela manhã, às 6-7 horas, entre os meses de julho a outubro de 2021 e transportadas em condições adequadas de refrigeração. Estas amostras foram transportadas com os espinhos, em temperatura ambiente e ao abrigo da luz até João Pessoa, Paraíba. Foram considerados como critérios de seleção dos cladódios: integridade física e características padrões de cor e tamanho dos cladódios relacionadas à espécie e ao tempo de brotamento determinado. A palma da espécie *Opuntia dillenii* foi identificada pelo professor botânico Rubens Teixeira de Queiroz e teve sua identificação depositada (n. JPB66980) no Herbário Lauro Pires Xavier da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

A elaboração das bebidas e análises de pH, acidez titulável e cor foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética do Centro de Ciências da Saúde (CCS/UFPB). As análises de vitamina C, clorofila e atividade antioxidante foram executadas no Laboratório de Físico-Química do Centro de Tecnologia e Desenvolvimento Regional (CTDR/UFPB). As análises cromatográficas de compostos fenólicos, ácidos orgânicos e açúcares foram desenvolvidas no Laboratório de Bebidas (IFSertãoPE). A análise de atividade antidiabética foi realizada no Laboratório de Processo de Alimentos (IFPR). As análises de determinação de fibras e bioacessibilidade de compostos fenólicos foram realizadas no Laboratório de Processos Microbianos de Alimentos e a análise sensorial foi conduzida no Laboratório de Leite e derivados, ambos localizados no Centro de Tecnologia (CT/UFPB).

3.2 ELABORAÇÃO DE BEBIDAS À BASE DE PALMA

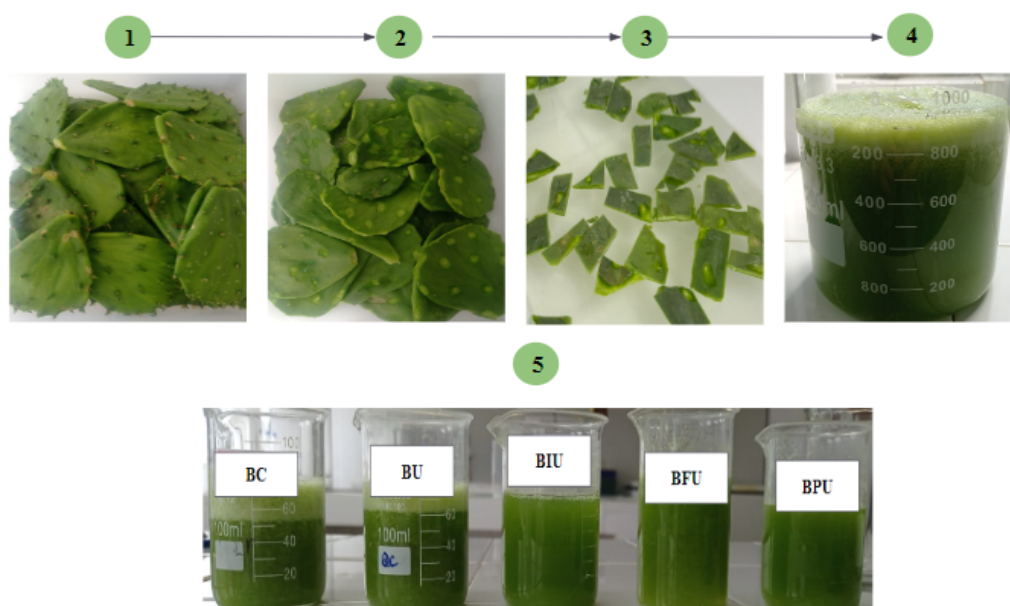
Os cladódios de palma foram previamente higienizados com água corrente e sanitizados com imersão em água clorada 200 ppm por 15 min e posterior enxágue. Em seguida, foi realizada a retirada manual dos espinhos, corte dos cladódios em cubos

uniformes e imersão em água com sal refinado 0,9% por 50 minutos para a remoção do excesso de mucilagem (Albuquerque, 2021; Albuquerque et al., 2022).

Para o processo de preparação da bebida (Figura 2), os cladódios de palma foram moídos em extrator de suco comercial (Skymssen ©, modelo EXB-N INOX, São Paulo, Brasil) por cinco minutos, em uma proporção de 3:1 entre palma e água (densidade = $1,075 \pm 0,12$), considerando que esta foi a proporção que demonstrou os melhores resultados para as características tecnológicas da bebida, como aparência, consistência e uniformidade (Albuquerque et al., 2021). Em seguida, foram elaborados cinco tipos de bebidas:

- Bebida BC: bebida à base dos cladódios de palma sem tratamento;
- Bebida BU: bebida à base dos cladódios de palma tratada com ultrassom;
- Bebida BIU: bebida à base dos cladódios de palma, com adição de 2,5% de inulina de cadeia média e tratada com ultrassom.
- Bebida BFU: bebida à base dos cladódios de palma, com adição de 2,5% de frutooligossacarídeos e tratada com ultrassom.
- Bebida BPU: bebida à base dos cladódios de palma, com 2,5% de povidexose e tratada com ultrassom.

Figura 4. Processo de elaboração das bebidas de cladódio de palma



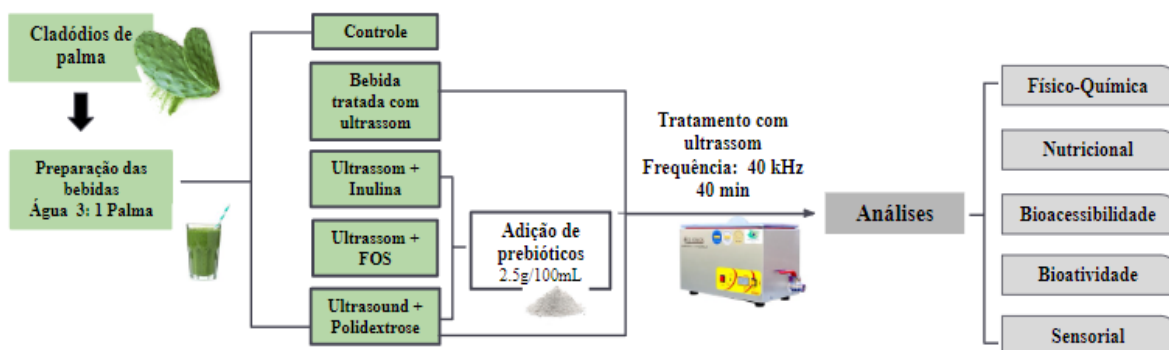
Etapas do processamento e elaboração das bebidas - 1: Higienização e sanitização dos cladódios; 2: Remoção dos espinhos; 3: Corte dos cladódios e remoção da mucilagem por imersão em solução salina; 4: Bebida obtida após ser submetida ao processo de liquidação; 5: Elaboração das 5 formulações das bebidas de palma.

Fonte: Próprio autor, 2023.

A determinação da quantidade de componente prebiótico adicionado (inulina, frutooligosacarídeos e polidextrose) foi de 2,5 g/100 mL por porção de bebida, foi baseada em estudo prévio que recomendou uma ingestão diária de 2 a 4 g de prebióticos (Closa-Monasterolo *et al.*, 2017) e na legislação brasileira que atribui 2,5 g destes componentes, por porção, para usar a reivindicação da alegação de funcionalidade para a saúde (ANVISA, 2019).

O tratamento com ultrassom foi realizado em sistema de banho ultrassônico com termostato (Unique®, modelo USC-2850A, São Paulo, Brasil), na frequência de 25 kHz e potência ultrassônica de 240 W (Albuquerque *et al.*, 2021). Todo o processo foi realizado ao abrigo da luz e o equipamento de ultrassom com circulação de água foi utilizado para a manutenção da temperatura estável a $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Por fim, as bebidas foram imediatamente resfriadas por imersão em banho de água gelada após os tratamentos e armazenadas em frascos plásticos de polipropileno a 4°C para a realização das análises (Figura 3) (Albuquerque *et al.*, 2021).

Figura 5. Desenho experimental do processamento das bebidas de palma



Fonte: Próprio autor, 2023.

3.3 ANÁLISES TECNOLÓGICAS

O pH foi determinado em um potenciômetro digital (Modelo Q400, Quimis®, Diadema, São Paulo). Para avaliação da acidez total titulável, foi realizada a neutralização da amostra com solução padrão de NaOH 0,1 N sendo determinada pelo método de titulometria (AOAC, 2019).

Para análise da cor instrumental foi utilizado o colorímetro Minolta (Modelo CR- 300, utilizando o sistema CIELAB, 1996). No espaço colorimétrico CIELAB, determinado 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.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Foram realizadas análises para quantificação de fibras totais, solúveis e insolúveis, vitamina C e clorofila, bem como a quantificação e caracterização do perfil de açúcares e ácidos orgânicos, compostos fenólicos das bebidas.

3.4.1 Determinação de fibras

As fibras dietéticas totais, solúveis e insolúveis foram determinadas utilizando o kit de ensaio pelo método enzimático-gravimétrico (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA), seguindo a metodologia 991.43 (AOAC, 2016).

3.4.2 Determinação de vitamina C e clorofila

A quantificação de vitamina C, mediante análise do conteúdo de ácido ascórbico, foi determinada por titulação pela redução da solução de Tillmans (2,6 diclorofenolindofenol de sódio) a partir dos extratos das amostras, que foram preparados com ácido oxálico para promover a solubilização, seguido de centrifugação a 3634 força G por 5 min para homogeneização. Para esta determinação foram utilizados aproximadamente 5 mL de amostra e o resultado foi calculado, sendo expresso em mg de ácido ascórbico/100 g da amostra (AOAC, 2019).

Os conteúdos de clorofilas (total, A e B) foram determinados utilizando a metodologia preconizada por AOAC (2019), seguido de ajustes prévios da amostra. Inicialmente, as amostras foram centrifugadas a 3634 força G, para obtenção do precipitado. Aproximadamente 5 mL do precipitado das amostras foram homogeneizados com alíquotas de 2,5 mL de acetona pura durante 5 min. Em seguida, outros 2,5 mL de acetona pura foram adicionados, seguido de centrifugação a 3634 força G durante 10 minutos. Posteriormente, os sobrenadantes foram cuidadosamente

coletados, sendo as absorvâncias lidas em espectrofotômetro de UV/VIS (Bel, modelo UV-M51, Itália) nos comprimentos de onda de 660 nm e 642,5 nm. Os resultados foram obtidos através das equações 1, 2 e 3, sendo expressos em mg de clorofila/100 mL da amostra.

$$\text{Clorofila total} = 7,12 A_{660} + 16,8 A_{642,5} \quad \text{Equação (1)}$$

$$\text{Clorofila a} = 9,93 A_{660} - 0,777 A_{642,5} \quad \text{Equação (2)}$$

$$\text{Clorofila b} = 17,6 A_{642,5} - 2,81 A_{660} \quad \text{Equação (3)}$$

3.4.3 Perfil de açúcares e ácidos orgânicos

O conteúdo de açúcares (frutose, glicose, maltose, raminose) e os ácidos orgânicos (acético, butírico, cítrico, fórmico, láctico, succínico e tartárico) nas bebidas foram quantificados a partir da bebida pura, centrifugada a 3634 força G por 10 min. Após a centrifugação o sobrenadante foi coletado e filtrado com filtro de seringa de 0,45 µm diretamente em eppendorf de 2 mL. O extrato obtido foi analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) usando um sistema LC 1260 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) equipado com uma bomba de solvente quaternário (modelo G1311C), degaseificador, 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 x 7,7 mm) com tamanho de partícula de 8,0 µm e coluna guarda PL Hi-Plex H (5 x 3 mm) (Agilent Technologies) foi mantidas a 50 °C, o volume de injeção foi de 20 µL, vazão de 0,5 mL/min, fase móvel 4,0 mM H₂SO₄ em água ultrapura e corrida de 20 min. Os dados foram processados usando o software OpenLAB CDS ChemStation Edition™ (Agilent Technologies) (COELHO *et al.*, 2018).

3.4.4 Perfil de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram determinados seguindo a metodologia validada por Padilha *et al.* (2017) e adaptada por Dutra *et al.* (2018). As amostras foram, previamente, centrifugadas e filtradas em membrana de 0,45 µm (Millipore, Barueri,

Brasil). As análises cromatográficas foram realizadas usando um sistema LC Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, Santa Clara - EUA) cromatógrafo líquido acoplado ao detector de arranjo de diodo (DAD) (modelo G1315D). Os dados foram processados usando o software Open LAB CDS Chem Station Edition (Agilent Technologies, Santa Clara - EUA). A coluna usada foi Zorbax Eclipse Mais RP-C18 (100 × 4,6 mm, 3,5 µm) e a pré-coluna Zorbax C18 (12,6 × 4,6 mm, 5µm) ambas fabricadas pela Zorbax (EUA). A temperatura do forno foi de 35°C sendo o volume da injeção de 20 µL da amostra, antecipadamente diluído na fase A e filtrados através de membrana de 0,45 µm (Millipore, Barueri, São Paulo, Brasil). O fluxo de solventes foi de 0,8 mL/min. O gradiente usado na separação foi de 0 a 5 min: 5% de B; 5 a 14 min: 23% de B; 14 a 30 min: 50% de B; 30 a 33 min: 80% B, onde o solvente A foi uma solução de ácido fosfórico (0,1 M, pH = 2,0) e o solvente B metanol acidificado com 0,5% de H₃PO₄.

A detecção dos compostos foi realizada nos comprimentos de onda de 220, 280, 320, 360 e 520 nm, e a identificação e quantificação em comparação com padrões externos. A detecção dos compostos foi realizada a 220 nm para (+) -catequina, (-) -epigallocatequina, (-) -galato de epicatequina, procianidina B1 e procianidina B2; 280 nm para ácido gálico e ácido sirínico; 320 nm para ácido cafárico, ácido cafeico e ácido *p*-cumárico; e 520 nm para malvidina 3,5-diglicosídeo, cianidina 3,5 diglicosídeo, pelargonidina 3,5-diglicosídeo, peonidin 3-0 glicosídeo e malvidin 3-0 glicosídeo

3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELOS MÉTODOS DE ABTS, DPPH E FRAP

O método de redução do radical ABTS foi realizado conforme metodologia descrita por Rufino et al. (2007). Previamente, foi preparada uma solução estoque de ABTS 7mM e persulfato de potássio 140 mM. Para o preparo do radical ABTS (ABTS.+), 5 mL da solução estoque de ABTS foi misturada com 88 µL da solução de persulfato de potássio e mantida em ambiente escuro, em temperatura ambiente, por 16 horas. Em seguida, 1 mL desta mistura foi diluído em álcool etílico P.A. até se obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. Em seguida, uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato foi adicionado em tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS*+ e após 6 minutos de repouso em ambiente escuro, realizou-se a leitura em 734 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Biochrom, modelo Libra, Inglaterra) utilizando álcool etílico como branco para a calibração do equipamento (RUFINO et al., 2007). Uma

curva padrão de trolox foi construída para expressar os resultados. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TE}$ equivalente por mL de amostra.

A capacidade antioxidante pela captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi baseada na metodologia, com adaptações, descrita por Rufino et al. (2007). O volume de 3,9 mL de uma solução de DPPH 0,06 mM foi adicionado a 1000 μL da bebida e incubado no escuro por 30 min, em temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi feita a 515 nm em espectrofotômetro UV-Vis. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol TE}$ equivalente por gramas de amostra fresca.

A determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro (FRAP – ferric reducing antioxidant power) foi realizada baseada na metodologia desenvolvida por Benzie & Strain (1996) conforme descrito por Rufino et al. (2006) com alguns ajustes. O reagente FRAP é a combinação de tampão acetato 0,3 M e pH 3,6 (obtido pela mistura de 3,1 g de acetato de sódio em 16 mL de ácido acético, aferindo-se o volume para 1000 mL com água milli-Q) com a solução de TPTZ 10 mM (obtido pela dissolução 3,2 g de 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine em HCl 40 mM) e solução aquosa de cloreto férrico (20 mM), na proporção de 10:1:1 (v/v). Em triplicatas, 0,1 mL de diferentes diluições (0,5 a 0,125 mg/mL, p/v) do extrato em metanol ou do padrão sulfato ferroso em água milli-Q (500 μM a 2000 μM) foram misturados com 2,9 mL do reagente FRAP e mantidos por 30 minutos em banho-maria a 37 °C e protegidos da luz. Mensurou-se a absorbância a 593 nm em espectrofotômetro calibrado com o reagente FRAP. Mediante a construção de curvas de calibração, calculou-se a absorbância referente a 1000 mM de sulfato ferroso. O valor obtido foi substituído pela variável equivalente nas curvas de calibração das amostras para determinar a atividade antioxidante total (AAT FRAP), a qual foi expressa em μM equivalentes de sulfato ferroso por grama de bebida ($\mu\text{M Fe}^{+2}/\text{g}$).

3.6 BIOACESSIBILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS

Os ensaios de bioacessibilidade *in vitro* foram realizados com base na metodologia descrita por Minekus et al. (2014), que consiste em uma digestão *in vitro* composta por três etapas: digestão salivar, gástrica e intestinal. Em cada uma das etapas, foram preparadas soluções enzimáticas tamponadas, simulando os fluidos salivar, gástrico e pancreático. Foram pesados, aproximadamente, 2,5 g de amostras em tubos Falcon, sendo adicionados 2,0 mL de fluido salivar e 0,5 mL de cloreto de cálcio a 7,5

mM. Posteriormente, o pH foi ajustado para 7,0 e a mistura foi submetida ao banho-maria com termoagitador a 37 °C por 10 min. Após essa etapa, 4,55 mL de fluido gástrico e 350 µL de cloreto de cálcio a 2,0 mM foram adicionados, o pH foi ajustado para 3,0 e a mistura continuou em banho-maria com termoagitador a 37 °C por 2 h. Em seguida, 9,25 mL de fluido intestinal e 675 µL de cloreto de cálcio a 9,0 mM foram adicionados, o pH foi ajustado com hidróxido de sódio para 7,0 e a mistura permaneceu em banho-maria com termoagitador pelo período de 2 h a 37 °C. O hidrolisado gastrointestinal obtido (quimo) foi submetido em banho de gelo por 20 min, centrifugado a 3634 força G por 30 min. Após a centrifugação, foi realizada a filtração da fração solúvel (sobrenadante) em um filtro de membrana de 0,45 µm, com posterior determinação da concentração bioacessível de fenólicos (MINEKUS et al., 2014). A bioacessibilidade dos compostos fenólicos foi determinada utilizando a fórmula da Eq. (4).

Bioacessibilidade (%): $\text{Compostos fenólicos na fração bioacessível} / \text{Compostos fenólicos totais} \times 100$

3.7 ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA POR INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

A atividade antidiabética foi determinada pela análise in vitro de inibição da atividade enzimática das enzimas α -amilase e α -glucosidase. Para a inibição da α -amilase, 100 µL da enzima (em tampão de fosfato a pH 6,8) foram misturados com 100 µL da bebida e 250 µL de solução de amido a 1% p/v e incubado por 5 min a 37 °C. Em seguida, 150 µL de reagente dinitro salicílico foram adicionados e incubados a 100 °C por 30 min. As leituras de absorbância foram realizadas a 540 nm. Para a inibição da α -glucosidase, 100 µL da enzima solução (10 unidades/mL) e 100 µL do extrato da amostra foram colocados em um tubo de microcentrífuga e incubado a 37 °C por 10 min. Então, 50 µL do substrato (4-nitrofenil-D-glucopiranosídeo) foi adicionado e incubado por 20 min a 37 °C. Finalmente, 1 mL de solução de glicina (pH 11) foi adicionado e as leituras foram realizadas a 400 nm. O índice de escurecimento foi determinado a partir da centrifugação da amostra (824 x g, 20 min, 18 °C), com diluição do sobrenadante resultante em etanol (1:1 v/v), filtração (Whatman 42) e as leituras sendo realizadas a 420 nm (Barba et al., 2012).

3.8 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial que envolve seres humanos foi realizada mediante à prévia aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa CEP/CCS/UFPB do Centro de Ciências da Saúde/UFPB (Protocolo CAAE: 57117521.3.0000.5188), e seguiu as diretrizes previstas na Resolução 466/2012 do CONEP/CNS/MS.

A análise foi conduzida no Laboratório de Leite e Derivados vinculado ao Departamento de Tecnologia (CT/UFPB), com estrutura física adequada. A população foi constituída por membros da Comunidade da UFPB, como discentes, docentes e servidores que aceitaram participar, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TECLE).

Para análise sensorial, foi realizado o teste do atributo de elicitação preferido (*Preferred elicitation attribute* - PAE). A metodologia do PAE foi realizada de acordo com Grygorczyk *et al.*, (2013), com modificações conforme a necessidade de análise. Os testes foram feitos com 19 consumidores em duas sessões, recrutados por meio de convites via mídia social e/ou contato pessoal.

O PAE é o método descritivo escolhido por ser uma metodologia que permite identificar os atributos chave que focam a atenção dos consumidores. Além disso, o método tem sido considerado de fácil entendimento e permite que os consumidores entrem em consenso sobre os atributos indicados (Muggah *et al.*, 2017).

Inicialmente, os participantes receberam 40 mL de cada amostra, apresentados em copos de plástico brancos de 50 mL e identificados com números aleatórios de 3 dígitos, além de copo de água com a finalidade de manter o palato limpo para a degustação entre as diferentes amostras de bebida. Todas as bebidas foram apresentadas simultaneamente e as avaliações sensoriais foram feitas individualmente.

Os consumidores foram solicitados a avaliar as bebidas e anotar quais atributos foram importantes para caracterizar o produto. Dessa forma, eles foram estimulados a pensar sobre os atributos presentes no produto para que fosse possível a caracterização das amostras. Os atributos elicitados foram escritos em um quadro branco e, por meio de uma discussão com todos do grupo, foram agrupados em aparência, aroma, sabor e textura.

Os consumidores definiram os termos do descritor de âncora. Foi realizada uma pausa de 10 min e, em seguida, os consumidores receberam as cinco amostras de bebida, de forma monádica, e a folha de avaliação. Foi solicitado que eles avaliassem os atributos de cada amostra de bebida fermentada usando escalas de 9 pontos com os

termos âncora, referentes aos atributos de aparência, aroma, sabor e textura, escolhidos para definir a intensidade dos atributos.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para avaliação da distribuição normal. Posteriormente, os dados paramétricos foram analisados por meio do teste t de Student e submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Tukey com nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) quando houve diferença entre as variáveis, utilizando-se o Programa GraphPad Prism® 9.5.1.733 Pro (San Diego, CA).

Os dados do PAE foram analisados por meio da Análise Generalizada de Procrustes (GPA) com matriz de 5 linhas (formulações de bebidas de palma) e 323 colunas (atributos x número de consumidores, 19 consumidores, 17 atributos). O teste de Friedman analisou a importância dos descritores (teste de classificação) utilizando tabelas de Newell e MacFarlane. As análises estatísticas foram realizadas utilizando XLSTAT 2022.2.1 (Adinsoft®, Nova York, EUA). Para realizar a análise de componentes principais (PCA) dos dados, foi utilizado o software PAST v.4.03.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, F. et al. A comprehensive review on the application of ultrasound for the preservation of fruits and vegetables. **Journal of Food Process Engineering**, p. e14291, 2023.
- ALBUQUERQUE, J.G. et al. Consumer perception and use of nopal (*Opuntia ficus-indica*): A cross-cultural study between Mexico and Brazil. **Food Research International**, v. 124, p.101–108, 2018.
- ALBUQUERQUE J.G. et al. Ultrasound treatment for improving the bioactive compounds and quality properties of a Brazilian nopal (*Opuntia ficus-indica*) beverage during shelf-life. **LWT**, v.149, p.111814, 2021.
- ALTEMIMI, A. et al. Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 24, p. 247–255, 2015.
- AMBALAM, P. et al. Prebiotic preferences of human lactobacilli strains in co-culture with bifidobacteria and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. **Journal of applied microbiology**, v. 119, n. 6, p. 1672-1682, 2015.
- ANVISA. **Alegações de propriedade funcional aprovadas**. 2019. Disponível em: <alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_anvisa.pdf (www.gov.br)>. Acesso em: 15 março 2023.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 5th ed. Washington: APHA. 2015:676p.
- AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**, 21th ed, Washington DC, 1990; 2019.
- ASTÓ, E. et al. Effect of the degree of polymerization of fructans on ex vivo fermented human gut microbiome. **Nutrients**, v. 11, n. 6, p. 1293, 2019.
- AZIZI-LALABADI, M; MOGHADDAM, N. R; JAFARI, S. M. Pasteurization in the food industry. In: Thermal Processing of Food Products by Steam and Hot Water. **Woodhead Publishing**, p. 247-273, 2023.
- BAJURY, D. M. et al. Evaluation of potential prebiotics: a review. **Food Reviews International**, v. 34, n. 7, 2018.
- BAKAR, Büşra et al. Investigation of amounts of vitamins, lycopene, and elements in the fruits of *Opuntia ficus-indica* subjected to different pretreatments. **Biological Trace Element Research**, v. 198, p. 315-323, 2020.
- BAKOUR, M. et al. Comparison of hypotensive, diuretic, and renal effects between cladodes of *Opuntia ficus-indica* and furosemide. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.10, n.9, 900–906, 2017.

BARBA, F. J; CORTES, C; ESTEVE, M. J; FRÍGOLA, A. Study of Antioxidant Capacity and Quality Parameters in An Orange Juice-Milk Beverage After High-Pressure Processing Treatment. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, p.2222–2232, 2012

BHADANE, M. K. P. et al. A Short Review on Prickly Pear Fruit *Opuntia* spp. **Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science**, v. 13, n. 3, 2023.

BHUTKAR, S. et al. Application of Ultrasound Treatments in the Processing and Production of High-Quality and Safe-to-Beverage Kiwi Juice. **Foods**, v. 13, n. 2, p. 328, 2024.

BOUHRIM, M. et al. *Opuntia dillenii* (Ker Gawl.) Haw., seeds oil antidiabetic potential using in vivo, in vitro, in situ, and ex vivo approaches to reveal its underlying mechanism of action. **Molecules**, v. 26, n. 6, p. 1677, 2021.

CASSANI, L; TOMADONI, B; DEL ROSARIO MOREIRA, M. Green ultrasound-assisted processing for extending the shelf-life of prebiotic-rich strawberry juices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 15, p. 5518-5526, 2020.

CHALOULOS P, et al. Effect of drying and grinding or micro-grinding process on physical and rheological properties of whole cladode (*Opuntia ficus-indica*) flour. **LWT**, v.19, p.112171, 2021.

CHEMAT, F. et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHOUGUI, N. et al. Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. **Food Chemistry**. v. 173, n. p. 382-390, 2015.

COELHO, E.M et al. 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, M. F. et al. Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt. **LWT**, v. 105, p. 371-376, 2019.

CLOSA-MONASTEROLO, R., et al. The use of inulin-type fructans improves stool consistency in constipated children.A randomised clinical trial: Pilot study. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 68, 587–594, 2017.

CROZIER, A. et al. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Products Report**, v. 26, n. 8, p. 965-1096, 2009.

CRUZ-CANSINO, N. D. S. et al., Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. **Ultrasonic Sonochemistry**, v. 27, p. 277–286, 2015.

CRUZ-CANSINO, N. D. S. et al., Optimization of Thermoultrasound Conditions for the Processing of A Prickly Pear Juice Blend (*Opuntia Ficus Indica*) Using Response Surface Methodology. **Journal of Food Quality**, v. 39, p. 780–791, 2016.

DANNESKIOLD-SAMSØE, N. B. et al. Interplay between food and gut microbiota in health and disease. **Food research international**, v. 115, p. 23-31, 2019.

DIAS, D. R. C. et al. Effect of sonication on soursop juice quality. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 883-889, 2015.

EMAN, Y. et al., extraction and evaluation of bioactive compounds from some fruit and vegetable peels. **Arab Universities Journal of Agricultural Sciences**, v. 25, n.1, p. 147-156, 2017.

FACCHIN, S. et al. Short-Chain Fatty Acids and Human Health: From Metabolic Pathways to Current Therapeutic Implications. **Life**, v. 14, n. 5, p. 559, 2024.

FAO – Food and Agriculture Organization of The United Nations. **FAO technical meeting on prebiotics**, 2008. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Prebiotic_Tech_Meeting_Report.pdf> Acessado em: 20 de setembro de 2023.

FARIAS, P. M. et al. Global Research Trends on the Utilization of Nopal (*Opuntia Sp*) Cladodes as a Functional Ingredient for Industrial Use. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 78, n. 4, p. 621-629, 2023.

FERNANDES, L. M. et al. Edible whey protein films and coatings added with prebiotic ingredients. In: Agri-food industry strategies for healthy diets and sustainability. **Academic Press**, 2020. p. 177-193.

FERNANDEZ-LOPEZ; J. A; ALMELA, L. Application of high performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits. **Journal of Chromatography A**, v. 913, n. 1-2, p. 415- 420, 2001.

GIBSON, G.R, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 17,n. 11, p. 1-15, 2017.

GIRALDO-SILVA, L. et al. *Opuntia ficus-indica* fruit: A systematic review of its phytochemicals and pharmacological activities. **Plants**, v. 12, n. 3, p. 543, 2023.

GOMES, W. F. et al. Effect of ultrasound followed by high pressure processing on prebiotic cranberry juice. **Food chemistry**, v. 218, p. 261-268, 2017.

GRYGORCZYK, A. et al. Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. **Food Quality and Preference**, v.27, n.2, 215–222, 2013.

GOUWS, C. et al. The effects of Prickly Pear fruit and cladode (*Opuntia* spp.) consumption on blood lipids: A systematic review. **Complementary Therapies in Medicine**, 50, 102384, 2020.

GUO, Z. et al. Optimization of ultrasound-microwave synergistic extraction of prebiotic oligosaccharides from sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 54, 51–63, 2019.

HUANG, L. et al. Textural and organoleptic properties of fat-free buffalo yogurt as affected by polydextrose. **International Journal of Food Properties**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2020.

HUEDA, M.C. (Ed.). **Functional Food: Improve Health through Adequate Food. BoD–Books on Demand**, 2017.

IBARRA, A. et al. Efficacy of polydextrose supplementation on colonic transit time, bowel movements, and gastrointestinal symptoms in adults: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 439, 2019.

KAUR, A. P. et al. Plant prebiotics and their role in the amelioration of diseases. **Biomolecules**, v. 11, n. 3, p. 440, 2021.

KIEWIET, M. B. G. et al. Flexibility of gut microbiota in ageing individuals during dietary fiber long-chain inulin intake. **Molecular nutrition & food research**, v. 65, n. 4, p. 2000390, 2021.

LI, M. et al. Recent Progress in Microencapsulation of Active Peptides—Wall Material, Preparation, and Application: A Review. **Foods**, v. 12, n. 4, p. 896, 2023.

LISBOA, H. M. et al. Innovative and sustainable food preservation techniques: enhancing food quality, safety, and environmental sustainability. **Sustainability**, v. 16, n. 18, p. 8223, 2024.

LU, W. et al. Recent Research on Different Parts and Extracts of *Opuntia dillenii* and Its Bioactive Components, Functional Properties, and Applications. **Nutrients**, v. 15, n. 13, p. 2962, 2023.

MADRIGAL-SANTILLÁN, E. et al. Review of natural products with hepatoprotective effects. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 40, p. 14787–14804, 2014.

MAN, S. et al. Friend or foe? The roles of inulin-type fructans. **Carbohydrate Polymers**, v. 252, p. 117155, 2021.

MARGEAN, A. et al. An Overview of Effects Induced by Pasteurization and High-Power Ultrasound Treatment on the Quality of Red Grape Juice. **Molecules**, v.25, n.7, 2020.

MARTINS, C. P. C. et al. Effects of microwave heating on the chemical composition and bioactivity of orange juice-milk beverages. **Food Chemistry**, v. 345, p.128746, 2021.

MARTINS, M. C. P. et al. Physicochemical, Nutritional, and Medicinal Properties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and Its Main Agro-Industrial Use: A Review. **Plants**, v. 12, n. 7, p. 1512, 2023.

MASON, T. J; PANIWNYK, L; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.3, n.3 , p. S253-S260, 1996.

MEDINA-TORRES, N. et al. Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. **Agronomy**, v. 7, n. 3, p. 47, 2017.

MÉNDEZ, L. P. et al. Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*. **Food Chemistry**, v. 188, p. 393-398, 2015.

MINEKUS, M. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. **Food & function**, v. 5, n. 6, p. 1113-1124, 2014.

MOHAMED, A. S. et al. Evaluation of In Vitro Antioxidant, Anti-Obesity, and Anti-Diabetic Activities of *Opuntia ficus* Cladodes Gel and Its Application as a Preservative Coating for Shrimp during Refrigerated Storage. **Gels**, v.9, n.716. 2023.

MOHD B. et al. Progress in the valorization of fruit and vegetable wastes: Active packaging, biocomposites, by-products, and innovative technologies used for bioactive compound extraction. **Polymers**, v. 13, n. 20, p. 3503, 2021.

MOUNIR, B. et al. Physico-chemical changes in cladodes of *Opuntia ficus-indica* as a function of the growth stage and harvesting areas. **Journal of Plant Physiology**, v. 251, n. 15316, 2020.

MORAN-RAMOS, S. et al. Nopal feeding reduces adiposity, intestinal inflammation and shifts the cecal microbiota and metabolism in high-fat fed rats. **PloS One**, v.12, n.2, e0171672, 2017.

MORREALE, F.; BENAVENT-GIL, Y.; ROSELL, C. M. Inulin enrichment of gluten free breads: Interaction between inulin and yeast. **Food chemistry**, v. 278, p. 545-551, 2019.

MUGGAH, E. M; MCSWEENEY, M. B. Using Preferred Attribute Elicitation to Determine How Males and Females Evaluate Beer. **Journal of Food Science**, v.82, n.8, 1916-1923, 2017.

NABIL, B. et al. Functional Properties, Antioxidant Activity, and Organoleptic Quality of Novel Biscuit Produced by Moroccan Cladode Flour “*Opuntia ficus-indica*”. **Journal of Food Quality**, v.2020, p.1-12, 2020.

NABIL, B. G. et al. Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as food colorants in food products. **Food Bioscience**, p. 102403, 2023.

PADILHA, et al. Optimization of synbiotic yogurts with yacon pulp (*Smallanthus sonchifolius*) and assessment of the viability of lactic acid bacteria. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 2, p. 166-175, 2017.

PADILHA, C. V. S. et al. 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.

PALMIERI, N. et al. *Opuntia ficus-indica* as an Ingredient in New Functional Pasta: Consumer Preferences in Italy. **Foods**, v.10, n.803, 2021.

PAN, Y. et al. Ultrasound treatment inhibits browning and improves antioxidant capacity of fresh-cut sweet potato during cold storage. **Rsc Advances**, v. 10, n. 16, p. 9193-9202, 2020.

PANG, D. et al. Characterization of inulin-type fructan from *Platycodon grandiflorus* and study on Its prebiotic and immunomodulating activity. **Molecules**, v. 24, n. 7, p. 1199, 2019.

PRISA, D. *Opuntia* plants nutritive and medicinal value: a review. **Journal of Current Science and Technology**, v. 13, n. 2, p. 486-499, 2023.

PUTNIK, P. et al. Innovative Hurdle Technologies for the Preservation of Functional Fruit Juices, **Foods**, v.9, n.6, 2020.

RASANE, P. et al. Strategic Advances in the Management of Browning in Fruits and Vegetables. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1-26, 2023.

RODRIGUES, C. et al. *Opuntia* spp.: An Overview of the Bioactive Profile and Food Applications of This Versatile Crop Adapted to Arid Lands. **Foods**, v. 12, n. 7, p. 1465, 2023.

REYES-HERNÁNDEZ, I. et al. Fenton Discoloration of Ultrasonicated Purple Cactus Pear Juice. **Molecules**. v. 22, n. 8, p. 1344, 2017.

RODRIGUES, C. et al. *Opuntia* spp.: An Overview of the Bioactive Profile and Food Applications of This Versatile Crop Adapted to Arid Lands. **Foods**, v. 12, n. 7, p. 1465, 2023.

ROOBAB, U. et al. An updated overview of ultrasound-based interventions on bioactive compounds and quality of fruit juices. **Journal of Agriculture and Food Research**, p. 100864, 2023.

RUFINO, M. D. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP)**. 2006.

RUFINO, M. D. S. M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. 2007.

SANTIAGO E. et al. Digestion and Colonic Fermentation of Raw and Cooked *Opuntia ficus-indica* Cladodes Impacts Bioaccessibility and Bioactivity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 9, p. 2490-2499, 2019.

SANTIAGO, E. et al. Impact of cooking process on nutritional composition and antioxidants of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemical**, v. 1, n. 240, p. 1055-1062, 2018.

SANTIAGO, E. et al. Digestibility of (Poly)Phenols and Antioxidant Activity in Raw and Cooked Cactus Cladodes (*Opuntia Ficus-Indica*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 66, n. 23, p. 5832–5844, 2018.

SANYAL, R. et al. Optimizing raffinose family oligosaccharides content in plants: A tightrope walk. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1134754, 2023.

SCHAAFSMA, G; SLAVIN, J. L. Significance of inulin fructans in the human diet. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 1, p. 37-47, 2015.

SHAIK, L; CHAKRABORTY, S. Effect of different storage conditions on the quality attributes of sweet lime juice subjected to pulsed light and thermal pasteurization. **Sustainable Food Technology**, v. 1, n. 5, p. 722-737, 2023.

SIDDIQUI, S. A. et al. **Consumer Behavior and Industry Implications. In: The age of clean label foods**. Cham: Springer International Publishing, 2022. p. 209-247.

SILVA, E. K. et al. Xylooligosaccharides chemical stability after high-intensity ultrasound processing of prebiotic orange juice. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 63, p. 104942, 2020.

SILVA, V. M. et al. Bioactive compounds of the *Opuntia monacantha* fruit. **Natural Product Research**, v. 37, n. 11, p. 1863-1866, 2023.

SINGH, R. S.; SINGH, T.; LARROCHE, C. Biotechnological applications of inulin-rich feedstocks. **Bioresource technology**, v. 273, p. 641-653, 2019.

SINGLA, M; SIT, N. Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 73, p. 105506, 2021.

SNYDER, A. B.; WOROBO, R. W. The incidence and impact of microbial spoilage in the production of fruit and vegetable juices as reported by juice manufacturers. **Food Control**, v.85, p.144-150, 2018.

STINTZING, F.C.; CARLE, R. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses. **Molecules Nutrition Food Research**, v. 49, n. 2, p. 175–194, 2005.

STRIEDER, M. M. et al. Inulin-type dietary fiber stability after combined thermal, mechanical, and chemical stresses related to ultrasound processing of prebiotic apple beverage. **Food Hydrocolloids**, v. 139, p. 108489, 2023.

SULAIMAN, A.; SILVA, F. V. M. Principles of sonication and its equipment in the food industry. In: Non-thermal Food Processing Operations. **Woodhead Publishing**, 2023. p. 435-464.

TAHAR, H. S. Evolution of Bioactive Components of Prickly Pear Juice (*Opuntia ficus indica*) and Cocktails with Orange juice. **Nature & Technology**, v. 9, n. 5, p. 45-53, 2019.

TAHEUR, F. B. et al. Functional properties of a kefir-based probiotic dairy product enriched with red prickly pear (*Opuntia dillenii*) powder. **Journal of Food Measurement and Characterization**, p. 1-14, 2023.

VEENA, N.; NATH, S.; ARORA, S. Polydextrose as a functional ingredient and its food applications: a review. **Indian Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 3, p. 239-251, 2016.

VOGT, L. et al. Immunological properties of inulin-type fructans. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 55, n. 3, p. 414-436, 2015.

WADDELL, I. S; ORFILA, C. Dietary fiber in the prevention of obesity and obesity-related chronic diseases: From epidemiological evidence to potential molecular mechanisms. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 63, n. 27, p. 8752-8767, 2023.

WANG, J. et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.-anticancer properties and phytochemicals: current trends and future perspectives. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023.

WU, Y. et al. Effect of thermosonication treatment on blueberry juice quality: Total phenolics, flavonoids, anthocyanin, and antioxidant activity. **LWT**, v. 150, p.112021, 2021.

YUAN, X. et al. Industrial Production of Functional Foods for Human Health and Sustainability. **Foods**, v. 13, n. 22, p. 3546, 2024.

ZADEIKE, D; DEGUTYTE, R. Recent Advances in Acoustic Technology in Food Processing. **Foods**, v. 12, n. 18, p. 3365, 2023.

ZAFRA-ROJAS, Q. Y. et al. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.20, n. 5, p. 1283–1288, 2013.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão desta dissertação estão apresentados na forma de artigo original, intitulado: “**Impact of different prebiotics on ultrasound-treated nopal cladode (*Opuntia dillenii*) beverages**”, que foi submetido ao periódico Food Chemistry, periódico classificado com Qualis A1, na área de Ciência de Alimentos.

ARTIGO

Impact of different prebiotics on ultrasound-treated nopal cladode (*Opuntia dillenii*) beverages**ABSTRACT**

Opuntia dillenii cladodes are rich in bioactive compounds such as phenolics, vitamins and fibres. This study aimed to evaluate the impact of different prebiotics on the bioactive compounds' stability, bioaccessibility, bioactivity and sensorial characteristics of ultrasound treated nopal cladode (*Opuntia dillenii*) beverages. Five formulations were prepared: untreated beverage (BC); ultrasound-treated beverage (BU); and ultrasound-treated beverage with inulin (BIU) or fructo-oligosaccharides (BFU) or polydextrose (BPU). The addition of prebiotics increased dietary fibre in beverages (10.44-20.70%). BPU presented higher concentrations and stability of bioactive compounds, such as phenolics and ascorbic acid; in addition to greater antioxidant activity (FRAP) and maintained the inhibition of the α -glucosidase enzyme. BFU showed higher bioaccessibility of phenolic compounds and maintained inhibition of the α -amylase enzyme. The addition of prebiotics minimized undesirable sensory characteristics in the beverages. These findings suggest that adding prebiotics to nopal beverages may maintain functionality and increase the acceptability of these products during storage.

Keywords: cacti, bioactive compounds, dietary fibre, inulin, fructo-oligosaccharides, polydextrose, storage.

1. Introduction

Nopal (*Opuntia* spp) consumption has become increasingly popular due to its nutritional value, with a composition rich in dietary fibre, vitamins, minerals and phenolic compounds including flavonoids, which can exert numerous health benefits (Barba et al., 2022; Bakar et al., 2020). *Opuntia* species are used to produce dietary supplements, pulps, beverages, jams, sweeteners, and tea (Missaoui et al., 2020).

Although most food studies have focused on *Opuntia ficus-indica* (Giraldo Silva et al., 2023), the *O. dillenii* species is abundant in bioactive compounds recognized for promoting biological activities, especially antioxidant, anti-inflammatory, anti-atherosclerotic, antihyperlipidemic, analgesic, gastroprotective and antidiabetic activities (Bouhrim et al., 2021; Li et al., 2023; Abdelkader et al., 2023). Some products based on *O. dillenii* have been developed such as juices and kefir (Bassama et al., 2020; Ennouri et al., 2023; Taheur et al., 2023), however few studies focus on its functional properties and bioactivity (Shirazinia et al., 2019).

The development of new functional food products has been the main trend in the food industry worldwide. Consumers are increasingly looking for functional products that promote beneficial effects to their health and influence their quality of life. Numerous functional food products containing bioactive compounds and prebiotic fibres have been elaborated to meet the global demand for these products (Costa et al., 2019; Fernandes et al., 2020; Silva et al., 2020).

The addition of prebiotic dietary fibres to beverages has been identified as a process which stimulates the beneficial effects promoted by the intake of nutrients associated with antioxidant compounds found naturally in these products. Prebiotics are defined as a substrate selectively used by host microorganisms that confers health benefits (Neri-Numa et al., 2020; Strieder et al., 2023; Gibson et al., 2017).

Furthermore, studies report that the ability of dietary fibres to interact and transport bioactive compounds, mainly polyphenols, to the intestinal colon, can be considered as one of their main attributes, considering that this ability can amplify the beneficial effects on human health promoted by these compounds (Jakobek; Matic, 2019).

In this context, one of the purposes of adding prebiotics to beverages is to replace the fibres that are lost during the beverage making process, as well as aiming to add nutritional and functional value to these products because these fibres provide desirable sensorial characteristics for the consumer, including sweetening and texture properties (De Carvalho Correa et al., 2024). Among prebiotics added to food products, fructo-oligosaccharides, inulin, and polydextrose are the most popular (Chavan et al., 2023).

In parallel, the food industry also continually seeks conventional conservation methods and emerging technologies that preserve functionality, while at the same time improve the sensorial and microbiological quality of these products (Sharma et al.,

2023).

Treating beverages using ultrasound has presented advantages when compared to other conventional thermal processes. Studies have reported that ultrasound treatment increased the release of bioactive compounds, preventing losses of phenolic compounds and ascorbic acid, and consequently increased the antioxidant potential of beverages and other products (Rojas et al., 2022; Kalsi; Singh; Alam, 2023). These effects were previously verified in nopal beverages (*Opuntia ficus-indica*) which were subjected to ultrasound treatments. The results demonstrated that the beverage subjected to the longest ultrasound treatment time (40 minutes) showed greater stability of bioactive compounds, smaller changes in colour parameters, and presented greater acceptability (Albuquerque et al., 2021).

Therefore, in this study we evaluated the impact of different prebiotics (inulin, fructo-oligosaccharides, and polydextrose) on the bioactive compounds' stability, bioaccessibility of phenolics, bioactivity and sensorial characteristics of ultrasound treated nopal cladode (*Opuntia dillenii*) beverages.

2. Material and methods

2.1 Beverage elaboration

Nopal cladodes were collected in cultivation in the city of Cuité (Latitude: 06° 29' 01" S, Longitude: 36° 09' 13" W), located in Paraíba, Brazil. The harvest took place 45 days after sprouting in the morning at 6-7 a.m., between July and October 2022. Standard characteristics and physical integrity were considered as cladode selection criteria. The nopal of the *Opuntia dillenii* species was identified and deposited (n. JPB66980) in the Lauro Pires Xavier Herbarium of the Federal University of Paraíba (UFPB).

The nopal cladodes were previously cleaned with running water and sanitized by immersing them in 200 ppm chlorinated water for 15 min and then rinsing. Then, the spines were manually removed, and the cladodes were cut into uniform cubes and immersed in water with 0.9% refined salt for 50 min to remove excess mucilage. For the beverage preparation process, the nopal cladodes were ground in a commercial juice extractor (Skymesen®, model EXB-N INOX, São Paulo, Brazil), considering a 3:1 ratio between nopal and water (density = 1.075 ± 0.12) in the proportion that demonstrated the best results for the beverage appearance, consistency, and uniformity according to

the remaining mucilage and the Brazilian nopal matrix (Albuquerque, 2021).

Next, five types of cladode-based beverages were elaborated: 1. beverage untreated or control (BC); 2. beverage treated with ultrasound (BU); 3. beverage with the addition of medium-chain inulin and treated with ultrasound (BIU); 4. beverage with the addition of fructo-oligosaccharides (FOS) and treated with ultrasound (BFU); 5. beverage with the addition of polydextrose and treated with ultrasound (BPU).

The prebiotic (inulin, fructo-oligosaccharides and polydextrose) was added at 2.5 g/100 mL of beverage, based on a previous study that recommends a daily intake of 2 to 4 g of prebiotics (Mohanty et al., 2018) and on Brazilian legislation that attributes 2.5 g of these components per portion to use the functional property claim (Anvisa, 2019).

The beverages that received ultrasound treatment were subjected to an ultrasonic bath system with a thermostat (Unique[®], model USC-2850A, São Paulo, Brazil) at a frequency of 25 kHz and ultrasonic power of 240 W (Ordóñez-Santos et al., 2017). The entire process was performed while protected from light. The beverages were immediately cooled by immersion in an ice-water bath after treatments and stored at 4 °C to conduct analyses throughout storage at 1, 14, and 28 days.

2.2 pH, titratable acidity and instrumental colour analysis

The pH was determined using a digital potentiometer (Quimis model Q400as). The sample was neutralized with a standard 0.1 N NaOH solution determined by the titration method to evaluate the total titratable acidity (AOAC, 2016).

Instrumental colour analysis was performed using a Minolta colourimeter (model CR-300; Minolta Co., Osaka, Japan) according to the CIELAB system (CIE, 1996). The CIELAB colourimetric space is determined by L*, a*, b*, in which the L* coordinate corresponds to luminosity, while a* and b* refer to the chromaticity coordinates green (-)/red (+) and blue (-)/yellow (+), respectively.

2.3 Characterization of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages

Analyses were performed to quantify dietary fibres, ascorbic acid and chlorophyll, as well as to quantify and characterize the profile of oligosaccharides, sugars, organic acids, phenolic compounds and antioxidant activity.

2.3.1 Determination of ascorbic acid and chlorophyll content

Quantification of ascorbic acid content was determined by titration by reducing Tillman's solution (sodium 2,6 dichlorophenolindophenol) from sample extracts (AOAC, 2019).

Chlorophyll contents (total, a and b) were determined using the methodology recommended by AOAC (2019), followed by prior sample adjustments. The absorbances were read using a UV/VIS spectrophotometer (Bel, model UV-M51, Italy) at wavelengths of 660 nm and 642.5 nm. The results were obtained using equations and are expressed in mg of chlorophyll/100 g of sample.

2.3.2 Determination of dietary fibres

Total, soluble and insoluble dietary fibre was quantified using the enzymatic-gravimetric assay kit (Sigma Aldrich, St. Louis, USA, following methodology 991.43 (AOAC, 1995).

2.3.3 Determination of the sugar and organic acid profiles

The sugar (fructose, glucose, maltose, rhamnose) and organic acid (acetic, butyric, citric, formic, lactic, succinic, and tartaric) contents in the beverages was quantified from the pure beverage, centrifuged at $3634 \times g$ force for 10 min. After centrifugation, the supernatant was collected and filtered with a $0.45 \mu\text{m}$ syringe filter directly into 2 mL microtube. During the analysis, an Agilent Hi-Plex H column ($300 \times 7.7 \text{ mm}$) with a particle size of $8.0 \mu\text{m}$ and PL Hi-Plex H guard column ($5 \times 3 \text{ mm}$) (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) was maintained at 50°C , while the injection volume was $20 \mu\text{L}$, flow rate 0.5 mL/min , mobile phase $4.0 \text{ mM H}_2\text{SO}_4$ in ultrapure water and then run for 20 min in a high-performance liquid chromatograph - HPLC (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). Data were processed using OpenLAB CDS ChemStation Edition™ software (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) (Coelho et al., 2018). The glucose, fructose and formic acid standards were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, USA); maltose and rhamnose were obtained from Chem Service (West Chester, USA); and citric, acetic, lactic, propionic, tartaric, succinic and malic acids were obtained from Vetec Química Fina (Rio de Janeiro, Brazil), all with a purity of $\geq 99\%$.

2.3.4 Determination of the phenolic compound profile

Phenolic compounds were determined following the methodology validated by

Padilha et al. (2017) and adapted by Dutra et al. (2018). Chromatographic analyses were performed using an Agilent 1260 Infinity LC (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) liquid chromatography system coupled to a diode array detector (DAD) (model G1315D). Data were processed using Open LAB CDS Chem Station Edition software (Agilent Technologies, Santa Clara, USA). A Zorbax Eclipse Mais RP-C18 column (100 × 4.6 mm, 3.5 µm) and a Zorbax C18 pre-column (12.6 × 4.6 mm, 5µm) were used, both manufactured by Zorbax (USA). Compound detection was carried out at 220, 280, 320, 360, and 520 nm, and identification and quantification were compared with external standards. All compounds of interest were detected and quantified in a wavelength range between 220 and 520 nm (Sigma-Aldrich, St Louis, MA, USA).

2.4 Bioaccessibility of phenolic compounds

In vitro bioaccessibility tests were conducted based on the methodology described by Minekus et al. (2014). In the simulated oral phase, 15 mL of the beverages were mixed with 10.5 mL of simulated salivary fluid (SSF), 0.5 mL of 1500 U/mL α -amylase in SSF solution, 75 µL of 0.3 M CaCl₂ and 2.925 µL of water, and the mixture was incubated at 37 ± 2 °C for 2 min with shaking (50 RPM). In the gastric digestion simulation phase, 24.5 mL of simulated gastric fluid (SGF), 4.8 mL of 2,000 U/mL porcine pepsin in SGF solution, 15 µL of 0.3 M CaCl₂ were added to the previous mixture, and 2.775 µL of water, and the pH was adjusted to 3.0 with 1 M HCl. Then, the mixture was incubated at 37 ± 2 °C with shaking for 2 h (90 RPM). In the intestinal digestion phase, 25.5 mL of the gastric mixture were added with 14 mL of simulated intestinal fluid (SIF), 15.0 mL of 800 U/mL pancreatin solution in SIF solution, 7.5 mL of fresh bile (160 mM in fresh bile), 120 µL of 0.3 M CaCl₂ and 3.93 mL of water and the pH was adjusted to 7.0 with 1 M NaOH. Afterwards, the mixture was maintained at 37 ± 2 °C with stirring (90 RPM) for 2 h. The bioaccessibility percentage was determined using Eq. (1) (Dantas et al., 2019), where intestinal bioaccessibility is the phenolic compound concentration in the SIF (bioaccessible fraction) and sample bioaccessibility represents the phenolic compound concentration in the beverages before simulated digestion.

$$\text{Bioaccessibility (\%)}: \frac{\text{Phenolic compound in bioaccessible fraction}}{\text{Total phenolic compound}} \times 100$$

Eq. (1)

2.5. Quantification of total phenolic compounds

The total phenolic compound content of the beverages was determined using the Folin-Ciocalteu assay, with adaptations (Berker et al., 2013). For this analysis, 0.25 mL of each sample was mixed with 1.25 mL of Folin-Ciocalteu reagent and incubated at room temperature for 5 min. Subsequently, 1 mL of sodium carbonate (75 g/L) was added to the mixture and incubated at 50 °C for 15 min. After cooling, the absorbance was measured at 760 nm using an Eppendorf BioSpectrometer (Model No. 6135 000 009, Hamburg, DE). The quantification of phenolic compounds was performed using a gallic acid calibration curve. The results were expressed in milligrams of gallic acid equivalent (GAE) per 100 mL beverage. Each sample was analyzed in triplicate.

2.6 Antioxidant activity

The ABTS radical reduction method was performed according to the methodology described by Rufino et al. (2007). A standard Trolox curve was constructed to express the results. The antioxidant capacity by capturing the free radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) was based on the methodology with adaptations described by Rufino et al. (2007). The antioxidant activity determination using the Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) method was based on the methodology described by Benzie & Strain (1996), with adaptations of those described by Rufino et al. (2006).

2.7 Antidiabetic activity by inhibiting enzymes α -amylase and α -glucosidase

The antidiabetic activity *in vitro* was determined by inhibiting α -amylase and α -glucosidase enzyme activity (Ayyash et al. 2018). For the α -amylase activity, 100 μ L of human salivary α -amylase (1.0 unit/mL, Sigma, St. Louis, USA) was mixed with 100 μ L of the sample and incubated for 5 min at 37 °C. Then, 250 μ L of starch (Dinâmica®, Indaiatuba, Brazil) (1 g/100 g) was added as a substrate in phosphate buffer (Êxodo científica®, Sumaré, Brazil) (pH 6.8) to start the reaction. The reaction was performed for 5 min at 37 °C and was stopped by adding 200 μ L of DNS reagent (1% 3,5-dinitrosalicylic acid and 12% potassium and sodium tartrate in 0.4 mol/L NaOH) (Dinâmica®, Indaiatuba, Brazil). The mixture was heated at 100 °C for 15 min and diluted with 2 mL of distilled water in an ice bath. The α -amylase activity was determined by measuring absorbance at 540 nm.

For the α -glucosidase activity, α -glucosidase (1 unit/mL, SIGMA G5003, St. Louis, USA) was dissolved in 100 μ L of 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8) and mixed with 50 mL of sample. After incubation (37 °C for 10 min), 50 μ L of 4-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (SIGMA N1377) was added. The enzymatic reaction was conducted at 37 °C for 30 min and stopped by adding 1 mL of sodium carbonate (pH=11.0) (0.1 M). The α -glucosidase activity was determined by measuring the absorbance at 400 nm.

2.8 Sensorial analysis - Preferred elicitation attribute (PAE)

The sensory analysis involving human beings was carried out with prior approval by the Research Ethics Committee CEP/CCS/UFPB of the Centre for Health Sciences/UFPB, (CAAE protocol: 57117521.3.0000.5188) and followed the guidelines set out in Resolution 466/2012 of CONEP/CNS/MS. The consumers were members of the UFPB Community, such as students, professors, and employees who agreed to participate. Consumers of green vegetables and derived products, such as beverages, participated in the PAE section (n=19, 12 women, 7 men, 20-50 years old), and they were selected based on availability to participate in the section. The PAE methodology was conducted according to Grygorczyk et al. (2013).

2.9 Statistical analysis

The data were subjected to the Shapiro-Wilk test to assess normal distribution. The data were subsequently analysed using analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-test with a significance level of 5% ($p \leq 0.05$) when there was a difference between the variables, using the GraphPad Prism® 9.5.1.733 Pro (San Diego, CA) program. The PAE data were analysed using the Generalized Procrustes Analysis (GPA) with a matrix of 5 rows (nopal beverage formulations) and 323 columns (attributes x number of consumers, 19 consumers, 17 attributes). The Friedman test analysed the importance of descriptors (ranking test) using Newell and MacFarlane tables. The statistical analyses were conducted using the XLSTAT 2022.2.1 program (Adinsoft®, New York, USA), and the PAST v.4.03 (Oslo, NO) software was used to perform principal component analysis (PCA) of the data.

3. Results and discussion

3.1 pH, titratable acidity and colour

The pH and titratable acidity parameters of the beverages did not demonstrate significant differences ($p > 0.05$) among the beverages (Table 1), which has already been demonstrated in other studies with the addition of prebiotics to some juices (Miranda et al., 2019; Silva et al., 2021).

Physicochemical and phytochemical characteristics of *Opuntia* spp. may vary according to several factors in the region, including soil composition, climatic issues and water availability. These variations occur in conditions of the vegetable itself, including the different maturation degrees of the nopal (Ben Lataief et al., 2021; Martins; Ribeiro; Almeida, 2023).

Table 1. pH, titratable acidity and colour of nopal cladode beverages.

In Table 1, it is possible to verify the changes in brightness and colour over the storage time. The BIU for the initial storage time in the analysis of the L^* axis, however the BFU presented the greatest brightness stability in the final storage time, followed by the BU, BC, BIU and BPU. The BPU presented the lowest value for this parameter, indicating that the addition of polydextrose more intensely reduced the luminosity of the nopal beverage.

For the a^* axis (green trend), it was found that the BIU presented the highest value, followed by the BU, BC, BFU and BPU. The data indicate that the addition of fructo-oligosaccharides and polydextrose significantly reduced the colour patterns of the a^* axis, causing greater changes in the beverage colour throughout storage. In contrast, the BIU and BU best maintained the original green colour of the beverage during storage, corroborating the result of better conservation of the chlorophyll content in these beverages.

The BC showed a significant increase in the b^* axis (yellow tendency) when compared to the BU, indicating that the ultrasound treatment resulted in a smaller change in the beverage colour at the end of storage. The addition of prebiotics showed lower values on the b^* axis, indicating colour preservation.

In general, there was a reduction in the luminosity characteristic (L^*) in all beverages, mainly in the BPU, BIU and BC. The BU presented higher values for the L^* and a^* axis (green colour trend axis) and lower values for the b^* axis (yellow colour trend axis) when compared to the BC, indicating that the ultrasound treatment maintained the colour characteristics of the beverage during storage time (Table S3).

Ultrasound treatment promotes inactivation and reduction in the activity of enzymes such as peroxidase and polyphenol oxidase through the cavitation mechanism. The inhibition of these enzymes reduces and delays changes in the product's colour throughout storage, improving consumer acceptability of the product (Pan et al., 2020; Rasane et al., 2023).

3.2 Characterization of bioactive compounds

3.2.1 Dietary fibres

Beverages made with *Opuntia dillenii* cladodes presented higher amounts of soluble fibre in their total composition than insoluble fibres (Table S1). Our results demonstrated that ultrasound treatment did not promote changes in the amount of soluble, insoluble and total fibres when compared to the beverage without treatment. This result confirms data presented in a study carried out with beverages based on *Opuntia ficus-indica* cladodes treated with ultrasound (Albuquerque et al., 2021).

The beverages with prebiotics added had a higher total dietary fibre content, especially BFU, BPU and BIU in this order. All beverages had higher soluble fibre concentrations when compared to insoluble ones, with soluble fibre being predominant in the aqueous extract composition of *Opuntia* spp. cladodes (Hwang et al., 2017).

Table S1. Dietary fibres of nopal cladode beverages.

3.2.2 Chlorophyll and ascorbic acid content

The beverage with inulin added maintained the highest chlorophyll levels in the ultrasound-treated beverage, while the FOS and polydextrose prebiotics promoted a reduction in the chlorophyll levels in the beverages (Table S2). These data corroborate the green colour data.

A reduction in chlorophyll a and total chlorophyll concentrations were observed in all beverages over the storage days. The results indicated that the beverage treated with ultrasound and added inulin (BIU) and the beverages without prebiotics added (BC, BU) had the highest chlorophyll content, while the beverages with fructo-oligosaccharides and polydextrose added (BFU, BPU) had lower total chlorophyll concentrations, which can indicate that these prebiotics were not able to preserve this pigment.

Regarding the determination of ascorbic acid, the BU beverage presented lower amounts of ascorbic acid than the BC beverage, indicating that the ultrasound treatment negatively influenced the ascorbic acid concentrations in this beverage. At the initial time of the analysis, the BC and BPU beverages presented the highest concentrations of this compound at the initial time of analysis; however, only BPU maintained higher concentrations of ascorbic acid at the final storage time. The BIU and BFU beverages did not present significant differences in their ascorbic acid concentrations throughout storage (Table S2). The preservation of ascorbic acid in BPU can be justified by the ability of some prebiotics to promote physical protection and be used as a carrier material for some bioactive compounds, maintaining their stability (Marcillo-Parra et al., 2021). The results demonstrated that polydextrose had a greater capacity to maintain the stability of ascorbic acid in the nopal beverage. Polydextrose is a polysaccharide which has the ability to provide physical protection to bioactive compounds, protecting bioactive compounds from adverse factors, including high temperatures, and maintaining their stability over long storage times (Marcillo-Parra et al., 2021). The efficiency of the preservation of bioactive compounds by polydextrose and other prebiotics was described in studies with applications in different types of products, such as for fruit and vegetable extracts and juices (Kuck; Noreña, 2016; Lago; Noreña, 2016; Li et al., 2023).

Table S2. Chlorophyll and ascorbic acid concentration of nopal cladode beverages.

3.2.3 Organic acids and sugars

The results of organic acid analysis revealed that the BU and BC presented the highest malic and citric acid concentrations throughout all the storage period. These results are similar to the results reported in a previous study with a beverage based on *O. ficus-indica* treated with ultrasound (Albuquerque et al. 2021).

BFU and BPU were the beverages with added prebiotics that preserved the highest malic acid concentrations at the end of storage, while the BPU beverage presented higher citric acid levels in 28 days of storage when compared to BFU and BIU. Formic acid concentrations varied in all beverages during the storage period (Table 2).

Regarding sugar analysis, the BPU followed by the BIU had the highest glucose

concentrations throughout all the storage period. In contrast, these sugars were not detected in the BU at any time, just as there was no detection in either the BC and BFU at the final storage time. In turn, the BFU showed significantly higher fructose concentrations during its storage, followed by the BIU. Moreover, fructose showed concentrations below the detection limit in the BU and BPU after 28 days of storage (Table 2).

Table 2. Organic acid and sugar concentrations of nopal cladode beverages.

3.2.4 Profile and bioaccessibility of phenolic compounds

In the analysis of the profile of phenolic compounds, the main compounds detected in all beverages belong to the flavonol groups, with emphasis on isorhamnetin, hesperidin and kaempferol-3-glucoside. Isorhamnetin was the compound with the highest concentration in all beverages analysed. The mentioned compounds are also found in abundance in different nopal species, including *O. dillenii* (Zeghib et al., 2022).

The BU showed lower phenolic compound concentrations when compared to the BC (Table 3), which was not subjected to treatment. These results can be justified by the fact that ultrasound treatment forms cavitation bubbles that can stimulate forming free radicals in liquid media, intensifying sonochemical reactions and inducing polymerization/depolymerization reactions, promoting oxidation and deterioration of some bioactive compounds (Medina-Torres et al, 2017; Mohd et al., 2021). Although the physical stress promoted by ultrasound can cause degradation of some bioactive compounds, studies demonstrate that this conservation method can still be considered an effective and advantageous process, since the loss of these compounds is significantly superior in thermal and conventional conservation processes, such as pasteurization (Albuquerque et al., 2021; Pérez et al., 2023).

For the beverages with prebiotics added, the BPU showed greater detection and higher flavonoid, hydroxybenzoic acid, hydroxycinnamic acid, stilbene, and total phenolic compound concentrations ($p \leq 0.05$) in comparison to the results for the other beverages. However, the BU, BIU and BFU did not show significant statistical differences among their profiles (Table 3).

These results indicate that the addition of polydextrose was able to promote a protective effect of bioactive compounds such as phenolic compounds in the beverage. The protective effect of polydextrose on bioactive compounds has been described in current studies in products, such as for fruit and vegetable juices (Marcillo-Parra et al., 2021; Li et al., 2023).

Dietary fibres can incorporate polyphenols, which can interact chemically and physically with the food matrix. Several studies have shown that polyphenols and polysaccharides are mainly linked by covalent and non-covalent interactions. Among these, the main non-covalent binding forces of interaction between polysaccharides and polyphenols are hydrogen bonds, and ionic and hydrophobic interactions (Siemińska-Kuczer et al., 2022).

From a mechanistic perspective, non-covalent bonds between polyphenols and macronutrients are a consequence of short-range electrostatic and van der Waals forces; however, although van der Waals forces, electrostatic attraction, hydrophobic contact, or covalent bonding interactions (esterification) play a relevant role in fibre-polyphenol interactions, information in the literature reports that these interactions are mainly stimulated by hydrogen bonds (González-Aguilar et al., 2017).

Furthermore, likely, the initial interactions occur rapidly and directly between polyphenols and fibre components, with gradual and slower increases in binding due to stacking of polyphenols with other polyphenols over time (Jakobek, 2015; Xue et al., 2024). The structural characteristics, concentrations and compositions of fibres and PCs are crucial variables to be analysed to enhance/optimize these interactions (Jakobek & Matić, 2019). The influence of factors such as pH, temperature and ionic strength on the degree of fibre-polyphenol interactions were also analysed in some studies (Guo et al., 2018; Koh et al., 2020).

The preservation of bioactive compounds by prebiotics has been investigated because phenolic compounds are sensitive to environmental factors, including heat and light, in addition to having low solubility in water in their liquid form. These characteristics support low long-term stability, indicating the challenging search for new strategies that mitigate the disadvantages related to the stability of these compounds (Šamec et al., 2021; Medina-Torres et al., 2017). Regarding the bioaccessibility of phenolic compounds, the epigallocatechin gallate, procyanidin B2, kaempferol-3-glucoside, and isorhamnetin compounds were bioaccessible in all analysed beverages. The procyanidin B1 compound showed bioaccessibility in all

beverages, except BU; myricetin was only bioaccessible in BFU and BPU; quercetin only in BC and BFU; and rutin in BIU and BFU (Table 3).

These results indicate that the addition of prebiotics was able to preserve and increase the bioaccessibility of some compounds, highlighting the BFU. These results can be justified by the fact that phenolic compounds are capable of binding to prebiotic fibres, being able to modify the fraction of compounds released by the food matrix and enhance their availability (bioaccessibility) (Lu et al., 2019; Jakobek; Matic, 2019). This phenomenon *in vivo* involves digestive transformations and the absorption capacity of intestinal epithelial cells, as well as pre-systemic metabolism. Compounds which are not absorbed can somehow be transported by fibre to the colon, an area where they can be metabolised and transformed by gut microbiota activity (Jakobek; Matic, 2019; Rochetti et al., 2022).

Table 3. Profile and bioaccessibility of phenolic compounds of nopal cladode beverages.

The BPU presented the highest total phenolic compound concentration, followed by the BC, BU, BFU and BIU. However, the BFU showed greater bioaccessibility (13.90%), followed by the BPU, BC, BIU and BU (Table 4).

Table 4. Total phenolic compound concentrations and bioaccessibility among nopal cladode beverages.

The BPU had the highest total phenolic compounds concentrations, followed by the BC, BFU, BU and BIU during storage (Fig. 1). The beverages which maintained the highest amount of phenolics until the final storage time (28 days) were the BPU and BC, followed by BFU, BU and BIU.

Fig. S1. Total phenolic compounds of nopal cladode beverages.

Phenolic compounds are known to promote several health benefits, justified by their potential bioactivities. Studies attribute potential biological activities to these

compounds which help maintain health and protect the body, including immunomodulatory, antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and anticarcinogenic activities (Giraldo-Silva et al., 2023; Lu et al., 2023; Wang et al., 2023).

3.3 *Antioxidant activity*

The results showed that the BC and BU showed similar antioxidant activities in the ABTS (Fig. 1A) and DPPH (Fig. 1B) analyses in the final storage period, indicating that the ultrasound treatment did not increase the stability of the antioxidant activity of the nopal beverage at the end of storage. However, the FRAP analysis demonstrated an increase in the iron-reducing power of the BU when compared to the BC on the last storage day (Fig. 1C).

The BC and BU demonstrated better antioxidant activity in the DPPH analysis when compared to beverages with prebiotics at the end of shelf life. As for the beverages with prebiotics added, the BFU demonstrated greater antioxidant potential in the ABTS analysis, preserving the stability of this potential during storage, while BPU had most preserved its antioxidant activity in the DPPH and FRAP analyses on the last storage day.

The antioxidant potential of a product can be directly related to its concentrations of bioactive compounds found in the nopal beverages with the capacity to reduce and delay oxidation and degradation reactions (Silva et al., 2019). The bioactive compounds found in nopal beverages, especially phenolic compounds, chlorophylls and ascorbic acid, have significant antioxidant potential (Wang et al., 2023). The preservation of these compounds throughout storage may justify the antioxidant capacity results presented.

Fig. 1. Antioxidant activity by (A) ABTS, (B) DPPH and (C) FRAP methods of nopal cladode beverages.

3.4 *Antidiabetic activity*

Nopal beverages showed greater inhibitory capacity for α -glucosidase (Fig. 2A) than α -amylase (Fig. 2B) enzyme activity. The results showed enzymatic inhibition percentages for α -amylase between 19.15% and 34.95%. The beverage which showed

the highest inhibition rate was BFU, followed by the BC, BU, BIU and BPU (Fig. 2A). Nevertheless, the percentages in the inhibition analysis of α -glucosidase enzymatic activity varied from 76.29% to 95.26%. The beverages which showed the highest enzyme capacity were the BC, BPU, BU, BIU and BFU (Fig. 2B).

The results indicate that ultrasound treatment and the addition of prebiotics did not significantly change the inhibitory potential of the α -amylase and α -glucosidase enzyme, except for the BFU, which showed a lower enzyme inhibition percentage. On the other hand, it was found that the addition of the polydextrose prebiotics reduced the inhibitory capacity of the α -amylase enzyme activity, showing the lowest inhibition percentage. These results are important because one of the treatment strategies for diabetes is based on reducing postprandial hyperglycaemia, reducing and delaying the absorption of glucose by inhibiting the carbohydrate hydrolysing enzymes α -amylase and α -glucosidase, preventing an increase in postprandial glucose (Loukili et al., 2022).

Fig.2. Inhibition of α -amylase (A) and α -glucosidase (B) enzymatic activity of nopal cladode beverages.

The α -glucosidase enzyme inhibition values found in this study were higher than the values reported in a study that compared the antidiabetic potential of dry powder and aqueous extract of *O. ficus-indica* (Hwang et al. 2017) and higher than the inhibition percentage reported for *O. dillenii* seeds and fruit juice (Loukili et al., 2022). Nevertheless, all beverages produced in the present study showed lower α -amylase activity inhibition percentages in comparison to this activity evaluated in *O. dillenii* seeds and fruit juice (Loukili et al., 2022).

The results together indicate that the anti-hyperglycaemic effect promoted by *O. dillenii* is associated with an abundance of natural bioactive compounds, such as phenolic compounds and fibres, present in the composition of this cactus, which have potential capacity for antidiabetic activity (Whang et al., 2023).

3.5 Sensorial analysis

Fig. 3A and 3B shows the confidence ellipses of nopal beverages for GPA data. When the ellipses are well separated, it means that they are related to different products,

while strongly overlapping ellipses are related to products that cannot be separated by attributes (Pereira et al., 2019).

The participants listed 17 attributes corresponding to beverages: green colour; brightness; dull appearance; turbid; grass aroma; earthy aroma; sweet aroma; nopal typical aroma; fluid; viscous; grainy texture; bitter taste; sour taste; sweet taste; refreshing; astringent; and typical nopal flavour. The attributes cited as the most desired for beverages were green colour, brightness, sweet aroma, nopal typical aroma, refreshing, sweet taste, typical nopal flavour, sour taste, and fluid texture. Attributes identified as undesirable included dull appearance, turbid, earthy aroma, bitter taste, and grainy texture.

In Fig. 3A, principal component 1 separated the BC from the BU, BIU, BFU and BPU. It was found that the ultrasound treatment presented a greater number of desirable sensory characteristics, including green and shiny colour, sweet aroma, viscous texture and typical nopal flavour. Principal component 2 separated the BIU and BFU from the BPU. Thus, the BPU was characterized by a higher intensity of grass aroma, earthy aroma, typical nopal aroma, and refreshing. In Fig. 3B, principal component 3 separated the BFU from the others, denoting that this formulation was more fluid. Finally, principal component 4 separated the BC from the ultrasound-treated beverages with prebiotics, and BU was characterized by a higher intensity of bitter and astringent taste. The results demonstrated that the addition of prebiotics reduced the intensity of undesirable sensory characteristics (astringent and dull appearance) in the beverages, making them more sensorially acceptable, mainly polydextrose.

Polysaccharides can alter the food product and promoting changes, mainly, in its rheological properties. This change causes water retention and gel formation, causing thickening of the food matrix. The viscosity of the food has a relevant correlation with flavour perception characteristics (Lu et al., 2019). Furthermore, the interaction between polyphenols and polysaccharides influences the formation of different microstructures, which alter the physical-chemical properties of the food and, therefore, affect the sensory, nutritional and functional characteristics of the final product (Xue et al., 2024).

Fig. 3. Generalized Procrustes Analysis biplot (GPA) maps of cladode nopal beverages. (A) F1 x F2 and (B) F3 x F4.

3.6 Principal component analysis (PCA) of the main nopal beverage variables

The map demonstrated that the BC and BPU presented similar characteristics and were characterized by higher ascorbic acid, phenolic compound, and glucose concentrations, as well as inhibition of the α -glucosidase enzyme and antioxidant activity by FRAP. However, the BC presented different characteristics and higher organic acid compound concentrations, a characteristic which made it similar to the BU (Fig. 4).

Fig. 4. Principal component analysis (PCA-biplot) based on principle component analysis of the main nopal cladode beverage variables.

4. Conclusion

Beverages from the *Opuntia dillenii* cladode presented a varied nutritional profile, rich in fibre and bioactive compounds, such as phenolic compounds and ascorbic acid. The addition of prebiotics increased total fibre concentrations. The BPU stood out for promoting a protective effect and increasing the stability of bioactive compounds such as ascorbic acid and phenolic compounds during its shelf life, in addition to better antioxidant activity using the FRAP method, while the BFU showed greater bioaccessibility of phenolic compounds. . The addition of polydextrose reduced inhibition of α -amylase enzyme activity, while the addition of fructo-oligosaccharides in nopal beverage reduced inhibition of the α -glucosidase enzyme. Furthermore, the sensory analysis results demonstrated that the ultrasonic treatment intensified the desirable sensory characteristics of the beverage, and that the addition of prebiotics reduced the intensity of the undesirable sensory characteristics in the beverages, showing positive effects promoted by the ultrasonic treatment and addition of prebiotics. These findings suggest that adding prebiotics, mainly fructo-oligosaccharides (BFU) and polydextrose (BPU), to beverages may maintain functionality and increase the acceptability of these products during storage.

CRedit authorship contribution statement

J.M.D.A. and JSA: Conceptualization; Methodology; Visualization; Validation and Investigation. J.M.D.A and JSA: Writing- Original draft preparation; J.M.D.A., M.M.,

W.K.A.C., C.E.B., M.S.L., M.E.G.O., T.C.P. and A.M.T.M.C: Data curation; Formal analysis. A.M.T.M.C: Resources and Supervision. JSA: Funding acquisition; Project administration; Supervision; Writing- Reviewing and Editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to the *Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba* - FAPESQ (grant number 3104/2021) for financial support. They would also like to thank the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* – CAPES (grant number 001) for awarding a scholarship to J.M.D.A and H.C.C, to the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* – CNPq (grant number 312620/2021-7 and 404096/2021-2). The authors thank Christopher Quinn of English Consulting Brazil (ECB) for the English revision.

Funding

This work was funded by the *Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado da Paraíba* - FAPESQ (grant number 3104/2021), by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* – CAPES (grant number 001), and by the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* – CNPq (grant number 312620/2021-7 and 404096/2021-2).

5. References

Abdelkader Saidi, S., Al-Shaikh, T. M., & Hamden, K. (2023). Evaluation of Gastroprotective Effect of Betalain-Rich Ethanol Extract from *Opuntia stricta* var. *Dillenii* Employing an In Vivo Rat Model. *Journal of Food Quality*, 2023. <https://doi.org/10.1155/2023/2215454>

Albuquerque, J. G., Escalona-Buendía, H. B., de Magalhães Cordeiro, A. M. T., dos Santos Lima, M., de Souza Aquino, J., & da Silva Vasconcelos, M. A. (2021). Ultrasound treatment for improving the bioactive compounds and quality properties of a Brazilian nopal (*Opuntia ficus-indica*) beverage during storage. *LWT*, 149, 111814. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111814>

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (2019). *Foods with functional property claims and/or health: List of approved functional property claims*. Retrieved from https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-de-produtos-origem-vegetal/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedad-e-funcional-aprovadas_anvisa.pdf. Accessed January 18, 2024.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (1995). *Official Methods of Analysis of the AOAC International, 16th Edition*. Arlington, USA, (16th ed.)

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS (2000). *Official Methods of Analysis of the AOAC International*, Gaithersburg, Maryland, USA (17th ed.)

Ayyash, M., Al-Nuaimi, A. K., Al-Mahadin, S., & Liu, S. Q. (2018). In vitro investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk. *Food chemistry*, 239, 588-597. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.149>

Bakar, B., Çakmak, M., Ibrahim, M. S., Özer, D., Saydam, S., & Karatas, F. (2020). Investigation of amounts of vitamins, lycopene, and elements in the fruits of *Opuntia ficus-indica* subjected to different pretreatments. *Biological Trace Element Research*, 198, 315-323. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02050-w>

Barba, F. J., Garcia, C., Fessard, A., Munekata, P. E., Lorenzo, J. M., Aboudia, A., Ouadia, A., & Remize, F. (2022). *Opuntia ficus indica* edible parts: A food and nutritional security perspective. *Food Reviews International*, 38(5), 930-952. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1756844>

Bassama, J., Tamba, A., Ndong, M., Sarr, K. D. D., & Cissé, M. (2020). Degradation kinetics of betacyanins during the pasteurization and storage of cactus pear (*Opuntia dillenii* haw.) juice using the arrhenius, eyring, and ball models. *Beverages*, 7(1), 2. <https://doi.org/10.3390/beverages7010002>

Ben Lataief, S., Zourgui, M. N., Rahmani, R., Najjaa, H., Gharsallah, N., & Zourgui, L. (2021). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of bioactive compounds extracted from *Opuntia dillenii* cladodes. *Journal of Food*

Measurement and Characterization, 15, 782-794.
<https://doi.org/10.1007/s11694-020-00671-2>

Bouhrim, M., Ouassou, H., Boutahiri, S., Daoudi, N. E., Mechchate, H., Gressier, B., ... & Bnouham, M. (2021). *Opuntia dillenii* (Ker Gawl.) Haw., seeds oil antidiabetic potential using in vivo, in vitro, in situ, and ex vivo approaches to reveal its underlying mechanism of action. *Molecules*, 26(6), 1677.
<https://doi.org/10.3390/molecules26061677>

Chavan, A. R., Singh, A. K., Gupta, R. K., Nakhate, S. P., Poddar, B. J., Gujar, V. V., Purohit, H. J., Khardenavis, A. A. (2023). Recent trends in the biotechnology of functional non-digestible oligosaccharides with prebiotic potential. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1-46. <https://doi.org/10.1080/02648725.2022.2152627>

Costa, M. F., Pimentel, T. C., Guimaraes, J. T., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Cavalcanti, R. N., ... & Cruz, A. G. (2019). Impact of prebiotics on the rheological characteristics and volatile compounds of Greek yogurt. *LWT*, 105, 371-376.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.007>

de Carvalho Correa, A., Lopes, M. S., Perna, R. F., & Silva, E. K. (2024). Fructan-type prebiotic dietary fibers: Clinical studies reporting health impacts and recent advances in their technological application in bakery, dairy, meat products and beverages. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121396. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121396>

Ennouri, M., Ennouri, K., Ben Hassen, H., Triki, M. A., & Smaoui, S. (2023). Drinkable beverage based on whey and *Opuntia stricta* (var. *dillenii*) juice derived from underexploited biowaste: from process development to characterization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04188-8>

Fernandes, L. M., Guimarães, J. T., Pimentel, T. C., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Carvalho, C. W. P., ... & Silva, M. C. (2020). Edible whey protein films and coatings added with prebiotic ingredients. In *Agri-food industry strategies for healthy diets and sustainability* (pp. 177-193). *Academic Press*.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817226-1.00007-2>

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. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

González-Aguilar, G. A., Blancas-Benítez, F. J., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2017). Polyphenols associated with dietary fibers in plant foods: Molecular interactions and bioaccessibility. *Current Opinion in Food Science*, 13, 84-88.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.03.004>

Guo, Q., Ma, Q., Xue, Z., Gao, X., & Chen, H. (2018). Studies on the binding characteristics of three polysaccharides with different molecular weight and flavonoids from corn silk (*Maydis stigma*). *Carbohydrate Polymers*, 198, 581-588.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.06.120>

- Grygorczyk, A., Lesschaeve, I., Corredig, M., & Duizer, L. (2013). Extraction of consumer texture preferences for yogurt: Comparison of the preferred attribute elicitation method to conventional profiling. *Food Quality and Preference*, 27(2), 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.02.017>
- Hwang, S. H., Kang, I. J., & Lim, S. S. (2017). Antidiabetic effect of fresh nopal (*Opuntia ficus-indica*) in low-dose streptozotocin-induced diabetic rats fed a high-fat diet. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4380721>
- Jakobek, L. (2015). Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food chemistry*, 175, 556-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.013>
- Jakobek, L., & Matic, P. (2019). Non-covalent dietary fibre-polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 235-247. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.024>
- Kalsi, B. S., Singh, S., & Alam, M. S. (2023). Influence of ultrasound processing on the quality of guava juice. *Journal of Food Process Engineering*, 46(6), e14163. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14163>
- Koh, J., Xu, Z., & Wicker, L. (2020). Blueberry pectin and increased anthocyanins stability under in vitro digestion. *Food Chemistry*, 302, 125343. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125343>
- Kuck, L. S., & Noreña, C. P. Z. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food chemistry*, 194, 569-576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.066>
- Kuhn, F., de Azevedo, E. S., & Noreña, C. P. Z. (2020). Behavior of inulin, polydextrose, and egg albumin as carriers of *Bougainvillea glabra* bracts extract: Rheological performance and powder characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(10), e14834.
- Lago, C. C., & Noreña, C. P. Z. (2016). Polydextrose as wall material for microencapsulation of yacon juice by spray drying. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 2103-2113. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1797-8>
- Li, M., Guo, Q., Lin, Y., Bao, H., & Miao, S. (2023). Recent Progress in Microencapsulation of Active Peptides—Wall Material, Preparation, and Application: A Review. *Foods*, 12(4), 896. <https://doi.org/10.3390/foods12040896>
- Liu, R., Chu, F. X., Yan, Z., & Chen, H. Q. (2023). Structural characterization of three acidic polysaccharides from *Opuntia dillenii* Haw. fruits and their protective effect against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in Huh-7 cells. *Food Science and Human Wellness*. <https://doi.org/10.26599/FSHW.2022.9250160>
- Loukili, E. H., Bouchal, B., Bouhrim, M., Abrigach, F., Genva, M., Zidi, K., Bnouham,

M., Bellaoui, M., Hammouti, B., Addi, M., Ramdani, M., & Fauconnier, M. L. (2022). Chemical composition, antibacterial, antifungal and antidiabetic activities of ethanolic extracts of *Opuntia dillenii* fruits collected from Morocco. *Journal of Food Quality*, 2022, 1-15. <https://doi.org/10.1155/2022/9471239>

Lu, W. C., Chiu, C. S., Chan, Y. J., Mulio, A. T., & Li, P. H. (2023). Recent Research on Different Parts and Extracts of *Opuntia dillenii* and Its Bioactive Components, Functional Properties, and Applications. *Nutrients*, 15(13), 2962. <https://doi.org/10.3390/nu15132962>

Lu, W. C., Chiu, C. S., Chan, Y. J., Mulio, A. T., & Li, P. H. (2023). Recent Research on Different Parts and Extracts of *Opuntia dillenii* and Its Bioactive Components, Functional Properties, and Applications. *Nutrients*, 15(13), 2962. <https://doi.org/10.3390/nu15132962>

Marcillo-Parra, V., Tupuna-Yerovi, D. S., González, Z., & Ruales, J. (2021). Encapsulation of bioactive compounds from fruit and vegetable by-products for food application—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.009>

Martins, M., Ribeiro, M. H., & Almeida, C. M. (2023). Physicochemical, Nutritional, and Medicinal Properties of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and Its Main Agro-Industrial Use: A Review. *Plants*, 12(7), 1512. <https://doi.org/10.3390/plants12071512>

Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>

Minekus, M., Almingier, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., F. Carrière, R., Boutrou, M., Corredig, D., Dupont, C., Dufour, L., Egger, M., Golding, S., Karakaya, B., Kirkhus, S., Le Feunteun, U., Lesmes, A., Macierzanka, A., Mackie, S., Marze, D. J., McClements, O., Ménard, I., Recio, C. N., Santos, R. P., Singh, G. E., Vegarud, M. S. J., Wickham, W., Weitschies, A., & Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus. *Food & function*, 5(6), 1113-1124. <https://doi.org/10.1039/C3FO60702J>

Miranda, R. F., da Silva, J. P., Machado, A. R. F., da Silva, E. C., de Souza, R. C., Marcolino, V. A., Klososki, S. J., Pimentel, T. C., & Barão, C. E. (2019). Impact of the addition of *Lactobacillus casei* and oligofructose on the quality parameters of orange juice and hibiscus tea mixed beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), e14249. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14249>

Missaoui, M., D'Antuono, I., D'Imperio, M., Linsalata, V., Boukhchina, S., Logrieco, A. F., & Cardinali, A. (2020). Characterization of micronutrients, bioaccessibility and antioxidant activity of prickly pear cladodes as functional ingredient. *Molecules*, 25(9), 2176. <https://doi.org/10.3390/molecules25092176>

Mohd Basri, M. S., Abdul Karim Shah, N. N., Sulaiman, A., Mohamed Amin Tawakkal, I. S., Mohd Nor, M. Z., Ariffin, S. H., Ghani, N. H. A & Mohd Salleh, F. S. (2021).

Progress in the valorization of fruit and vegetable wastes: Active packaging, biocomposites, by-products, and innovative technologies used for bioactive compound extraction. *Polymers*, 13(20), 3503. <https://doi.org/10.3390/polym13203503>

Neri-Numa, I. A., Arruda, H. S., Geraldi, M. V., Júnior, M. R. M., & Pastore, G. M. (2020). Natural prebiotic carbohydrates, carotenoids and flavonoids as ingredients in food systems. *Current Opinion in Food Science*, 33, 98-107. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.004>

Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food chemistry*, 233, 96-100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.114>

Padilha, C. V. da S., Miskinis, G. A., de Souza, M. E. A. O., Pereira, G. E., de Oliveira, D., Bordignon-Luiz, M. T., & Lima, M. dos S. (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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.137>

Pan, Y., Chen, L., Pang, L., Chen, X., Jia, X., & Li, X. (2020). Ultrasound treatment inhibits browning and improves antioxidant capacity of fresh-cut sweet potato during cold storage. *Rsc Advances*, 10(16), 9193-9202. <https://doi.org/10.1039/C9RA06418D>

Pereira, G. S., Honorio, A. R., Gasparetto, B. R., Lopes, C. M., Lima, D. C. D., & Tribst, A. A. (2019). Influence of information received by the consumer on the sensory perception of processed orange juice. *Journal of sensory studies*, 34(3), e12497. <https://doi.org/10.1111/joss.12497>

Pérez, P., Hashemi, S., Cano-Lamadrid, M., Martínez-Zamora, L., Gómez, P. A., & Artés-Hernández, F. (2023). Effect of Ultrasound and High Hydrostatic Pressure Processing on Quality and Bioactive Compounds during the Shelf Life of a Broccoli and Carrot By-Products Beverage. *Foods*, 12(20), 3808. <https://doi.org/10.3390/foods12203808>

Rasane, P., Singh, J., Kaur, S., Bakshi, M., Gunjal, M., Kaur, J., Sachan, S., Singh, A., Bhadariya, V., & Mahato, D. K. (2023). Strategic Advances in the Management of Browning in Fruits and Vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, 1-26. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03128-84>

Renard, C. M., Watrelot, A. A., & Le Bourvellec, C. (2017). Interactions between polyphenols and polysaccharides: Mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends in Food Science & Technology*, 60, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.022>

Rocchetti, G., Gregorio, R. P., Lorenzo, J. M., Barba, F. J., Oliveira, P. G., Prieto, M. A., Simal-Gandara, J., Mosele, J. I., Motilva, M. J., Tomas, M., Patrone, V., Capanoglu, E., & Lucini, L. (2022). Functional implications of bound phenolic compounds and phenolics–food interaction: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 21(2), 811-842. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12921>

Rojas, M. L., Kubo, M. T., Miano, A. C., & Augusto, P. E. (2022). Ultrasound processing to enhance the functionality of plant-based beverages and proteins. *Current Opinion in Food Science*, 48, 100939. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100939>

Rufino, M. D. S. M., ALVES, R. E., De Brito, E. S., De Moraes, S. M., Sampaio, C. D. G., Pérez-Jiménez, J., & Saura-calixto, F. D. (2006). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP).

Šamec, D., Karalija, E., Šola, I., Vujčić Bok, V., & Salopek-Sondi, B. (2021). The role of polyphenols in abiotic stress response: The influence of molecular structure. *Plants*, 10(1), 118. <https://doi.org/10.3390/plants10010118>

Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, 373, 131487. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487>

Sharma, T., Kaur, P., Saini, R., Dhiman, A., Kumar, S., Sharma, A., & Sharma, R. (2023). Emerging Innovative Processing Technologies for Quality Preservation of Carrot and By-Products: A Review Focused on Therapeutic Benefits and Functional Approach. *Food and Bioprocess Technology*, 1-30. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03236-5>

Shirazinia, R., Rahimi, V. B., Kehkhaie, A. R., Sahebkar, A., Rakhshandeh, H., & Askari, V. R. (2019). *Opuntia dillenii*: A forgotten plant with promising pharmacological properties. *Journal of pharmacopuncture*, 22(1), 16. <https://doi.org/10.3831/KPI.2019.22.002>

Silva, E. K., Arruda, H. S., Pastore, G. M., Meireles, M. A. A., & Saldana, M. D. (2020). Xylooligosaccharides chemical stability after high-intensity ultrasound processing of prebiotic orange juice. *Ultrasonics sonochemistry*, 63, 104942. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104942>

Silva, J. M., Barão, C. E., Esmerino, E. A., Cruz, A. G., & Pimentel, T. C. (2021). Prebiotic frozen dessert processed with water-soluble extract of rice byproduct: Vegan and nonvegan consumers perception using preferred attribute elicitation methodology and acceptance. *Journal of Food Science*, 86(2), 523-530. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15566>

Strieder, M. M., Arruda, H. S., Pastore, G. M., & Silva, E. K. (2023). Inulin-type dietary fibre stability after combined thermal, mechanical, and chemical stresses related to ultrasound processing of prebiotic apple beverage. *Food Hydrocolloids*, 139, 108489. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108489>

Taheur, F. B., Chahbani, A., Mansour, C., Mokni, A., Amira, A. B., Jridi, M., Fakhfakh, N., & Zouari, N. (2023). Functional properties of a kefir-based probiotic dairy product enriched with red prickly pear (*Opuntia dillenii*) powder. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(6), 6522-6535. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02136-8>

Wang, J., Rani, N., Jakhar, S., Redhu, R., Kumar, S., Kumar, S., Kumar, S., Devi, B., Simal-Gandara, J., Shen, B., & Singla, R. K. (2023). *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.-anticancer properties and phytochemicals: current trends and future perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1236123>

Xue, H., Du, X., Fang, S., Gao, H., Xie, K., Wang, Y., & Tan, J. (2024). The interaction of polyphenols-polysaccharides and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134594. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134594>

Zeghibib, W., Boudjouan, F., Vasconcelos, V., & Lopes, G. (2022). Phenolic compounds' occurrence in opuntia species and their role in the inflammatory process: A review. *Molecules*, 27(15), 4763. <https://doi.org/10.3390/molecules27154763>

Figure Captions

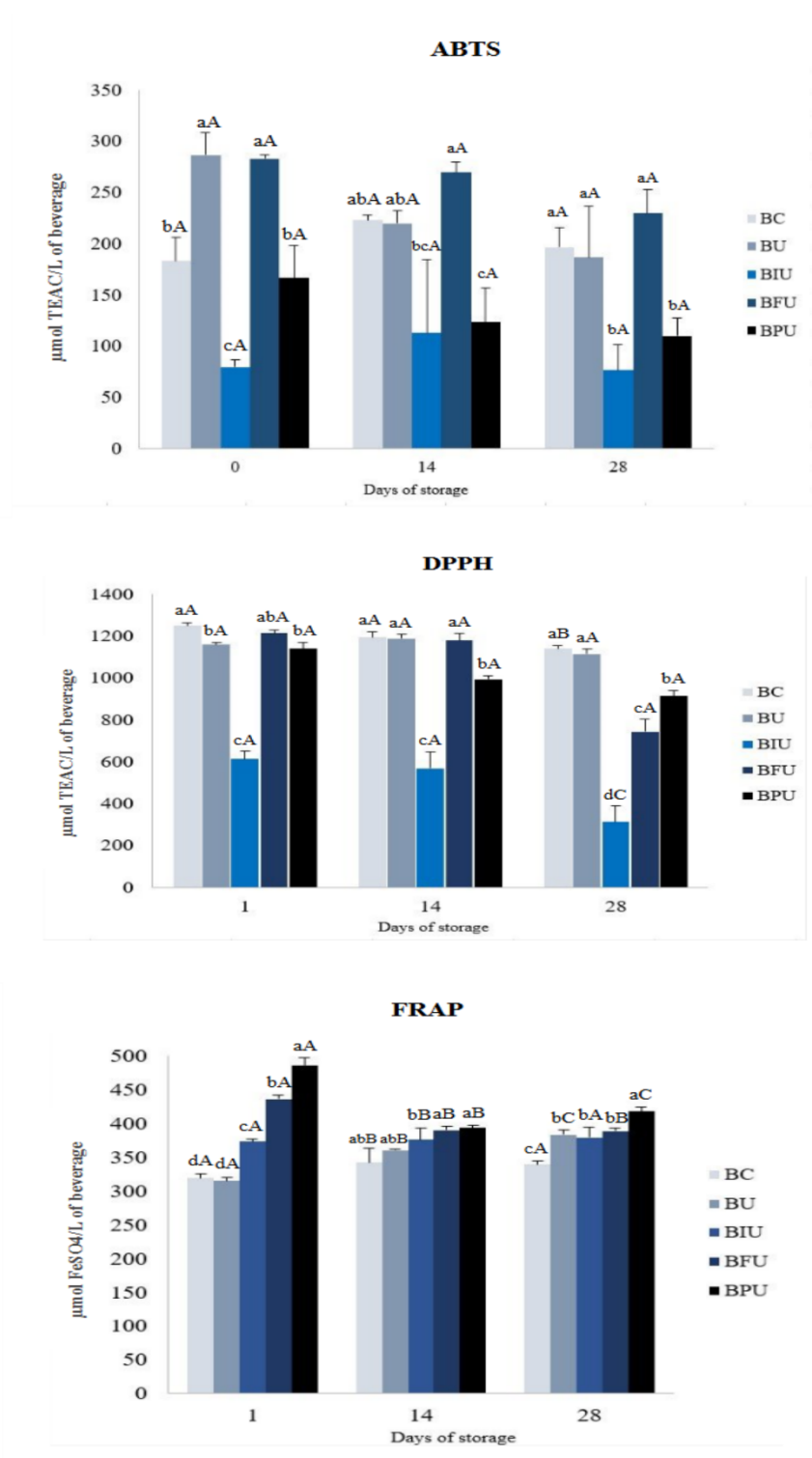


Fig. 1. Antioxidant activity by ABTS (A), DPPH (B) and FRAP (C) methods of nopal cladode beverages. The data are expressed as mean and stand deviation; a,b,c,d

Different letters indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$); A,B,C
Different letters indicate significant differences among time of storage ($p \leq 0.05$). (BC
= nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU=
nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU=
nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU= nopal-based
beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU=
nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose.

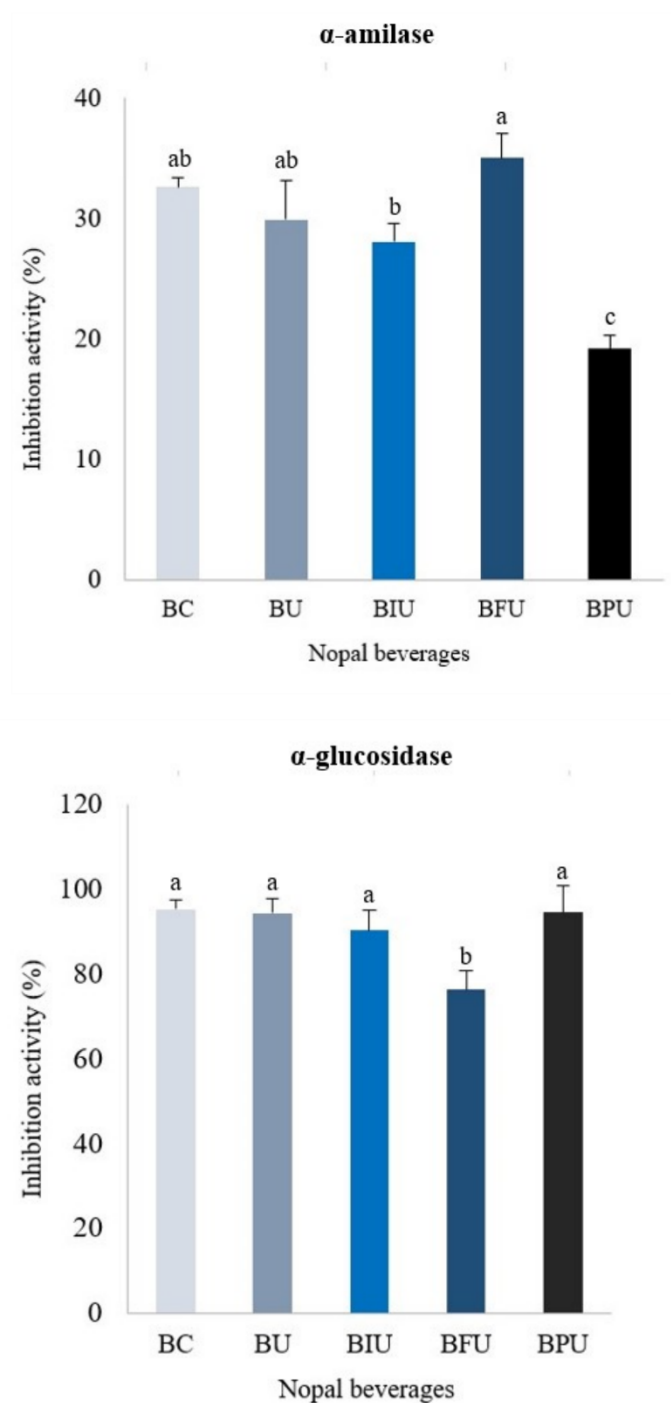


Fig. 2. Inhibition of α -amylase (A) and α -glucosidase (B) enzymatic activity of nopal cladode beverages. The data are expressed as mean and stand deviation; a,b,c,d Different letters indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based

beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose.

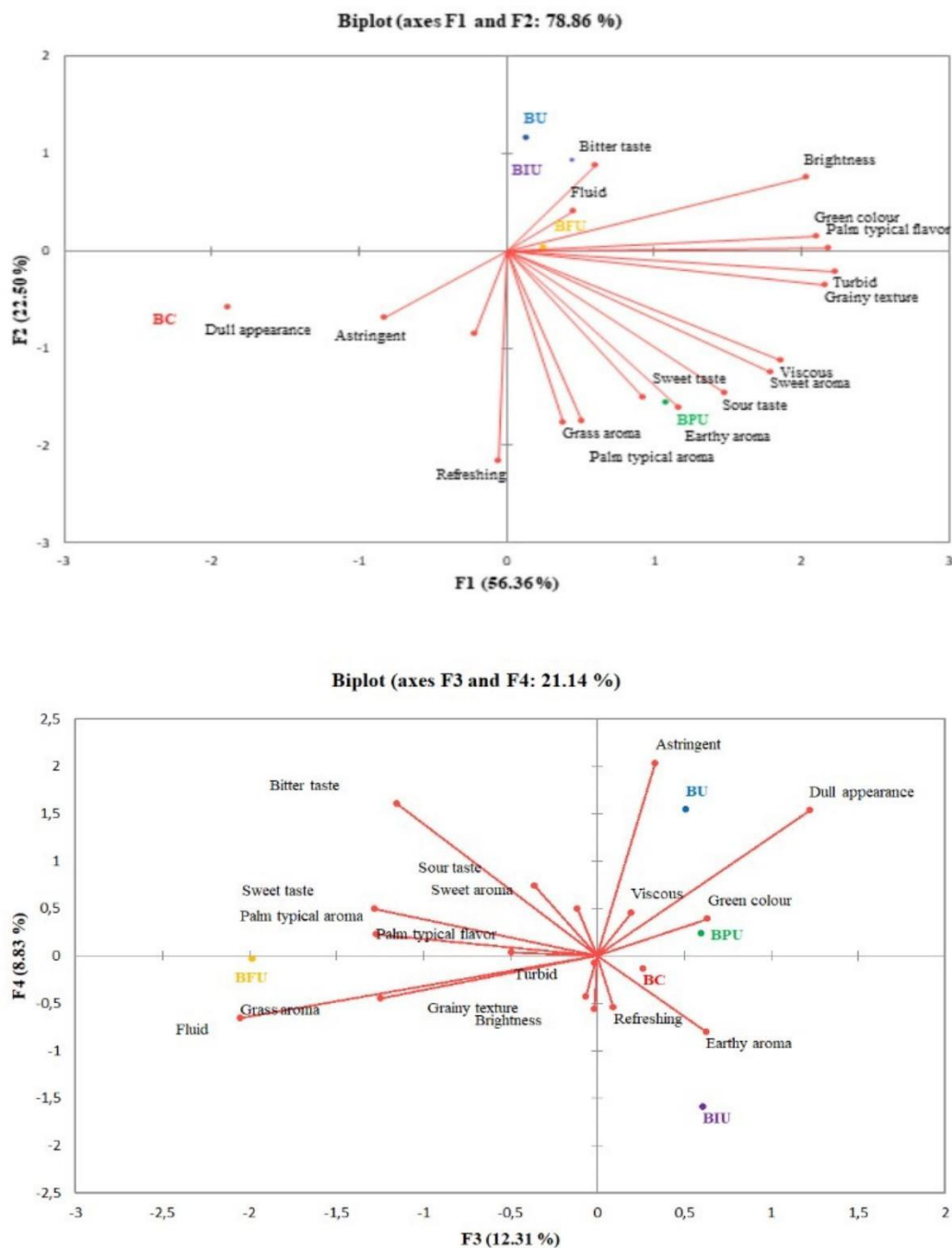


Fig. 3. Generalized Procrustes Analysis biplot (GPA) maps of cladode nopal beverages. (A) F1 x F2 and (B) F3 x F4. BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment

and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose.

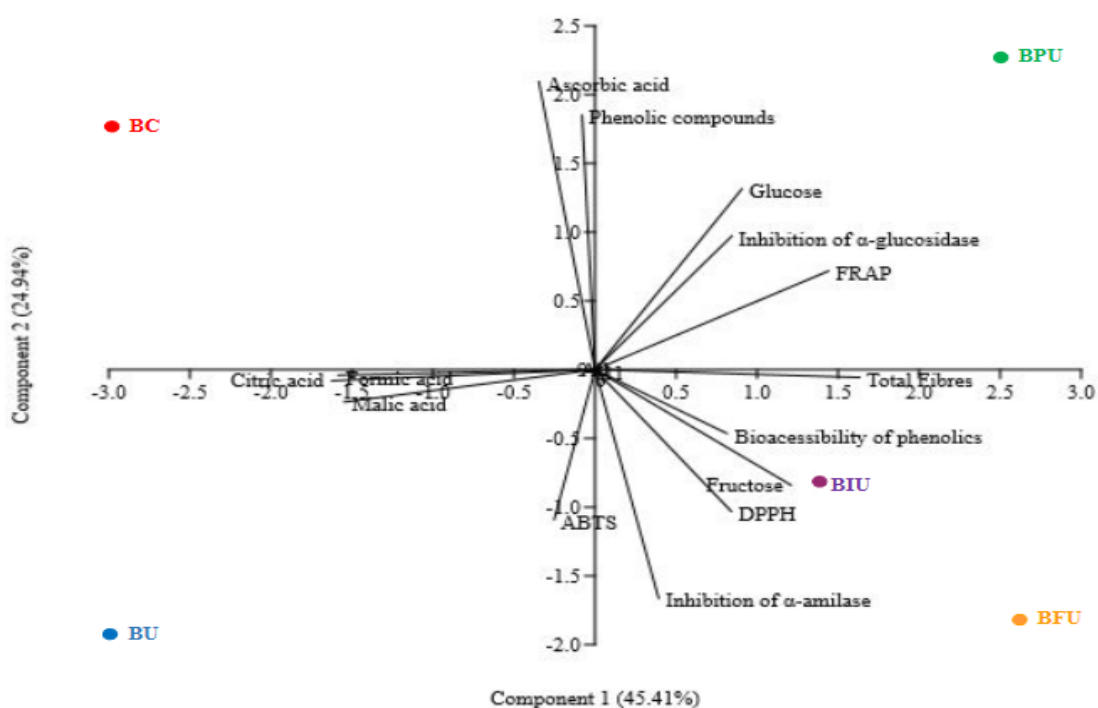


Fig. 4. Principal component analysis (PCA-biplot) based on principle component analysis of the main nopal cladode beverage variables. BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose.

Tables.

Table 1. pH, titratable acidity and colour of nopal cladode beverages.

Parameter	Days of storage	Nopal beverages				
		BC	BU	BIU	BFU	BPU
pH	1	4.40±0.01 ^{aA}	4.44±0.02 ^{aA}	4.41±0.00 ^{aA}	4.42±0.01 ^{aA}	4.43±0.00 ^{aA}
	14	4.37±0.00 ^{aB}	4.34±0.02 ^{aA}	4.36±0.01 ^{aB}	4.35±0.01 ^{aB}	4.34±0.00 ^{aB}
	28	4.35±0.01 ^{aB}	4.33±0.00 ^{aB}	4.32±0.01 ^{aC}	4.34±0.01 ^{aB}	4.32±0.00 ^{aC}
Titratable acidity	1	199.07±0.02 ^a	199.54±0.07 ^a	199.58±0.02 ^a	199.49±0.10 ^a	199.58±0.04 ^a
	14	229.38±0.03 ^{aB}	229.29±0.04 ^{aB}	229.92±0.06 ^{aB}	229.54±0.02 ^a	229.12±0.08 ^a
	28	249.33±0.02 ^{aC}	249.18±0.04 ^{aC}	249.47±0.06 ^{aC}	249.48±0.02 ^a	249.75±0.01 ^a
Colour parameters						
L*	1	19.18	19.70	20.92	19.03	17.37
	14	18.38	18.15	18.79	19.02	17.30
	28	16.80	17.16	16.37	18.07	15.93
a*	1	-2.67	-2.52	-2.37	-2.55	-2.44
	14	-2.81	-2.32	-2.29	-1.98	-1.56
	28	-1.90	-2.16	-2.21	-1.62	-1.34
b*	1	5.72	6.16	7.02	6.50	6.89
	14	6.72	6.21	6.29	5.77	5.22
	28	7.56	6.77	5.72	5.49	5.17

The data are expressed as mean and stand deviation.; a,b,c,d Different letters in the same line indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$); A, B, C Different letters in the same line column indicate significant differences among time of storage ($p \leq 0.05$). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose).

Table 2. Organic acid and sugar concentrations of nopal cladode beverages.

Days of storage		Nopal beverages				
		BC	BU	BIU	BFU	BPU
Organic acids (mmol/100mL)						
Citric	1	1.94±0.14 ^{aA}	1.97±0.03 ^{aA}	1.22±0.04 ^{bA}	1.05±0.09 ^{cA}	1.16±0.08 ^{cA}
	14	1.82±0.01 ^{aA}	1.98±0.13 ^{aA}	1.35±0.21 ^{bA}	1.04±0.09 ^{cA}	1.06±0.14 ^{cA}
	28	1.31±0.14 ^{aB}	1.27±0.07 ^{aB}	0.70±0.04 ^{cB}	0.73±0.04 ^{cB}	0.89±0.04 ^{bB}
Formic	1	0.71±0.14 ^{aA}	0.73±0.13 ^{aA}	0.59±0.01 ^{aA}	0.58±0.01 ^{aA}	0.61±0.01 ^{aA}
	14	2.92±0.08 ^{aB}	5.43±0.86 ^{bB}	5.63±0.15 ^{bB}	1.40±0.24 ^{cA}	0.87±0.43 ^{dA}
	28	1.98±0.47 ^{aC}	2.98±0.01 ^{abC}	4.20±1.72 ^{bcB}	3.77±1.28 ^{abB}	6.01±0.51 ^{cB}
Malic	1	8.04±0.61 ^{aA}	8.17±0.10 ^{aA}	5.52±0.16 ^{bA}	5.74±0.47 ^{bA}	5.20±0.54 ^{bA}
	14	7.50±0.27 ^{aA}	8.06±0.75 ^{aA}	5.09±0.33 ^{bcA}	5.67±0.60 ^{bA}	5.18±0.55 ^{cA}
	28	6.20±0.58 ^{aB}	6.33±0.25 ^{aB}	3.77±1.13 ^{bB}	5.44±0.29 ^{aA}	5.01±0.32 ^{aB}
Sugars (mmol/100 mL)						
Glucose	1	3.26±0.35 ^{cA}	<LOD	12.96±0.47 ^{bA}	2.46±1.04 ^d	43.02±4.78 ^{aA}
	14	0.25±0.04 ^{cB}	<LOD	10.11±2.16 ^{bB}	<LOD	20.71±0.34 ^{aB}
	28	<LOD	<LOD	0.56±0.23 ^{bc}	<LOD	1.09±0.01 ^{aC}
Fructose	1	12.18±0.15 ^{dA}	12.55±0.38 ^{dA}	20.56±1.05 ^{bA}	56.37±1.24 ^{aA}	18.90±0.54 ^{cA}
	14	9.56±0.04 ^{cB}	8.80±0.25 ^{cB}	19.19±0.37 ^{bB}	54.95±5.58 ^{aA}	7.97±0.04 ^{cB}
	28	8.94±0.10 ^{cC}	<LOD	15.76±0.16 ^{bc}	51.96±7.95 ^{aA}	<LOD

The data are expressed as mean and stand deviation.; a,b,c,d Different letters in the same line indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$); A,B,C Different letters in the same line column indicate significant differences among time of storage ($p \leq 0.05$)). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose). Abbreviation: <LOD: below the limit of detection.

Table 3. Profile and bioaccessibility of phenolic compounds of nopal cladode beverages.

Phenolic compounds	Total Concentration	Bioaccessible fraction	Bioaccessibility
	mg/100 mL	mg/100 mL	(%)
BC			
Flavanol			
Catechin	5.22±0.24	<LOD	0.00
Epicatechin	3.38±0.29	<LOD	0.00
Epigallocatechin gallate	0.96±0.16	0.55±0.03	57.29
Procyanidin A2	7.28±0.46	<LOD	0.00
Procyanidin B1	2.59±0.19	3.05±0.15	117.76
Procyanidin B2	5.71±0.26	5.18± 0.13	90.71
Epicatechin gallate	<LOD	<LOD	0.00
Flavanone			
Hesperidin	41.32±5.48	<LOD	0.00
Flavanols			
Kaempferol-3-glucoside	7.69±1.10	1.33±0.17	17.29
Myricetin	3.32±0.07	<LOD	0.00
Quercetin-3-glucoside	1.90±0.15	1.82±0.07	97.78
Rutin	2.02±0.20	<LOD	0.00
Isorhamnetin	104.29±6.35	7.56±1.47	7.25
Total of flavonoids	185.69±14.13	19.49±1.93	
Hydroxybenzoic acids			
Gallic acid	10.77±0.19	<LOD	0.00
Hydroxycinnamic acids			
Caffeic acid	0.22±0.02	<LOD	0.00
Caftaric acid	13.91±0.76	<LOD	0.00
Chlorogenic acid	<LOD	<LOD	0.00
Stilbenes			
Cis-resveratrol	2.86±0.22	<LOD	0.00
Trans-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Total of non-flavonoids	27.76±1.16	<LOD	
Total of phenolic compounds	213.45±15.29	19.49±1.93	
Phenolic compounds	Total Concentration	Bioaccessible fraction	Bioaccessibility
	mg/100 mL	mg/100 mL	(%)
BU			
Flavanol			
Catechin	5.08±0.21	<LOD	0.00
Epicatechin	3.42±0.06	<LOD	0.00
Epigallocatechin gallate	1.06±0.02	1.11±0.08	104.72

Procyanidin A2	7.55±0.08	<LOD	0.00
Procyanidin B1	2.31±0.02	<LOD	0.00
Procyanidin B2	5.62±0.01	5.44±0.08	96.80
Epicatechin gallate	<LOD	<LOD	0.00
Flavanone			
Hesperidin	37.00±0.82	<LOD	0.00
Flavanols			
Kaempferol-3-glucoside	7.93±0.26	0.32±0.02	4.03
Myricetin	3.17±0.36	<LOD	0.00
Quercetin-3-glucoside	1.90±0.12	<LOD	0.00
Rutin	2.11±0.08	<LOD	0.00
Isorhamnetin	77.02±3.59	5.40±0.12	7.01
Total of flavonoids	154.18±3.42	12.27±0.10	
Hydroxybenzoic acids			
Gallic acid	7.06±0.17	<LOD	0.00
Hydroxycinnamic acids			
Caffeic acid	1.15±0.06		
Caftaric acid	13.53±0.02	<LOD	0.00
Chlorogenic acid	<LOD	<LOD	0.00
Stilbenes			
Cis-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Trans-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Total of non-flavonoids	21.75±0.98	<LOD	
Total of phenolic compounds	175.92±4.41	12.27±0.10	

Phenolic compounds	Total Concentration	Bioaccessible fraction	Bioaccessibility
	mg/100 mL	mg/100 mL	(%)
BIU			
Flavanol			
Catechin	4.83±0.02	<LOD	0.00
Epicatechin	3.35±0.06	<LOD	0.00
Epigallocatechin gallate	1.05±0.05	0.97±0.21	86.66
Procyanidin A2	7.53±0.10	<LOD	0.00
Procyanidin B1	2.42±0.11	2.21±0.07	91.32
Procyanidin B2	6.88±0.42	5.17±0.04	75.14
Epicatechin gallate	<LOD	<LOD	0.00
Flavanone			
Hesperidin	31.73±1.30	<LOD	0.00
Flavanols			
Kaempferol-3-glucoside	7.95±0.79	0.35±0.01	2.78
Myricetin	3.46±0.14	<LOD	0.00
Quercetin-3-glucoside	<LOD	<LOD	0.00
Rutin	1.84±0.20	0.26±0.01	14.13
Isorhamnetin	59.74±7.02	5.21±0.01	8.72
Total of flavonoids	130.78±9.24	14.09±0.07	

Hydroxybenzoic acids			
Gallic acid	6.51±0.27	<LOD	0.00
Hydroxycinnamic acids			
Caftaric acid	12.35±0.21	<LOD	0.00
Chlorogenic acid	<LOD	<LOD	0.00
Stilbenes			
Cis-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Trans-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Total of non-flavonoids	19.98±0.13	<LOD	
Total of phenolic compounds	150.76±9.37	14.09±0.07	

Phenolic compounds	Total Concentration	Bioaccessible fraction	Bioaccessibility
	mg/100 mL	mg/100 mL	(%)
BFU			
Flavanol			
Epicatechin	5.13±0.25	<LOD	0.00
Epigallocatechin gallate	3.77±0.14	0.94±0.09	24.93
Procyanidin A2	7.62±0.07	<LOD	0.00
Procyanidin B1	2.23±0.04	2.37±0.03	106.27
Procyanidin B2	5.51±0.03	5.07±0.06	92.01
Epicatechin gallate	<LOD	<LOD	0.00
Flavanone			
Hesperidin	32.33±1.72	<LOD	0.00
Flavanols			
Kaempferol-3-glucoside	8.28±0.27	0.36±0.03	4.35
Myricetin	2.25±0.07	2.38±0.02	105.78
Quercetin-3-glucoside	1.82±0.01	1.82±0.03	100
Rutin	1.83±0.07	0.31±0.09	16.94
Isorhamnetin	66.09±5.00	8.75±0.43	13.24
Total of flavonoids	135.51±7.75	21.99±0.37	
Hydroxybenzoic acids			
Gallic acid	5.93±0.05	<LOD	0.00
Hydroxycinnamic acids			
Caftaric acid	13.57±1.07	<LOD	0.00
Chlorogenic acid	<LOD	<LOD	0.00
Stilbenes			
Cis-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Trans-resveratrol	<LOD	<LOD	0.00
Total of non-flavonoids	20.66±1.13	<LOD	
Total of phenolic compounds	158.17±6.62	21.99±0.37	

Phenolic compounds	Total Concentration	Bioaccessible fraction	Bioaccessibility
	mg/100 mL	mg/100 mL	(%)
BPU			

Flavanol			
Epicatechin	4.09±0.07	<LOD	0.00
Epigallocatechin gallate	3.91±0.20	0.67±0.01	17.14
Procyanidin A2	2.48±0.09	<LOD	0.00
Procyanidin B1	5.99±0.28	5.02±0.02	30.71
Procyanidin B2	4.06±0.19	1.00±0.05	83.81
Epicatechin gallate	0.39±0.01	<LOD	0.00
Flavanone			
Hesperidin	45.47±2.35	<LOD	0.00
Flavanols			
Kaempferol-3-glucoside	5.32±0.37	1.00±0.26	18.80
Myricetin	2.70±0.26	1.41±0.02	52.22
Quercetin-3-glucoside	2.51±0.05	<LOD	0.00
Rutin	2.95±0.05	<LOD	0.00
Isorhamnetin	106.10±6.02	11.10±0.28	8.58
Total of flavonoids	192.59±9.94	21.05±0.22	
Hydroxybenzoic acids			
Gallic acid	8.38±0.41	<LOD	0.00
Hydroxycinnamic acids			
Caffeic acid	1.17±0.09	<LOD	0.00
Caftaric acid	12.22±0.71	<LOD	0.00
Chlorogenic acid	3.38±0.54	<LOD	0.00
Stilbenes			
Cis-resveratrol	3.58±0.30	<LOD	0.00
Trans-resveratrol	1.19±0.04	<LOD	0.00
Total of non-flavonoids	29.90±0.93	<LOD	
Total of phenolic compounds	222.49±10.87	21.05±0.22	

The data are expressed as mean and stand deviation. (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU= nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose). Abbreviations: <LOD: below the limit of detection.

Table 4. Total phenolic compound concentrations and bioaccessibility of nopal cladode beverages.

Nopal beverage	Total concentration (mg/100 mL)	Bioaccessible fraction (mg/100 mL)	Bioaccessibility (%)
BC	213.45±15.29 ^a	19.49±1.93 ^b	9.13
BU	175.92±4.41 ^b	12.27±0.10 ^d	6.97
BIU	150.76±9.37 ^c	14.09±0.07 ^c	9.34
BFU	158.17±6.62 ^c	21.99±0.37 ^a	13.90
BPU	222.49±10.87 ^a	21.05±0.22 ^{ab}	9.46

The data are expressed as mean and stand deviation.; a,b,c,d Different letters in the same line indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose).

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Dietary fibres of nopal cladode beverages.

Dietary fibres	Nopal beverages				
	BC	BU	BIU	BFU	BPU
Total fibre	1.77±0.07 ^d	1.80±0.13 ^d	2.01±0.07 ^c	2.27±0.03 ^a	2.18±0.11 ^b
Insoluble fibre	0.26±0.03 ^b	0.27±0.14 ^b	0.31±0.07 ^a	0.31±0.09 ^a	0.34±0.07 ^a
Soluble fibre	1.51±0.03 ^d	1.53±0.05 ^d	1.70±0.04 ^c	1.96±0.04 ^a	1.85±0.07 ^b

The data are expressed as: mean±S.D.; a,b,c,d Different letters in the same line indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose).

Table S2. Chlorophyll and ascorbic acid concentration of nopal cladode beverages.

Bioactive compound	Days of storage	Nopal beverages				
		BC	BU	BIU	BFU	BPU
Chlorophyll a	1	9.04±0.01 ^{aA}	8.80±0.04 ^{aA}	9.19±0.01 ^{aA}	7.45±0.05 ^{bA}	6.17±0.05 ^{cA}
	14	6.35±0.02 ^{aB}	6.82±0.01 ^{aB}	6.10±0.00 ^{aB}	3.66±0.02 ^{cB}	5.16±0.02 ^{bB}
	28	4.76±0.01 ^{aC}	5.11±0.06 ^{aC}	5.18±0.02 ^{aC}	3.30±0.01 ^{bC}	3.62±0.04 ^{bC}
Chlorophyll b	1	4.91±0.07 ^{aA}	4.94±0.08 ^{aA}	4.95±0.02 ^{aA}	4.25±0.05 ^{bA}	3.48±0.02 ^{bA}
	14	2.60±0.08 ^{cB}	3.43±0.03 ^{bB}	5.40±0.03 ^{aB}	2.43±0.02 ^{cB}	2.79±0.04 ^{cB}
	28	3.08±0.06 ^{aC}	2.92±0.01 ^{aC}	2.80±0.02 ^{aC}	2.28±0.01 ^{bC}	2.61±0.04 ^{abC}
Total Chlorophyll	1	13.91±0.07 ^{aA}	13.69±0.09 ^{aA}	14.14±0.06 ^{aA}	11.74±0.07 ^{bA}	9.64±0.07 ^{cA}
	14	8.95±0.08 ^{cB}	10.25±0.03 ^{bB}	11.50±0.02 ^{aB}	6.09±0.01 ^{eB}	7.94±0.03 ^{dB}
	28	7.69±0.06 ^{aC}	8.01±0.05 ^{aC}	8.07±0.07 ^{aC}	5.57±0.03 ^{cC}	6.23±0.03 ^{bC}
Ascorbic acid	1	191.84±0.02 ^{aA}	175.01±0.07 ^{bA}	174.88±0.03 ^{bA}	175.43±0.07 ^{bA}	190.14±0.03 ^{aA}
	14	170.81±0.02 ^{aB}	155.95±0.01 ^{bB}	155.69±0.02 ^{bB}	155.58±0.08 ^{bB}	170.66±0.09 ^{aB}
	28	139.85±0.07 ^{bC}	132.43±0.08 ^{cC}	140.18±0.04 ^{bC}	139.69±0.10 ^{bC}	155.86±0.08 ^{aC}

The data are expressed as: mean±S.D.; a,b,c,d Different letters in the same line indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$); A,B,C Different letters in the same line column indicate significant differences among time of storage ($p \leq 0.05$). (BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose).

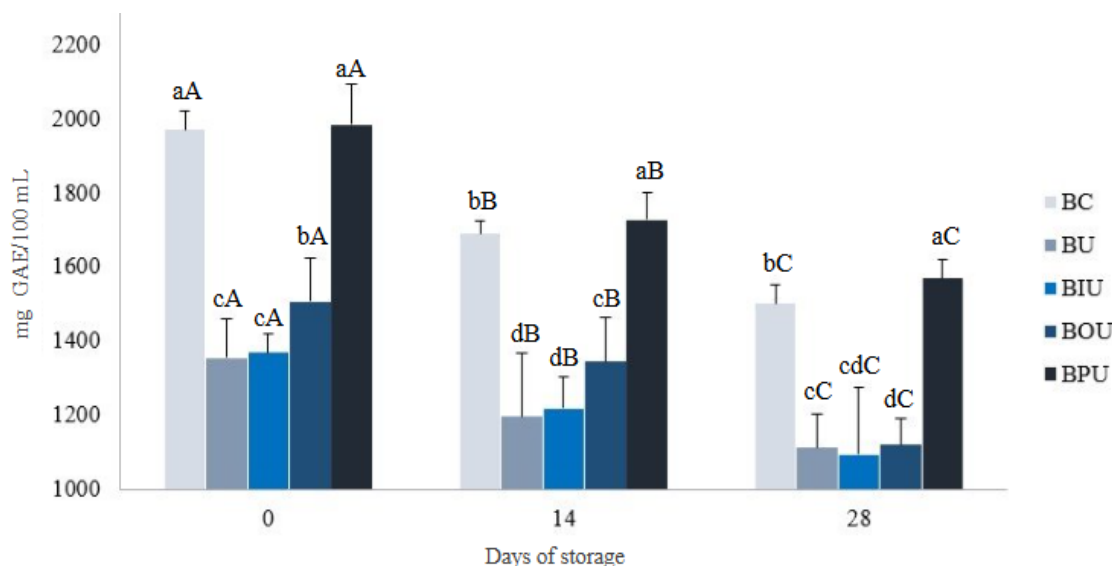


Fig. S1. Total phenolic compounds of nopal cladode beverages. The data are expressed as mean and stand deviation; a,b,c,d Different letters indicate significant differences among beverages ($p \leq 0.05$); A,B,C Different letters indicate significant differences among time of storage ($p \leq 0.05$). BC = Control nopal-based beverage without ultrasound treatment and prebiotic addition; BU = nopal-based beverage with ultrasound treatment and no added prebiotic; BIU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Inulin; BFU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Fructo-oligosaccharides; BPU = nopal-based beverage with ultrasound treatment with added Polydextrose.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TECLE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TECLE

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa está sendo desenvolvida no Programa de pós-graduação em Ciências e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Paraíba, pela discente Januse Millia Dantas de Araújo, sob a orientação da Profª Drª Jailane de Souza Aquino, professora Associada II do Departamento de Nutrição (UFPB).

O objetivo do estudo é elaborar uma bebida à base de cladódios de palma adicionada de prebióticos tratada com ultrassom e avaliar a bioacessibilidade e a bioatividade deste produto, bem como os compostos bioativos presentes e os parâmetros microbiológicos, reológicos, físico-químicos e sensoriais. O presente trabalho trará benefícios a população em geral, com a finalidade de incentivar o consumo e o potencial produtivo da palma e propiciar alternativas de consumo deste alimento regional, com maior prazo de validade e propriedades funcionais.

Para tal, solicitamos a sua colaboração para participar da análise sensorial, baseada no método PAE, e experimentar cinco tipos de bebidas, assim como também solicitamos sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de saúde e publicar em revista científica nacional e/ou internacional. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo absoluto.

Informamos que as bebidas são elaboradas com matérias primas de qualidade, conforme as Boas Práticas de fabricação e analisadas previamente quanto à qualidade microbiológica. Informamos que essa pesquisa não oferece riscos previsíveis à sua saúde, contudo, pode haver alergia ou intolerância a alguma substância presente na bebida que poderá causar desconfortos gástricos, e por isso será disponibilizada em pequenas quantidades para análise sensorial e informamos os ingredientes usados na produção das mesmas.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o(a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador(a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano, nem haverá modificação na assistência que vem recebendo na Instituição (se for o caso). Os pesquisadores estarão à sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Em virtude que este TCLE se encontra em mais de uma página, as demais serão rubricadas pelo pesquisador e sujeito da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma cópia desse documento.

Assinatura do Participante



Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável: Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para os (as) pesquisadores (as) responsáveis: Januse Millia Dantas de Araújo. Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus I - Cidade Universitária – CEP 58051-900 – João Pessoa – PB. Telefone: (83) 9949-9913; Jailane de Souza Aquino: Endereço (Setor de Trabalho): Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus I - Cidade Universitária – CEP 58051-900 – João Pessoa – PB. Telefone: (83) 3209-8715/ (83) 3216-7499/ (83) 98187-7818. Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, Campus I – Cidade Universitária – Bloco Arnaldo Tavares, sala 812 – CEP 58051-900 – João Pessoa – PB. Telefone: (83) 3216-7791

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - CCS/UFPB	
--	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ELABORAÇÃO, BIOACESSIBILIDADE E BIOATIVIDADE DE BEBIDA DE PALMA (Opuntia Ficus-Indica) COM POTENCIAL PREBIÓTICO PRÉ-TRATADA COM ULTRASSOM

Pesquisador: Jailane de Souza Aquino

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57117521.3.0000.5188

Instituição Proponente: Universidade Federal da Paraíba

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.432.592

Apresentação do Projeto:

ELABORAÇÃO, BIOACESSIBILIDADE E BIOATIVIDADE DE BEBIDA DE PALMA (Opuntia Ficus-Indica) COM POTENCIAL PREBIÓTICO PRÉ-TRATADA COM ULTRASSOM

O projeto intitulado, ELABORAÇÃO, BIOACESSIBILIDADE E BIOATIVIDADE DE BEBIDA DE PALMA (Opuntia Ficus-Indica) COM POTENCIAL PREBIÓTICO PRÉ-TRATADA COM ULTRASSOM, pertence ao PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO.

Introdução:

Os programas governamentais como Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), Programa Nacional de Alimentação Escolar (PNAE) tem estimulado o consumo e o processamento de alimentos regionais como alternativa de aproveitamento destes na cadeia produtiva e incentivo ao consumo. Dentre estes, a palma (Opuntia ficus) é um alimento bastante produzido no Nordeste brasileiro, mas não tradicionalmente faz parte da dieta brasileira. No entanto, apresenta potencial prebiótico, e é uma excelente fonte de nutrientes. Nesta perspectiva, o processamento de palma em forma de bebida constitui excelente veículo para a entrega de ingredientes bioativos (PUTNICK et al., 2018) tais como fibras dietéticas, minerais (MÉNDEZ et al., 2015), compostos fenólicos (ARUWA et al., 2019), ácido ascórbico e outros

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2, 1º Andar	CEP: 58.051-900
Bairro: Cidade Universitária	
UF: PB	Município: JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791
	E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 5.432.592

compostos antioxidantes (Du TOIT et al., 2018) que podem estar associados à efeitos benéficos à saúde como atividade hipoglicemiante, antiobesogênica (LÓPEZ-ROMERO et al., 2014), hipolipidêmica (GOUWS et al., 2020), hipotensora (BAKOUR et al., 2017) e antiinflamatória (MORAN-RAMOS et al., 2017). Tais efeitos por sua vez podem se relacionar com o potencial prebiótico da palma. Existe pouco consenso de quais compostos são considerados ou não prebióticos (MENEZES et al., 2018; PADILHA, et al., 2017; SANTOS et al., 2020; VALENCIA et al., 2016; VOGADO et al., 2018). O conceito mais atual de prebióticos os define como "substratos utilizados seletivamente por microrganismos presentes no hospedeiro, conferindo benefícios à saúde" (BINDELS et al., 2015). Neste sentido, a adição de prebióticos em alimentos tem o benefício de manter contagens de bactérias viáveis na microbiota intestinal acima do nível terapêutico mínimo (RASIKA

et al., 2020). Considerando os compostos bioativos presentes nos cladódios de palma, como os compostos com atividade prebiótica neste alimento e a necessidade dos consumidores por alimentos de alta qualidade nutricional, sensorial e microbiológica, a indústria de alimentos procura continuamente alternativas aos métodos térmicos convencionais como o uso do ultrassom. O prétratamento de bebidas com ultrassom vem demonstrando vantagens em comparação aos tratamentos térmicos com pasteurização, tais como aumentar a liberação de antioxidantes e ter um efeito mínimo no conteúdo de fenóis e ácido ascórbico ou atividade antioxidante (REYSHERNANDEZ et al., 2017). Contudo, até pouco tempo atrás, segundo Santiago et al. (2018) nenhum estudo sobre a digestão gastrointestinal in vitro no conteúdo de fenólicos em cladódios de cactos, será encontrado. Poucos trabalhos avaliaram se o pré-tratamento com ultrassom influencia a bioacessibilidade de bebidas com propriedades prebióticas. A condução deste trabalho tem por objetivo de elaborar uma bebida à base de cladódios de palma adicionada de prebióticos pré-tratada com ultrassom e avaliar a bioacessibilidade e a bioatividade deste produto, bem como os compostos bioativos presentes e os parâmetros microbiológicos, reológicos, físico-químicos e sensoriais.

Hipótese:

A adição de prebióticos e o pré-tratamento com ultrassom em bebida elaborada com cladódios de palma têm influência na bioacessibilidade dos nutrientes, na bioatividade, na aceitação sensorial e sobre parâmetros microbiológicos, reológicos e físico-químicos deste produto durante o armazenamento.

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2, 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 5.432.592

Metodologia Proposta:

O estudo contará com a etapa de elaboração das bebidas, seguido de caracterização nutricional e de compostos bioativos, além de análises de parâmetros microbiológicos, reológicos, físico-químicos e sensoriais. As análises sensoriais serão realizadas com um total de 420 pessoas e por envolverem seres humanos, só iniciarão após aprovação pelo CEP. O detalhamento metodológico se encontra no projeto em anexo.

Critério de Inclusão:

Como critérios de inclusão teremos: pessoas com idade 18 anos, que tenham o hábito de consumir sucos verdes e tenham disponibilidade em consumir o suco de palma.

Critério de Exclusão:

Serão excluídas as pessoas com sintomas de gripe ou COVID-19 e que tenham alterações no paladar ou no olfato ou ainda pessoas que tenham intolerância ou alergia a algum dos ingredientes das bebidas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

A condução deste trabalho tem por objetivo de elaborar uma bebida à base de cladódios de palma adicionada de prebióticos pré-tratada com ultrassom e avaliar a bioacessibilidade e a bioatividade deste produto, bem como os compostos bioativos presentes e os parâmetros microbiológicos, reológicos, físico-químicos e sensoriais.

Objetivo Secundário:

Como objetivo secundário, a execução do trabalho visa agregar valor à palma e desenvolver produtos à base deste alimento regional com tecnologias emergentes e que possam ser consumidos pela população com apelo funcional.

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2.º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 5.432.592

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A análise sensorial das bebidas poderá incorrer em riscos como alergias ou intolerância a algum dos componentes do alimento por parte dos provadores, bem como quanto à contaminação microbiológica dos produtos. Contudo, como forma de evitar tais riscos à saúde dos provadores da bebida à base de palma, os pesquisadores irão: a) seguir as normas das Boas Práticas de Fabricação de bebidas e alimentos, com controle estrito das etapas, utensílios e ambiente, bem como da qualidade das matérias-primas; b) realizar análise microbiológica previamente à análise sensorial; c) informar aos provadores sobre os ingredientes das bebidas para identificar possíveis alergias ou intolerâncias prévias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizada a extração do sumo da palma para a formulação de cinco bebidas: controle sem tratamento (PS), controle pré tratada com ultrassom (PU) e as bebidas pré tratadas com ultrassom e adicionadas de inulina (PIU), oligofrutose (POU) ou de povidexose (PPU) na concentração de 2,5%. O tratamento com o ultrassom será na frequência de 42 kHz e potência ultrassônica de 240 W durante 40 min. A qualidade das bebidas será avaliada durante 28 dias em armazenamento refrigerado (7 °C). Serão avaliadas as variáveis pH, acidez, sólidos solúveis (Brix), umidade, proteínas, gorduras, cinzas, açúcares, ácidos orgânicos, fibras, oligossacarídeos, vitamina C, clorofila, perfil fenólico, cor, textura, viscosidade e a qualidade microbiológica. Para avaliar a bioacessibilidade da bebida será simulada a via gástrica oral utilizando -amilase, com pepsina a pH 3 e intestino delgado com pancreatina e sais biliares em pH 7. A atividade anti-hipertensiva será avaliada pela inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) e a anti-diabética pela inibição das enzimas -amilase e -glucosidase. A aceitação sensorial das bebidas será analisada através de uma escala hedônica de 9 pontos por 100 consumidores e pelo método descritivo atributo de elicitación preferido (PAE) por 20 consumidores.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

De acordo com a Resolução 466/12 e as Normas Operacionais do CEP, o projeto se encontra em conformidade aos documentos exigidos!

Recomendações:

Recomenda-se aprovar

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2, 1º Andar		
Bairro: Cidade Universitária	CEP: 58.051-900	
UF: PB	Município: JOÃO PESSOA	
Telefone: (83)3216-7791	Fax: (83)3216-7791	E-mail: comitedeetica@ccs.ufpb.br

**CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB**



Continuação do Parecer: 5.432.592

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado!

Considerações Finais a critério do CEP:

Certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba – CEP/CCS aprovou a execução do referido projeto de pesquisa. Outrossim, informo que a autorização para posterior publicação fica condicionada à submissão do Relatório Final na Plataforma Brasil, via Notificação, para fins de apreciação e aprovação por este egrégio Comitê.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1732367.pdf	05/05/2022 17:56:09		Aceito
Outros	resposta_ao_parecer_consubiado.pdf	05/05/2022 17:52:33	Jailane de Souza Aquino	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETObebidadepalmaCEPATUAL.pdf	05/05/2022 17:44:07	Jailane de Souza Aquino	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	05/05/2022 17:43:18	Jailane de Souza Aquino	Aceito
Declaração de concordância	anuencia_jab_tecnica_dietetica_e_bromatologia.pdf	05/05/2022 17:33:37	Jailane de Souza Aquino	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoATUALIZADA.pdf	23/03/2022 23:44:26	Jailane de Souza Aquino	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2.º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOÃO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br

CENTRO DE CIÊNCIAS DA
SAÚDE DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DA PARAÍBA -
CCS/UFPB



Continuação do Parecer: 5.432.592

JOAO PESSOA, 26 de Maio de 2022

Assinado por:
Eliane Marques Duarte de Sousa
(Coordenador(a))

Endereço: Prédio da Reitoria da UFPB 2 1º Andar
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 58.051-900
UF: PB **Município:** JOAO PESSOA
Telefone: (83)3216-7791 **Fax:** (83)3216-7791 **E-mail:** comitedeetica@ccs.ufpb.br