

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 31/01/2024.

**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”**

Faculdade de Ciências Farmaceuticas

**Desenvolvimento de iogurte *skyr* simbiótico
por diferentes processos de produção e
avaliação na microbiota intestinal**

Fernanda Campos Freire

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Katia Sivieri

Araraquara
2022

Desenvolvimento de iogurte *skyr* simbiótico por diferentes processos de produção e avaliação na microbiota intestinal

Fernanda Campos Freire

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição para obtenção do título de Doutora em Alimentos e Nutrição.

Área de concentração: Ciência Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Katia Sivieri

Araraquara
2022

F866d Freire, Fernanda Campos.
Desenvolvimento de iogurte *skyr* simbiótico por diferentes processos de produção e avaliação na microbiota intestinal / Fernanda Campos Freire. – Araraquara: [S.n.], 2022.
96 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. Área de Concentração em Ciências Nutricionais.

Orientadora: Katia Sivieri.

1. *Skyr*. 2. Iogurte hiperproteico. 3. Probiótico. 4. Simbiótico. 5. Ultrafiltração. 6. Filtração em tecido. 7. Microbiota intestinal. I. Sivieri, katia, orient. II. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Desenvolvimento de iogurte skyr simbiótico por diferentes processos de produção e avaliação na microbiota intestinal

AUTORA: FERNANDA CAMPOS FREIRE

ORIENTADORA: KATIA SIVIERI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, área: Ciências Nutricionais pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KATIA SIVIERI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP Araraquara

Profa. Dra. ADRIANE ELISABETE ANTUNES DE MORAES (Participação Virtual)
Faculdade de Ciências Aplicadas da Unicamp

Prof. Dra. SABRINA NEVES CASAROTTI (Participação Virtual)
Universidade Federal de Rondonópolis

Dra. HENRIETTE MONTEIRO CORDEIRO DE AZEREDO (Participação Virtual)
Departamento de Instrumentação / Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Araraquara, 31 de janeiro de 2022

Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À TIA Brasil.

À minha orientadora Profa. Dra. Katia Sivieri pela paciência, apoio e dedicação durante todo o projeto. Sou muito grata pelo conhecimento compartilhado durante todos esses anos.

Agradecimentos pessoais

Ao meu pai, Francisco, por nunca medir esforços para tonar meus sonhos realidade. Essa conquista também é sua!

Ao Giulio Saragiotto por todo amor, incentivo e paciência.

As minhas amadas amigas Ana Luiza Duque, Júlia Valério, Amanda Fernandes, Fernanda Bianchi e Adriana Zavarizi pelo carinho e companheirismo durante todos esses anos.

Ao Flávio Picheli pela amizade e parceria.

RESUMO

Durante a última década, o interesse por alimentos nutritivos e funcionais aumentou significativamente, tanto pelos consumidores quanto pelas indústrias alimentícias. Dessa forma, pesquisas que comprovem os efeitos benéficos para a saúde advindos do consumo destes produtos tem se tornado essenciais. Atualmente, os produtos lácteos probióticos constituem os principais alimentos funcionais comercialmente disponíveis, particularmente os iogurtes. O consumo de iogurte tornou-se mundialmente popular devido aos seus efeitos benéficos à saúde. Existem diversos tipos de iogurtes no mercado mundial que divergem quanto a composição, sabor, consistência e valor calórico. Essas características variam de acordo com a matéria-prima e cultura utilizada, bem como com o método empregado no processo de produção. Neste sentido, o iogurte tipo *skyr* é um produto tradicional da Islândia e, atualmente, é reconhecido pelo alto teor de proteínas e reduzido teor de gorduras, quando comparado aos outros tipos de iogurtes. A utilização da tecnologia de ultrafiltração no processo de produção de iogurtes tem se tornado uma alternativa bastante interessante e atrativa para a indústria de laticínios, uma vez que proporciona uma alta qualidade ao produto, do ponto de vista microbiológico e nutricional, como também otimiza algumas etapas do processo de produção. O objetivo deste trabalho foi desenvolver iogurtes tipo *skyr* probiótico e simbiótico (adicionado do prebiótico frutooligossacarídeo - FOS) por meio da filtração em tecido, bem como pela tecnologia de ultrafiltração, e investigar seus efeitos sobre a composição e metabolismo da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis, utilizando o modelo *in vitro* Simulador do Ecossistema Microbiano Humano (SEMH®). O capítulo 1 apresenta os resultados referentes ao processo de produção dos iogurtes. Já o capítulo 2 apresenta os resultados referentes ao efeito da administração dos iogurtes na composição e metabolismo da microbiota intestinal no SEMH®. Nossos resultados sugerem que ambos os processos foram eficientes para produzir iogurtes com alto teor de proteína. Os iogurtes tipo *skyr* probiótico e simbiótico permaneceram estáveis durante os 28 dias de armazenamento refrigerado e mostraram ser uma boa matriz para carrear o microrganismo

probiótico e o ingrediente prebiótico. Ainda, a administração dos iogurtes probiótico e simbiótico proporcionou um efeito positivo na microbiota intestinal. Ambos os iogurtes alteraram a composição e melhoraram o metabolismo bacteriano no SEMH[®]. Dessa forma, os iogurtes tipo *skyr* probiótico e simbiótico podem ser considerados alimentos funcionais e podem oferecer uma nova perspectiva para a produção de alimentos com potenciais efeitos benéficos à saúde.

Palavras-chave: *skyr*, iogurte hiperproteico, probiótico, simbiótico, ultrafiltração, filtração em tecido, microbiota intestinal.

ABSTRACT

During the last decade, interest in nutritious and functional foods has increased significantly, both by consumers and by the food industry. Thus, research to prove the health benefits of consuming these products has become essential. Currently, probiotic dairy products are the main commercially available functional foods, particularly yogurts. Yogurt consumption has become popular worldwide for its health benefits. There are several types of yogurts on the world market that differ in composition, taste, consistency, and caloric value. These characteristics vary according to the raw material and culture used, as well as the method employed in the production process. In this sense, skyr yogurt is a traditional Icelandic product and is now recognized for its high protein and low-fat content when compared to other types of yogurts. The use of ultrafiltration technology in the yogurt production process has become a very interesting and attractive alternative for the dairy industry, since it provides a high-quality product, from the microbiological and nutritional point of view, and optimizes some steps of the production process. The objective of this study was to develop probiotic and synbiotic skyr yogurts (with the addition of the prebiotic fructooligosaccharide - FOS) by cloth filtration, as well as by ultrafiltration, and to investigate their effects on the composition and metabolism of the intestinal microbiota of healthy individuals, using the *in vitro* Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®) model. Chapter 1 presents the results concerning the skyr-type yogurts production process. Chapter 2 presents the results concerning the effect of skyr-type yogurts on the composition and metabolism of the gut microbiota in the SHIME®. Our results suggest that both processes were efficient to produce skyr-types yogurts with high-protein content. All formulations remained stable during the 28 days of refrigerated storage and showed to be a good matrix for carrying the probiotic microorganism and prebiotic ingredient. Also, the administration of high-protein yogurts (probiotic and synbiotic skyr) provided a positive effect on the intestinal microbiota. Probiotic and synbiotic skyr yogurts altered the composition and improved bacterial metabolism in SHIME® model. Probiotic

and synbiotic skyr yogurts can be considered functional foods and may offer a new perspective to produce foods with potential beneficial effects on health.

Keywords: skyr, high-protein yogurt, probiotic, synbiotic, ultrafiltration, cloth filtration, gut microbiota.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
REFERÊNCIAS.....	17
Capítulo 1.....	23
1. Introduction.....	25
2. Materials and methods	27
2.1. Skyr-type yogurts preparation	27
2.1.1. Cloth filtration.....	27
2.1.2. Ultrafiltration process (UF).....	27
2.1.3. Centesimal composition	28
2.2. Evaluation of skyr-type yogurts during refrigerated storage.....	28
2.2.1. pH and titratable acidity	28
2.2.2. Viability of strains.....	29
2.2.3. Syneresis.....	29
2.2.4. Sensorial analysis: Check-all-that-apply (CATA).....	29
2.2.5. <i>In vitro</i> digestion	30
2.3. Statistical analysis.....	30
3. Results and discussion	31
3.1. Cloth filtration x UF process.....	31
3.2. Centesimal composition	33
3.3. Evaluation of skyr-type yogurts during refrigerated storage.....	35
3.3.1. pH and titratable acidity	35
3.3.2. Viability of strains.....	35
3.3.3. Syneresis.....	36
3.3.4. CATA.....	37
3.3.5. <i>In vitro</i> digestion	38
4. Conclusion.....	39
Funding	40
References.....	40
Capítulo 2.....	61
1. Introduction.....	64
2. Material and methods.....	65

2.1. Preparation of probiotic and synbiotic skyr yogurts.....	65
2.2. Simulator of Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME®).....	66
2.2.1. Experimental protocol.....	67
2.2.2. Survival of <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> - Bb 12 under the simulated conditions of the stomach and duodenum in the SHIME®	67
2.2.3. Microbiota composition by 16S rRNA gene sequencing.....	67
2.2.4. Ammonia (NH ₄ ⁺) and short chain fatty acids (SCFA) analysis.....	68
2.3. Statistical analysis.....	68
3. Results	69
3.1 Survival of <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> Bb-12 under the simulated conditions of the stomach and duodenum in the SHIME®	69
3.2. Effects of probiotic and synbiotic skyr on gut microbiota.....	70
3.3. Metabolic activity: Ammonia (NH ₄ ⁺) and short chain fatty acids (SCFA) production	71
4. Discussion.....	71
5. Conclusion	76
Authors' contributions.....	76
Author statement.....	76
Conflict of interest	76
References.....	77
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	96

INTRODUÇÃO

Atualmente, os produtos lácteos constituem os principais alimentos funcionais comercialmente disponíveis, em especial os iogurtes. O iogurte é produzido através da fermentação do leite pasteurizado por bactérias lácteas específicas, como *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (1). O consumo de iogurte tornou-se mundialmente popular devido aos seus diversos efeitos benéficos à saúde. É reconhecido pelos consumidores como um alimento saudável, uma vez que contém microrganismos vivos e ativos que promovem a saúde intestinal. Ainda, é rico em nutrientes, possui um excelente perfil de proteínas, carboidratos, cálcio, fósforo e vitaminas (2).

Os iogurtes com alto teor de proteínas são considerados uma nova tendência no mercado, não só pela palatabilidade, como também pelo alto valor nutritivo (3). A procura por produtos deste segmento está em constante crescimento devido a seus diversos efeitos benéficos, como ganho de massa magra, ação imunomoduladora e ação anti-hipertensiva (4,5).

As proteínas do leite, além dos benefícios nutricionais, também são bastante utilizadas pela indústria alimentícia na busca por melhorias nos produtos processados, nos quesitos palatabilidade, textura e rendimento (6,7). O teor de proteínas nesses produtos pode ser aumentado antes do processo de fermentação através da adição de leite em pó, ou após, por meio da filtração, separação mecânica ou separação por membranas (8,9). O iogurte tipo *skyr* é um produto tradicional da Islândia e, atualmente, é reconhecido pelo alto teor de proteínas e reduzido teor de gorduras, quando comparado a outros tipos de iogurtes disponíveis (10). Essa categoria de iogurtes está disponível em todo o

mundo e a nomenclatura dos produtos varia de acordo com a origem: *Labneh* (Mediterrâneo Oriental), *Torba* (Turquia), *Stragisto* (Grécia), *Chakka*, (Índia) e *Ymer* (Dinamarca) (11).

Tradicionalmente, o *skyr* era obtido através da fermentação do leite desnatado por bactérias produtoras de ácido láctico, seguido pela dessoragem do coalho através de um tecido (11). A produção do *skyr* sofreu intensas modificações nos últimos anos, especialmente na etapa de dessoragem, e atualmente esta etapa vem sendo substituída pelo processo de centrifugação (centrífuga tipo Quark) ou pela tecnologia de ultrafiltração (UF) (3,8,12). A UF tem se tornado bastante interessante e atrativa quando comparada a outros tipos de processos convencionais (decantação, filtração e centrifugação), uma vez que proporciona alta qualidade ao alimento processado, do ponto de vista microbiológico e nutricional, e atua na simplificação do fluxo de processo, otimizando algumas etapas da produção (3,9,13). A UF vem sendo utilizada a fim melhorar a composição nutricional do produto, já que proporciona o aproveitamento das propriedades técnicas das proteínas (solubilidade, emulsificação, cremosidade e viscosidade) e minimiza a perda da caseína no soro (14). Ainda, quando aplicada antes do processo de fermentação evita a produção de soro ácido, um resíduo problemático para a indústria de laticínios (15).

A adição de ingredientes funcionais em iogurtes também tem sido adotada pelas indústrias alimentícias, já que a matriz tecnológica desses produtos permite o enriquecimento com diversos compostos, diversificando assim as apresentações comerciais e ampliando o público consumidor (4,16–18). A

incorporação de ingredientes funcionais é considerada uma abordagem terapêutica interessante para a promoção da saúde.

Um dos recursos mais utilizados pela indústria alimentícia é a adição de bactérias probióticas (19). Já é bem fundamentado que a utilização dessas bactérias contribui a favor da modulação das funções fisiológicas dos indivíduos, uma vez que promove resistência gastrintestinal à colonização por patógenos, estimula o sistema imune, sintetiza vitaminas, aumenta a absorção de minerais e previne o risco de desenvolvimento de câncer de cólon (20–24). As principais cepas probióticas empregadas no desenvolvimento de iogurtes são as pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* spp e *Bifidobacterium* spp (19) .

Ainda, a adição de fibras prebióticas também é considerada uma inovação nos produtos deste segmento. Os prebióticos são classificados como ingredientes alimentares não digeríveis e são fermentados de maneira seletiva no cólon. São responsáveis por contribuir com a proliferação de bactérias benéficas, regularizar a função intestinal (volume, consistência e frequência das fezes), aumentar a absorção de minerais e melhorar o sistema imune (25,26).

Uma das principais terapias utilizadas para modular o ecossistema intestinal é a utilização de microrganismos probióticos e fibras prebióticas (26,27). Atualmente, diversos estudos abordam o papel da microbiota no estado de saúde e como alterações na diversidade microbiana (disbiose) podem afetar diretamente o metabolismo e a resposta imune do hospedeiro, contribuindo para a patogênese de doenças inflamatórias, autoimunes e comportamentais, como obesidade, diabetes, doenças inflamatórias intestinais, asma e distúrbios do sistema nervoso central (26,28–33).

Diante da importância da disbiose na gênese de diferentes doenças e o seu impacto no estado de saúde, houve um crescente interesse em estratégias alimentares que contribuam para a modulação do ecossistema intestinal (34–36). Neste sentido, estudos sobre a microbiota intestinal podem ser realizados utilizando modelos *in vivo* e *in vitro*. Em modelos *in vivo*, as abordagens são mais representativas, uma vez que os parâmetros e as interações fisiológicas com o organismo hospedeiro são levados em conta. Contudo, a composição da população microbiana nas diferentes regiões do cólon não pode ser observada, visto que somente a microbiota fecal é analisada (37,38).

Já os modelos *in vitro* são capazes de fornecer informações sobre as etapas do processo de fermentação nas diferentes regiões do cólon humano. São úteis para investigar a microbiota intestinal, bem como seus metabólitos, além de proporcionar resultados com elevada reprodutibilidade (39–42). Dessa forma, o Simulador do Ecossistema Microbiano Humano (SEMH[®]) consiste em um modelo dinâmico do trato gastrointestinal humano, composto por cinco reatores conectados que representam o estômago, o duodeno e os cólons ascendente, transverso e descendente, com seus respectivos valores de pH, tempo de residência, temperatura e capacidade volumétrica (43). Atualmente este modelo tem sido bastante utilizado em estudos experimentais, uma vez que permite analisar a composição e a atividade da população microbiana do intestino (39,40,44–46).

Dessa forma, o desenvolvimento de iogurtes tipo *skyr* probiótico e simbiótico (adicionado do prebiótico frutooligossacarídeo) pode contribuir para o surgimento de um novo produto funcional. A proposta torna-se também interessante em função da inexistência no mercado brasileiro de um iogurte tipo

skyr adicionado de prebiótico e que utilize em seu processo de produção a tecnologia de ultrafiltração. A figura 1 apresenta o protocolo experimental realizado neste estudo.

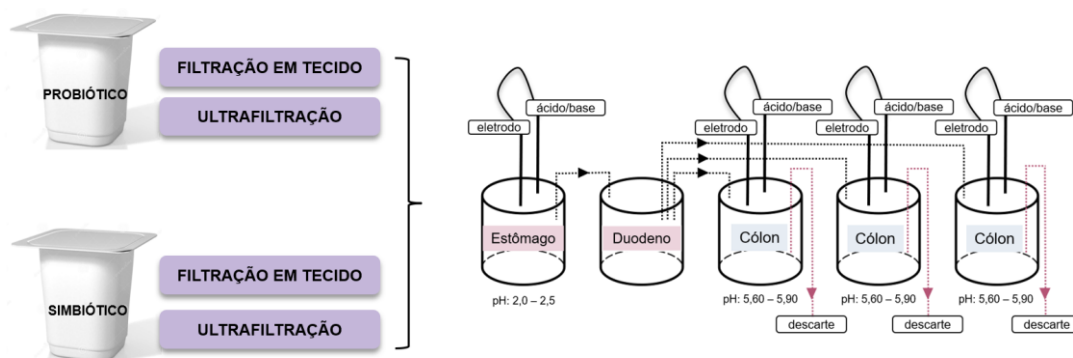


Figura 1. Representação esquemática do experimento realizado neste estudo.

REFERÊNCIAS

1. Rinani Shima A, Farah Salina H, Masniza M, Hanis Atiqah A. Viability of lactic acid bacteria in homemade yogurt containing sago starch oligosaccharides. IJBAS-IJENS. 2012;12(1):58-62.
2. Kumar P, Mishra HN. Yoghurt powder - A review of process technology, storage, and utilization. Food and Bioproducts Processing. 2004;82(2):133-142.
3. Jørgensen CE, Abrahamsen RK, Rukke EO, Hoffmann TK, Johansen AG, Skeie SB. Processing of high-protein yoghurt – A review. International Dairy Journal. 2019; 88:42-59.
4. Gumus CE, Gharibzahedi SMT. Yogurts supplemented with lipid emulsions rich in omega-3 fatty acids: new insights into the fortification, microencapsulation, quality properties, and health-promoting effects. Trends in Food Science and Technology. 2021;110: 267-279.
5. Abd El-Fattah A, Sakr S, El-Dieb S, Elkashef H. Developing functional yogurt rich in bioactive peptides and gamma-aminobutyric acid related to cardiovascular health. LWT. 2018; 98:390-397.
6. Moghaddas KE, Ghasempour Z, Ghanbari S, Pirmohammadi R, Ehsani A. Development of probiotic yogurt by incorporation of milk protein concentrate (MPC) and microencapsulated *Lactobacillus paracasei* in gellan-caseinate mixture. British Food Journal. 2018;120(7):1516-1528.

7. Lesme H, Rannou C, Famelart MH, Bouhallab S, Prost C. Yogurts enriched with milk proteins: Texture properties, aroma release and sensory perception. *Trends in Food Science and Technology*. 2020; 98:140-149.
8. Jørgensen CE, Abrahamsen RK, Rukke EO, Johansen AG, Skeie SB. Fractionation by microfiltration: Effect of casein micelle size on composition and rheology of high protein, low fat set yoghurt. *International Dairy Journal*. 2017; 74:12-20.
9. Kosikowski FV. Low lactose yogurts and milk beverages by ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*. 1979; 62:41-46.
10. Narvhus JA, Abrahamsen RK. Yogurt: Types and Manufacture. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)*. 2022; 502-510.
11. Tamime AY, Hickey M, Muir DD. Strained fermented milks - A review of existing legislative provisions, survey of nutritional labelling of commercial products in selected markets and terminology of products in some selected countries. *International Journal of Dairy Technology*. 2014; 67(3): 305-333.
12. Moineau-Jean A, Raymond Y, Sabik H, Graveline N, Champagne CP, Roy D, et al. Effect of manufacturing processes and storage on aroma compounds and sensory properties of yoghurt. *International Dairy Journal*. 2020;105: 104662.
13. Faion AM, Becker J, Fernandes IA, Steffens J, Valduga E. Sheep's milk concentration by ultrafiltration and cheese elaboration. *Journal of Food Process Engineering*. 2019;42(4):1-9.
14. Leu M, Marciniak A, Chamberland J, Pouliot Y, Bazinet L, Doyen A. Effect of skim milk treated with high hydrostatic pressure on permeate flux and fouling during ultrafiltration. *Journal of Dairy Science*. 2017;100(9):7071-7082.
15. Smithers GW. Whey-ing up the options - Yesterday, today, and tomorrow. *International Dairy Journal*. 2015; 48:2-14.
16. Costa MP, Frasco BS, Silva ACO, Freitas MQ, Franco RM, Conte-Junior CA. Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) pulp, probiotic, and prebiotic: Influence on color, apparent viscosity, and texture of goat milk yogurts. *Journal of Dairy Science*. 2015;98(9):5995-6003.
17. Marinaki E, Kandylis P, Dimitrellou D, Zakyntinos G, Varzakas T. Probiotic yogurt production with *Lactobacillus casei* and prebiotics. *Current Research in Nutrition and Food Science*. 2016; 4:48–53.

18. Karaaslan M, Ozden M, Vardin H, Turkoglu H. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 2011; 44(4):1065-1072.
19. Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*. 2001; (1-2):1-17.
20. Guo Z, Wang J, Yan L, Chen W, Liu X ming, Zhang H ping. In vitro comparison of probiotic properties of *Lactobacillus casei* Zhang, a potential new probiotic, with selected probiotic strains. *LWT - Food Science and Technology*. 2009;42(10):1640–1646.
21. Sharma M, Wasan A, Sharma RK. Recent developments in probiotics: An emphasis on *Bifidobacterium*. *Food Bioscience*. 2021; 41:100993.
22. Markowiak P, Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*. 2017; 9(9):1021.
23. Cheng D, Song J, Xie M, Song D. The bidirectional relationship between host physiology and microbiota and health benefits of probiotics: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2019; 91:426-435.
24. Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *European Journal of Nutrition*. 2011;50(1):1–17.
25. Kolida S, Gibson GR. Synbiotics in Health and Disease. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2011; 2:373-393.
26. Fooks LJ, Fuller R, Gibson GR. Prebiotics, probiotics, and human gut microbiology. *International Dairy Journal*. 1999;9(1):53-61.
27. Rook GAW, Brunet LR. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut*. 2005;54(3):317-20.
28. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Paul Ross R, Fitzgerald GF, Stanton C. Gut microbiota, obesity, and diabetes. *Postgraduate Medical Journal*. 2016; 92(1087):286-300.
29. Ley RE, BäCkhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005; 102(31):11070-11075.
30. Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009; 457:480-484.

31. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559-563.
32. Wu GD, J Chen, C Hoffmann, K Bittinger, Y Chen, S A Keilbaugh, M Bewtra, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105-108.
33. Krajmalnik-Brown R, Ilhan ZE, Kang DW, DiBaise JK. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutrition in Clinical Practice*. 2012;27(2):201-214.
34. Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research*. 2013;69(1):52-60.
35. Cui J, Lian Y, Zhao C, Du H, Han Y, Gao W, et al. Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2019;18(5):1514–1532.
36. Wong CB, Odamaki T, Xiao JZ. Beneficial effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 on human health: Modulation of gut microbiome as the principal action. *Journal of Functional Foods*. 2019;54:506-519.
37. da Cruz Rodrigues VC, da Silva LGS, Simabuco FM, Venema K, Antunes AEC. Survival, metabolic status, and cellular morphology of probiotics in dairy products and dietary supplement after simulated digestion. *Journal of Functional Foods*. 2019;55:126-134.
38. Van de Wiele T, Boon N, Possemiers S, Jacobs H, Verstraete W. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*. 2004; 51(1),143-153.
39. Casarotti SN, Borgonovi TF, de Mello Tieghi T, Sivieri K, Penna ALB. Probiotic low-fat fermented goat milk with passion fruit by-product: In vitro effect on obese individuals' microbiota and on metabolites production. *Food Research International*. 2020;136,109453.
40. Duque ALRF, Demarqui FM, Santoni MM, Zanelli CF, Adorno MAT, Milenkovic D, et al. Effect of probiotic, prebiotic, and synbiotic on the gut microbiota of autistic children using an in vitro gut microbiome model. *Food Research International*. 2021;149,110657.
41. de Medeiros VPB, Salgaço MK, Pimentel TC, da Silva TCR., Sartoratto A, dos Santos Lima, et al. *Spirulina platensis* biomass enhances the proliferation rate of *Lactobacillus acidophilus* 5 (La-5) and combined with La-5 impact the gut

microbiota of medium-age healthy individuals through an in vitro gut microbiome model. *Food Research International*. 2022;154,110880.

42. Bianchi F, Rossi EA, Sakamoto IK, Adorno MAT, Van de Wiele T, Sivieri K. Beneficial effects of fermented vegetal beverages on human gastrointestinal microbial ecosystem in a simulator. *Food Research International*. 2014; 64:43-52.
43. Molly K, Woestyne MV, de Smet I, Verstraete W. Validation of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME) reactor using microorganism-associated activities. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 1994;7(4):191-200.
44. Possemiers S, Verthé K, Uyttendaele S, Verstraete W. PCR-DGGE-based quantification of stability of the microbial community in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*. 2004;49(3):495–507.
45. Possemiers S, Marzorati M, Verstraete W, Van de Wiele T. Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*. 2010;141(1–2):97–103.
46. Van de Wiele T, Boon N, Possemiers S, Jacobs H, Verstraete W. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*. 2004;51(1):143-153.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados apresentados, conclui-se que:

1. Os iogurtes tipo *skyr* desenvolvidos apresentaram alto teor de proteínas e boas características sensoriais.
2. Em ambos os iogurtes, a viabilidade do *B. lactis* Bb-12 foi preservada durante a passagem pelo trato gastrointestinal simulado.
3. Ambos os iogurtes exerceram efeitos positivos sobre a microbiota intestinal, uma vez que alteraram a composição da comunidade microbiana e aumentaram a produção de ácidos graxos de cadeia curta.
4. A análise de sequenciamento do gene 16S rRNA demonstrou que ambos os iogurtes exerceram um efeito positivo sobre a microbiota intestinal, em termos de composição.
5. Estudos *in vivo*, especialmente estudos clínicos, são necessários para uma comprovação dos resultados encontrados *in vitro*.