



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**EVELLIN CHRISTINE DE SOUSA PIRES**

Viabilidade de *Lactobacillus casei* em leite fermentado enriquecido com  
biomassa de banana verde.

**Orientadora:** Prof. Dra Eliana dos Santos Leandro

Brasília, 2016.

**EVELLIN CHRISTINE DE SOUSA PIRES**

Viabilidade de *Lactobacillus casei* em leite fermentado enriquecido com biomassa de banana verde.

Monografia apresentada ao departamento de nutrição como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista, sob orientação da prof. Dra. Eliana dos Santos Leandro

Brasília, 2016.

Monografia apresentada ao departamento de nutrição como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista. Qualquer citação atenderá as normas da ética científica.

EVELLIN CHRISTINE DE SOUSA PIRES

Monografia apresentada em 02/12/2016.

---

Orientadora Prof. Dra. Eliana Santos Leandro

---

1º Examinador Prof. (a) Dra. Renata Puppim Zandonadi

---

2º Examinador Prof. (a) Dra. Muriel Bauermann Gubert

---

Coordenador Prof. (a) Dra. Renata Puppim Zandonadi

---

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus que permitiu que este momento fosse vivido por mim, trazendo alegria aos meus pais e a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

A esta universidade e todo seu corpo docente, além da direção e a administração, que realizam seu trabalho com tanto amor e dedicação, trabalhando incansavelmente para que nós, alunos, possamos contar com um ensino de extrema qualidade.

A mestranda Carolina de Oliveira Vogado e a professora Dra. Eliana dos Santos Leandro por toda orientação, cuidado e atenção ajuda que me foram dados.

De forma especial ao meu pai Alcides Araujo Pires e a minha mãe Teresinha Alves de Sousa Pires por não medirem esforços para que eu pudesse levar meus estudos adiante. E aos meus amigos e familiares por confiarem em mim e estarem do meu lado em todos os momentos da vida.

## RESUMO

Leites fermentados são produzidos por meio da atividade de acidificação de bactérias lácticas inoculadas em leite pasteurizado ou esterilizado. Bactérias lácticas probióticas podem ser utilizadas como culturas iniciadoras na elaboração do leite fermentado ou adicionadas como concentrado de células. A sobrevivência de micro-organismos probióticos durante o período de estocagem de um alimento é importante para assegurar os benefícios á saúde do consumidor. Assim, a adição de um novo ingrediente na elaboração de um alimento probiótico deve ser avaliada de modo a garantir o crescimento e sobrevivência do micro-organismo probiótico. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição de biomassa de banana verde em leite fermentado sobre a viabilidade de *Lactobacillus casei*. Trata-se de um estudo caráter experimental composto por duas etapas: elaboração dos leites fermentados e determinação da sobrevivência e atividade de acidificação (pH) em leite de *Lactobacillus casei*. Observou-se que a população de *L. casei* nas diferentes formulações de leite fermentado foi em torno de 8 a 10 ciclos log UFC/ml. Durante o período de 28 dias de estocagem ocorreu algumas variações no tamanho da população microbiana. Está variação pode ter sido ocasionada por diferentes fatores, entre eles erros experimentais. A determinação do pH das diferentes formulações elaboradas foram compatíveis com o comportamento da população microbiana ao longo do período de estocagem. A adição de biomassa de banana verde em leite favoreceu o crescimento de *L. casei* e também não comprometeu a sobrevivência de *L. casei* durante o período de estocagem. Assim, a adição de

bioamassa de banana verde na elaboração de leite fermentado por *L. casei* é uma alternativa para agregar mais benefícios aos consumidores de leites fermentados.

**Palavras- chave:** Leite fermentado, sobrevivência, biomassa de banana verde, probiótico

## SUMÁRIO

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 1. Introdução .....                | 8  |
| 2. Objetivos .....                 | 10 |
| 2.1. Objetivo Geral .....          | 10 |
| 2.2. Objetivos específicos .....   | 10 |
| 3. Revisão Bibliográfica .....     | 10 |
| 3.1. Leite Fermentado .....        | 10 |
| 3.2. Probióticos.....              | 11 |
| 4. Materiais e Métodos .....       | 17 |
| 4.1. Caracterização do estudo..... | 17 |
| 5. Resultados e Discussão .....    | 20 |
| 6. Conclusão .....                 | 24 |
| Referências .....                  | 25 |

## 1. Introdução

Atualmente, a elevada busca por uma melhor qualidade de vida e bem-estar, tem aumentando a procura por alimentos com um bom valor nutricional e funcional, destacando nesse contexto os adicionados de probióticos e prebióticos (ANTUNES et al., 2007; SILVA, 2007).

Alimentos funcionais são aqueles que além das suas funções nutricionais apresentam benefícios fisiológicos e/ou metabólicos por meio de algum nutriente, o que auxilia na manutenção das funções do organismo humano (VIDAL, 2012). O aumento no consumo dos gêneros funcionais tem elevado a busca dos consumidores por alimentos inovadores e assim, a indústria de laticínios tem sido destaque com o maior número de produtos funcionais, através da adição de probióticos e prebióticos em alimentos como o iogurte e os leites fermentados no geral (ANTUNES et al., 2007; SANTOS et al., 2011).

Leite fermentado é o produto resultante da fermentação do leite pasteurizado ou esterilizado, por bactérias lácticas ou por bifidobactérias, que por sua atividade contribuem para a característica final do produto (BRASIL, 2007). Alimento que geralmente contém microrganismos considerados probióticos, por exemplo, *Lactobacillus spp* (Botelho, 2005).

Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades recomendadas podem conferir efeito benéfico à saúde do hospedeiro (FAO, 2001). Dentre esses benefícios encontra-se, melhoria da microflora gastrointestinal, melhoria do sistema imunológico, redução do colesterol



sérico, prevenção do câncer, o tratamento de diarreias associadas ao intestino irritável, efeitos anti-hipertensivos e estímulo ao sistema imunológico (SHI, 2016).

Além dos leites fermentados, a banana verde tem-se destacado como um alimento funcional por apresentar alto teor de amido resistente, que age como fibras insolúveis e baixo teor de açúcares e compostos aromáticos, além de ser rica em flavonóides atuando na mucosa gástrica (OLIVEIRA et al., 2015).

O amido resistente encontrado na farinha e na biomassa de banana verde pode ser caracterizado como prebiótico, pois é a soma dos amidos não digeridos no intestino delgado de indivíduos saudáveis (NAVARRO S.D, 2015) e devido essa característica pode servir como substrato para o crescimento de micro-organismo probióticos (Walter, 2005).

Embora o Brasil seja o segundo maior produtor de banana, ainda existe baixa qualidade na produção e danos pós colheita, chegando a 60% de perda, devido a falhas na manipulação, desde a colheita até as dificuldades de inserir o produto no mercado (RANIERI, 2014). O que valoriza a criação de um leite fermentado probiótico com adição de biomassa de banana verde, pois além das propriedades funcionais, promove a sustentabilidade, reduzindo os impactos do desperdício dos frutos verdes, melhorando ainda as características nutricionais do produto. Com isso, os objetivos deste trabalho é avaliar o pH e a viabilidade do leite fermentado probiótico enriquecido com biomassa de banana verde, ao longo do período de 28 dias de estocagem sob refrigeração.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito da utilização da biomassa de banana verde em leite fermentado sobre a viabilidade de *Lactobacillus casei*.

### **2.2. Objetivos específicos**

- a) Elaborar formulações do leite fermentado com *Lactobacillus Casei* com adição de diferentes porcentagens de biomassa de banana verde;
- b) Avaliar a variação de pH ao longo do período de 28 dias de estocagem sob refrigeração;
- c) Verificar a sobrevivência de *L. casei* durante o período de 28 dias de estocagem.

## **3. Revisão Bibliográfica**

### **3.1. Leite Fermentado**

Leites fermentados são produzidos através da coagulação e diminuição do pH do leite pasteurizado ou esterilizado, por culturas iniciadoras específicas, que devem ser viáveis, ativas e se manter presentes e em grande quantidade no produto final e durante o prazo de validade. Pode-se utilizar o próprio produto da fermentação ou reconstituí-lo em busca de um novo sabor, adicionando outros produtos de origem láctea, bem como de outros gêneros alimentícios recomendados para a fabricação de leites fermentados (BRASIL, 2007).

De acordo com a legislação, o tipo de micro-organismo adicionado ao produto define a denominação, tais quais, iogurte, leite fermentado, leite acidófilo, *kefir*, *kumys* e coalhada. O nome leite fermentado é dado pela fermentação do produto por culturas do tipo, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp*, *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus* e/ou outras bactérias ácido lácticas que por sua ação auxiliam para a determinação das características do produto final (GALLINA, 2011).

Os leites fermentados têm sido considerados opções com alto potencial para a inovação dos produtos com base láctea no mercado, devido a sua relação com a saúde, o que vem sendo explorado pelas indústrias de laticínios. Isso se relaciona com as propriedades da indústria láctea que permitem a viabilidade de produtos funcionais adicionados ao leite fermentado, a elevada praticidade dos derivados lácteos e a relação que os consumidores fazem dos produtos lácteos com o aspecto de saudáveis (COSTA, 2013).

As propriedades funcionais podem estar relacionadas à adição de probióticos ao leite fermentado, um assunto que vem sendo estudado, devido à viabilidade desses produtos durante o tempo de vida de prateleira. (GALLINA, 2011).

### **3.2. Probióticos**

Segundo a FAO (2001), probióticos são micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do consumidor. Esses microrganismos são predominantemente bactérias ácido-láticas,

gram positivas, comumente catalase negativas, que apresentam melhor crescimento sob condições de microaerofilia (OLIVEIRA-SIQUEIRA et al, 2008).

*Bifidobacterium* (*adolescentis*, *animalis*, *bifidum breve* e *Bifidobacterium longo*) e *Lactobacillus* (*acidophilus*, *casei*, *fermentum*, *gasseri*, *johnsoni*, *paracasei*, *plantarum*, *rhamnosus* e *salivarius*) são as espécies comumente utilizadas como probiótico (Hill et al., 2015). Porém, outras espécies menos relevantes como algumas estirpes de Enterococcs e de leveduras apresentam potencial probiótico (Caballero et al. 2007).

O gênero *Lactobacillus* pertence ao grupo das bactérias lácticas e caracteriza por apresentar um metabolismo estritamente fermentativo. Este gênero pode ser encontrado em alimentos (laticínios, carnes e vegetais), solos, plantas, em seres humanos e animais (cavidade oral, trato respiratório, trato gastrointestinal e urogenital) (Carvalho, 2015).

A escolha dessas bactérias para uso humano deve obedecer alguns critérios, como ter estabilidade às condições gástricas (presença de condições ácidas e sais biliares), ter capacidade de aderir à mucosa intestinal e colonizar o trato gastrintestinal humano, ser capaz de produzir compostos antimicrobianos que permaneçam metabolicamente ativos no intestino, ser seguro para uso humano, não ter histórico patogenicidade e não esta relacionado com doenças como endocardite, não ter genes determinantes da resistência a antibióticos e, por fim, ter comprovação da eficácia por meio de ensaios em humanos (PHILIPPI et al., 2008).

Além dessas características, as culturas probióticas devem apresentar potencial para ser empregada na indústria de alimentos. Assim, essas devem

apresentar um bom crescimento, promover propriedades sensoriais adequadas ao produto, ser estáveis e viáveis durante o armazenamento e apropriadas para a produção industrial em larga escala, resistindo a condições de processamento como liofilização ou secagem (PHILIPPI et al., 2008).

Segundo Shah (2000), para eficiência da função do probiótico, é necessário uma ingestão mínima  $10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> em uma porção de 100g do produto, porém a ingestão diária recomendada é de ou superior  $10^8$  UFC, para compensar a redução que acontece no número de microorganismos viáveis durante a passagem pelo trato gastrointestinal.

Já a legislação brasileira determina que valores menores que  $10^8$  a  $10^9$  UFC na porção diária podem ser aceitos desde que sua eficácia seja comprovada e que a quantidade do probiótico, deve ser apresentada no rotulo e próxima ao local que o caracteriza com esse efeito (Brasil, 2002). E é necessário laudo de análise do produto comprovando a quantidade mínima viável do micro-organismo até o prazo final de validade e teste de resistência da cultura à acidez gástrica e aos sais biliares (Brasil, 2008).

Os benefícios gerados pelo consumo de produtos probióticos estão relacionados à capacidade de modular a defesa do hospedeiro, ao efeito direto sobre outros microorganismos, tornando-os importantes na prevenção e tratamento de infecções e restauração do equilíbrio da mucosa intestinal, melhoria do sistema imunológico, do metabolismo da lactose, redução do colesterol sérico e prevenção do câncer (OELSCHLAEGE, 2010).

### 3.3. Alimentos Probióticos

O consumo de bebidas e alimentos que contenham micro-organismos probióticos é uma tendência mundial crescente. Os produtos lácteos fermentados são os mais usados como matriz no desenvolvimento de probióticos para humanos, entretanto para atender essa demanda, vários produtos não lácteos têm sido desenvolvidos. Outros carreadores contendo probióticos recentemente desenvolvidos são: cápsulas, queijos, sorvetes, leite em pó, iogurtes, leite de soja, sucos de frutas e vegetais, produtos cárneos e a base de cereais (GRANATO et al., 2010).

Para a indústria de alimentos, os probióticos tem um alto potencial de uso, pois compete com bactérias patogênicas presente nos alimentos sendo capazes de eliminá-las (Coelho, 2009). Um exemplo são as bactérias pertencentes ao gênero *Lactobacillus ssp* que contribuem para a conservação de lácteos pela atividade antimicrobiana contra contaminantes e deteriorantes, inibindo a multiplicação de micro-organismos patogênicos como *Staphylococcus aureus* (BURITI; SAAD, 2007).

Melo (2016), reforça a força da indústria láctea em um estudo com o objetivo quantificar os produtos industrializados com probióticos, nos principais pontos de venda no Rio e da Grande rio. Esse estudo encontrou 44 tipos de produtos, mostrando uma boa variedade de marcas e tipos de produtos, além de combinações entre diferentes tipos de frutas e cereais, sendo 100% dos produtos achados compostos com proteínas lácteas. Dentre os produtos, foram encontrados leites fermentados, iogurtes, iogurtes com base em extrato de soja, sobremesas lácteas fermentadas e queijos.

Logo, os principais alimentos probióticos são os derivados lácteos, com destaque para os leites fermentados, sendo o iogurte o mais consumido, com o mercado tendo sido estimulado pelo aumento do envelhecimento da população e pela busca alimentos saudáveis e funcionais (ÖZER e KIRMACI, 2009).

### **3.4. Biomassa de Banana Verde**

A biomassa de banana verde é uma opção a ser acrescentada em leites fermentados adicionados de *Bifidobacterium ssp.* e *Lactobacillus ssp.*, devido à função do seu amido resistente como prebiótico, ou seja, não são digerível e que pode ser utilizado para promover a manutenção dessas bactérias no trato gastrointestinal (GALLINA, 2011). A banana (*Musa SSP.*), *Monocotylenoneae*, da família *Musaceae*, originária do extremo oriente e cultivada na maioria dos países tropicais é a fruta mais consumida do mundo. Com boa aceitação, é um alimento freqüente na dieta dos brasileiros, principalmente os de baixa renda, devido as características sensoriais e ao alto valor nutritivo, podendo suprir até 25% da ingestão diária de ácido ascórbico, além de ser fonte de carboidrato e minerais, como vitamina A e B, iodo, manganês, potássio e zinco (RANIERI, 2014).

A bananeira (Família das *Musáceas*), segundo dados do IBGE (2014), destaca-se na primeira posição do ranking mundial das frutas, com uma produção de 106,5 milhões de toneladas, onde o Brasil lidera o 5º lugar de maior produtor, sendo responsável por 6,9 milhões de toneladas desse total. A mesma também apresenta maior consumo per capita da fruta, superior a 20 quilos/ ano (OLIVEIRA et al, 2015).

Porém, do total de banana produzida nacionalmente, em algumas regiões pode haver uma grande perda entre o processo de colheita e venda, que é relacionada a técnicas inadequadas de colheita e pós colheita, sistema de transportes e armazenamento (IZIDORO et al., 2008).

Logo, com o objetivo de reduzir essa perda, a banana verde vem sendo considerada como um produto ideal para ser industrializado, seja em forma de polpa ou farinha, pois quando cozida perde tanino, responsável pela adstringência, e com isso consegue ser utilizada como espessante ou estabilizante em outros produtos. (IZIDORO et al., 2008).

A sua polpa quando verde é considerada um alimento com alegação de propriedades funcionais, pois apresenta alto teor de amido resistente, baixos teores de açúcares e compostos aromáticos, além de ser rica em flavonóides atuando na mucosa gástrica (OLIVEIRA et al., 2015). Podendo ser utilizada para a produção de alimentos, tipo bolo, cremes, massas, maionese, pães, patês, entre outros, sem alterar o sabor e melhorando a qualidade nutricional (RANIERI, 2014).

O amido resistente é caracterizado como a soma dos amidos, com os produtos de sua degradação não absorvidos ou digeridos no intestino delgado e tem características semelhantes a das fibras alimentares, podendo ser fermentando no intestino grosso, produzindo gases e ácidos graxos de cadeia curta. É a parte resistente a hidrólise pela enzima  $\alpha$ -amilase pancreática, o que faz com que não ocorra a digestão no intestino delgado, seguindo para o cólon. Esse processo gera benefícios ao organismo, pois atua como substrato para a flora intestinal (Moraes, C et al., 2015). O amido resistente também apresenta efeito prebiótico, ou seja, pode



servir como substrato para o crescimento de microrganismo probióticos (Walter, 2005).

Os ácidos graxos de cadeia curta gerados pela metabolização em sua maioria agem na prevenção de doenças inflamatórias do intestino, além de auxiliar na manutenção do epitélio intestinal. O amido resistente contribui também para maior excreção de nitrogênio pelo bolo fecal, reduzindo os riscos de câncer de colo de útero (THAMER, 2006).

Com isso, a utilização da biomassa ou farinha de banana verde em alimentos, que além de não promover alterações sensoriais de sabor ou odor, tem sido considerada importante para a alimentação, devido suas funções e benefícios a flora intestinal, auxiliando a melhora de fatores relacionados a desequilíbrios intestinais ligado a doenças, tanto inflamatórias quanto por estresse oxidativo (Scarminio, V et al., 2012).

## **4. Materiais e Métodos**

### **4.1. Caracterização do estudo**

Trata-se de um estudo de caráter experimental composto por duas etapas: (i)elaboração dos leites fermentados e (ii) determinação da sobrevivência de *Lactobacillus casei*.

### **4.2. Elaboração dos leites fermentados**

#### 4.2.1. Ativação da cultura de *Lactobacillus casei*

A cultura de *L. casei* será utilizada neste estudo na produção de leite fermentado. A cultura de *L. casei* fornecida na forma desidratada será ativada em leite desnatado reconstituído a 10% e incubada em estufa a 37 °C por 14 horas. A cultura ativa obtida será inoculada em leite desnatado reconstituído a 10% para obtenção do leite fermentado.

#### 4.2.2. Elaboração dos produtos

Para a elaboração do leite fermentado serão utilizados água mineral, leite em pó desnatado (Nestlé Mollico®), açúcar cristal, biomassa de banana verde (La Pianezza), essência de baunilha e cultura probiótica de *Lactobacillus casei* ativa em leite desnatado reconstituído a 10%.

Serão preparados quatro tratamentos, dentre os quais quatro apresentarão 10% de açúcar adicionados ao produto. Para cada uma das 4 formulações contendo 10% de açúcar, serão adicionadas diferentes porcentagens (0%; 5%; 10%; 15%) de biomassa de banana verde. Para cada tratamento serão preparados 2,5L da mistura para obtenção do leite fermentado. Uma quantidade de 250 gramas de leite em pó será reconstituída em 2500ml de água mineral. Após a reconstituição do leite em pó serão adicionados 250 gramas de açúcar cristal a quatro tratamentos. Posteriormente, serão acrescentadas as diferentes porcentagens de biomassa de banana verde e água mineral até que se complete o volume. Após a elaboração, as misturas serão autoclavadas a 121 °C por 15 minutos e após o resfriamento, serão inoculadas com a cultura ativa de *L. casei* (inoculo de 1%). Em seguida serão

homogeneizadas e incubadas em estufa a 37 °C por 14 horas. Após a obtenção dos leites fermentados cada tratamento receberá 12,5ml de essência de baunilha.

#### 4.2.3. Determinação da sobrevivência de *Lactobacillus casei*

A determinação da viabilidade de *Lactobacillus casei* nas formulações de leite fermentado será realizada durante 28 dias de estocagem refrigerada a 10 °C, nos dias 0, 7, 14, 21 e 28.

Amostras de 25 ml dos diferentes leites fermentados serão diluídas em água peptonada (0,1 %) e serão submetidas a seis diluições seriadas. As diluições seriadas selecionadas serão aliqüotadas (100 µl) em placas contendo agar MRS, sendo o plaqueamento realizado pela técnica *Spread plate*. As placas serão incubadas em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas. Após o período de incubação será determinado o número de Unidades Formadoras de Colônias por ml (UFC ml<sup>-1</sup>).

A determinação da sobrevivência dos *L. casei* será realizada de acordo com a metodologia preconizada pela *American Public Health Association*(APHA), como descrito no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (Silva et al., 2007).

#### 4.2.4. Determinação do pH

As determinações dos pHs das amostras de leite fermentado serão realizadas após a elaboração e durante o período de estocagem refrigerada por

28 dias, a cada 7 dias. Para a determinação do pH será utilizado um pHmetro, sendo o procedimento realizado de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).

## 5. Resultados e Discussão

A sobrevivência de *L. casei* em diferentes formulações de leite fermentado foi avaliada ao longo do período de 28 dias de estocagem a 10 °C (Figura 1).

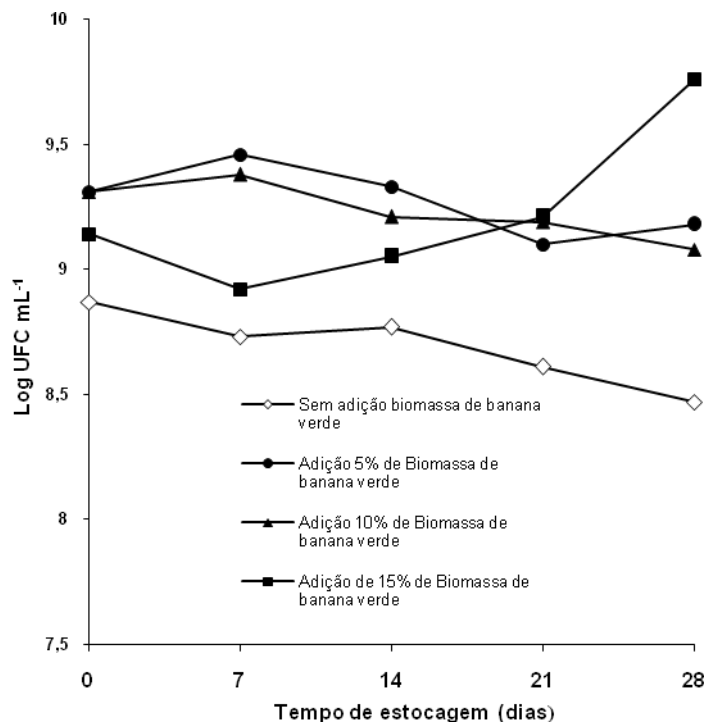


Figura 1: Sobrevivência de *Lactobacillus casei* em leites fermentados elaborados com 10 % de açúcar e com diferentes porcentagens de biomassa de banana verde.

O tamanho da população de *L. casei* nas diferentes formulações de leite fermentado foi em torno de 8 a 10 ciclos log UFC/ml. O tamanho da população de *L. casei* nas diferentes formulações apresentaram pequenas variações ao longo do

período de estocagem de 28 dias. As variações observadas podem estar associadas a variações que ocorreram ao longo da realização do procedimento de análise das amostras. A adição de biomassa de banana verde nas formulações pode ser um dos fatores que contribuíram com a variação dos resultados observados ao longo do período de estocagem. A adição de biomassa de banana verde pode ter dificultado a homogeneização do produto, e com isso permitido a formação de grumos de células em alguns pontos.

Apesar desta pequena variação observada na sobrevivência de *L. casei* ao longo dos 28 dias de estocagem, o tamanho da população de *L. casei* manteve-se em torno de  $10^8$  a  $10^9$  UFC/ml. Assim, observa-se que a adição de biomassa de banana verde na elaboração do leite fermentado permitiu um maior crescimento durante o período de fermentação do produto, e também não comprometeu a sobrevivência de *L. casei* ao longo do período de estocagem.

O leite fermentado com adição de 15 % permitiu maior crescimento de *L. casei* e também ao longo do período de estocagem, principalmente nos 21 ° e 28 ° dia de estocagem. O crescimento mais acentuado de *L. casei* na formulação com maior porcentagem de biomassa de banana verde pode estar associado ao metabolismo do amido resistente. O efeito prebiótico da biomassa de banana verde ocorre pela presença de amido resistente, o principal componente do fruto verde, podendo representar de 55 a 93% do teor de sólidos totais, segundo Zandonadi (2011). Esse efeito pode servir como substrato para o crescimento de microrganismo probióticos (Walter, 2005).

Os resultados obtidos em todas as formulações atendem a recomendação da legislação brasileira de alimentos probióticos, que determina que o produto deve ter entre  $10^8$  a  $10^9$  UFC/ml na porção diária e quando a baixo disso pode ser aceitos desde que sua eficácia seja comprovada (BRASIL, 2002).

A sobrevivência de algumas estirpes probióticas foi avaliada em leite fermentado adicionado de frutooligossacarídeos (Gallina, 2011). Neste estudo observou que a adição de frutooligossacarídeos teve efeito positivo no crescimento e sobrevivência de estirpes probióticas, principalmente as do gênero *Bifidobacterium*. O pesquisador deste estudo supõe que o efeito positivo da adição de frutooligossacarídeo estar associado ao efeito prebiótico, que tem um papel importante no crescimento do micro-organismo.

O monitoramento do pH foi também realizado durante 28 dias de estocagem a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 2).

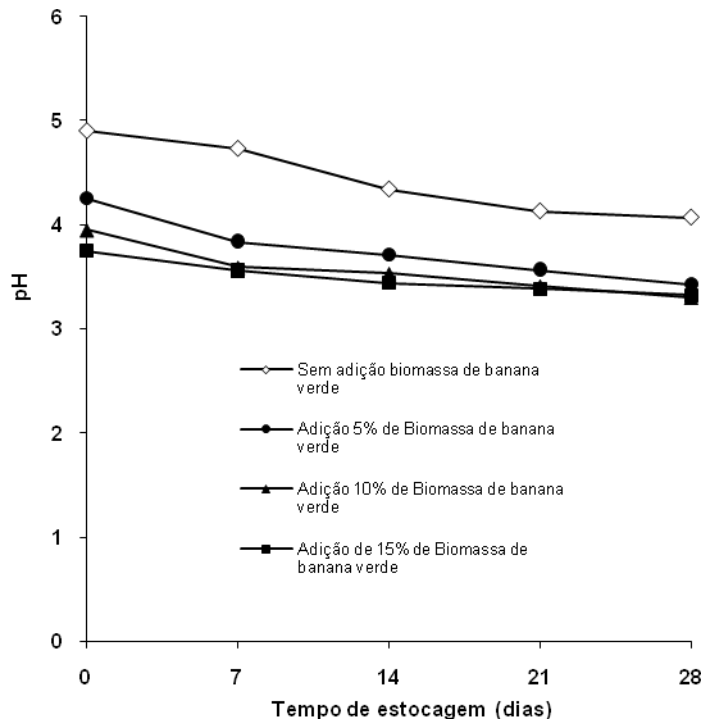


Figura 2: Valores de pH de leites fermentados com *L. casei* em diferentes formulações.

Segundo, Thamer & Penna (2005), o valor do pH, a baixo de 4,5, interfere diretamente na viabilidade de estirpes probióticas, visto que com o decréscimo do pH há redução no tamanho da população de *Lactobacillus* durante a estocagem.

Com relação a figura 2, observa-se que ao longo do período de estocagem há um pequeno decréscimo no valor do pH nas diferentes formulações. Este decréscimo observado é devido a produção de ácido láctico por *L. casei*, que continua mesmo em estocagem sob refrigeração. Além disso, observa-se que os resultados da determinação do pH são compatíveis com os resultados da determinação da sobrevivência.

E é possível perceber uma maior acidificação com o aumento do teor de biomassa de banana verde, o que é coerente também com o aumento da população de *L. casei*.

## **6. Conclusão**

Mesmo com as dificuldades levantadas por estudos em manter a viabilidade de probióticos em produtos durante toda a vida de prateleira, foi possível desenvolver uma formulação de leite fermentado probiótico com adição de biomassa de banana verde, com a viabilidade dentro do mínimo exigido pela legislação brasileira de alimentos. Assim, a biomassa de banana verde pode ser utilizada como ingrediente na elaboração de leite fermentado pela estirpe *L. casei*.



## Referências

1. ANTUNES, A. E. C. et al. Desenvolvimento de buttermilkprobiótico. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.1, 2007. p. 83-90. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612007000100015](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100015). Acesso em em 18 de novembro de 2016.
2. BOTELHO, L. **Isolamento e identificação de Lactobacillus e bifidobactérias em alimentos probióticos disponíveis no mercado brasileiro**. 2005. 244 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000366768>. Acesso 18 de novembro de 2016.
3. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Nº 46** de 23 de outubro de 2007: Regulamento técnico de identidade e qualidade de leites fermentados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2012/08/instru%C3%87%C3%83o-normativa-n%C2%BA-46-de-23-de-outubro-de-2007.pdf>. Acesso em 18 de novembro de 2016.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 02** de 07 de janeiro de 2002: Regulamento técnico de substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/02\\_02rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2002/02_02rdc.htm). Acesso em 18 de novembro de 2016.
5. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos, atualizado em julho de 2008. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno\\_lista\\_alega.htm](http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm). Acesso em 18 de novembro de 2016.
6. BURITI; Flávia C. A ; SAAD, Susana M. I. ; Bactérias do grupo Lactobacillus casei: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. **Arquivos latino americanos de nutrição**, v. 57, n. 4, p. 373 – 380. 2007.
7. CABALLERO-FRANCO, C.; KELLER, K.; DE SIMONE, C.; CHADEE, K. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.**, v.292, p.315-322, 2007. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16973917>. Acesso em em 18 de novembro de 2016.

8. CARVALHO M. **Isolamento e caracterização de bacteriocinas com potencial interesse na área alimentar**. 2015. Dissertação (Mestrado) – Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Portugal. Disponível em: <[http://repositorio.ipv.pt/bitstream/123456789/1510/1/Maria\\_Carvalho.pdf](http://repositorio.ipv.pt/bitstream/123456789/1510/1/Maria_Carvalho.pdf)>. Acesso em em 18 de novembro de 2016.
9. COELHO, Jamile C. **Elaboração de bebida probiótica a partir do suco de laranja fermentado com Lactobacillus casei**. 2009. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e tecnologia de alimentos) – Faculdade de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2009.
- 10.COSTA M, BALTHAZAR C, MOREIRA R, CRUZ A, CONTE C. Leite Fermentado: Potencial Alimento Funcional. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, N.16, 2013. p. 1387-1408. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/LEITE%20FERMENTADO.pdf>> Acesso em 18 de novembro 2016.
- 11.Dias AR, Vieira AR, Cunhas AGF, Hargreves S, Santos SGS, Botelho RBA, Zandonadi R. Massa de empada sem glúten e sem leite, enriquecida com biomassa de banana verde. **Nutrição Brasil**, v. 10, n.3, 2011. Disponível em <<http://fs.unb.br/nutricao/laboratorios/tecdie/wp-content/uploads/2012/10/Massa-de-empada-com-biomassa-de-banana-verde.pdf>> . Acesso 23 de novembro de 2016.
- 12.FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and agricultural commodities production**. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Acesso em 18 de novembro de 2016.
- 13.Gallina DA; Alvesa A, Trento F, Carusi J. Caracterização de Leites Fermentados com e sem Adição de Probióticos e Prebióticos e Avaliação da Viabilidade de Bactérias Lácticas e Probióticas Durante a Vida de Prateleira. **Inst. de Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v.13, n.4, 2011. p. 44-239. Disponível: <[http://www.ital.org.br/tecnolat/arquivos/artigos/caracterizacao\\_de\\_leites\\_fermentados.pdf](http://www.ital.org.br/tecnolat/arquivos/artigos/caracterizacao_de_leites_fermentados.pdf)>. Acesso em 18 de novembro de 2016.
- 14.Glanville J., King S., Guarner F., Hill C., Sanders M. E. A review of the systematic review process and its applicability for use in evaluating evidence for health claims on probiotic foods in the European **Union**. **Nutr. J.** v.14, 2015 Disponível em < Disponível em < <http://sci-hub.cc/10.1046/j.1471-0307.2003.00106.x>> Acesso em 23 de novembro de 2016>
- 15.Granato D, Branco G.F., Nazzaro F, Cruz A.G., Faria J.A.F. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v.9, p. 292-302, 2010.
- 16.Itsaranuwat P, Al-Haddad KSH, Robinson RK. The potential therapeutic benefits of consuming ‘health-promoting’ fermented dairy products: a brief update.

**Int J Dairy Technol.** v. 56, n. 4, 2003. Disponível em < <http://scihub.cc/10.1046/j.1471-0307.2003.00106.x>> Acesso em 23 de novembro de 2016>

17. IZIDORO D et al . Avaliação físico-química, colorimétrica e aceitação sensorial de emulsão estabilizada com polpa de banana verde. **Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)**, São Paulo, v. 67, n. 3, 2008. Disponível em: < <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/view/7127>>. Acesso em 18 de novembro de 2016.

18. MAZOCHI, V. et al. Logurte probiótico produzido com leite de cabra suplementado com *Bifidobacterium* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 6, p.1484-1490, 2010.

19. Melo T, Ribeiro-Alves, M, Lavinhas F, Rodrigues, I.A. Levantamento e caracterização dos produtos probióticos disponíveis no mercado varejista da região metropolitana do rio de janeiro. Revista **Rede de Cuidados em Saúde**, Rio de Janeiro, v. 10, n.1, p. 1-13, 2016.

20. Moraes C, Borges NA, Mafra D. Resistant starch for modulation of gut microbiota: Promising adjuvant therapy for chronic kidney disease patients. **Eur J Nutr.**, 2016. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26830416>>. Acesso em 10 de outubro de 2016

21. NAVARRO S.D, MAURO M.O, PESARINI J.R, OGO F.M, OLIVEIRA R.J. Resistant starch: a functional food that prevents DNA damage and chemical carcinogenesis. **Genetics and Molecular Research** vol.14, n.1, p. 1679-1691. Disponível em < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25867310>>. Acesso em 10 de outubro de 2016.

22. OELSCHLAEGER, T. A. Mechanisms of probiotic actions – A review. **Int. J. Med. Microbiol.**, v.300, p.57–62, 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19783474>> . Acesso em 18 de novembro de 2016.

23. OLIVEIRA D et al. Avaliação da qualidade de pão com adição de farinha e purê da banana verde. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal , v. 37, n. 3, 2015. p. 699-707. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452015000300699](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452015000300699)>. Acesso 18 de novembro de 2016.

24. ÖZER, B. H.; KIRMACI, H. A. Functional milks and dairy beverages. **Int. J. Dairy Technol.**, v. 63, n. 1, p. 1-15, 2009.

25. PHILIPPI, S. T. et al. Pirâmide dos alimentos: **Fundamentos básicos da nutrição**. Barueri, SP: Manole, 2008.

26. RANIERI L, DELANI T. **Banana verde (musa spp): obtenção da biomassa e ações fisiológicas do amido resistente**. Maringá, ISSN online 2178-2571, Vol.20, n.3, 2014. p.43-49. Disponível em

<[http://www.mastereditora.com.br/periodico/20141130\\_221712.pdf](http://www.mastereditora.com.br/periodico/20141130_221712.pdf)> Acesso: 30 de outubro de 2016.

27.SANTOS, R. B; BARBOSA, L. P. J. L; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**, Amapá, v. 1, n. 2, 2011. p. 26-38. Disponível em: <<https://periodicos.unifap.br/index.php/cienciaequatorial/article/view/562>>. Acesso 18 de novembro de 2016.

28.Scarminio V, Fruet AC, Witacenis A, Rall VL, Di Stasi LC. Dietary intervention with green dwarf banana flour (*Musa sp AAA*) prevents intestinal inflammation in a trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. **Nutr Res.** v.32, n.3, 2012. P 9-202. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22464807>>. Acesso 18 de novembro de 2016.

29.SHAH, N.P. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. **Journal of Dairy Science**, v.83, 2000. p. 894-907. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10791807>>. Acesso 18 de novembro de 2016.

30.SHI L, BALAKRISHNAN K, THIAGARAJAH K, ISMAIL M, YIN S. Beneficial Properties of Probiotics. **Tropical Life Sciences Research**, v.27, n.2, 2016. p.73–90. Disponível em <[http://www.tlsr.usm.my/tlsr27022016/27022016\\_EV06.pdf](http://www.tlsr.usm.my/tlsr27022016/27022016_EV06.pdf)>. Acesso em 10 de outubro de 2016.

31.SILVA, S. V. **Desenvolvimento de iogurte probiótico com prebiótico**. 2007. 107 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007. Disponível em: <<http://livros01.livrosgratis.com.br/cp049847.pdf>>. Acesso 18 de novembro de 2016.

32.Thamer GK, Penna BLA. Efeito do teor, açúcar e de frutooligossacarídeos sobre a população de bactérias em bebidas fermentadas. **Rev Bras Cien Farm.** v. 41, n.3, 2005. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-93322005000300013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322005000300013)> Acesso em 23 de novembro de 2016.

33.THAMER K, PENNA A. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.26, n.3, 2006. p.589-595. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v26n3/31761>>. Acesso 30 de outubro de 2016.

34.VIDAL A, DIAS D, MARTINS E, OLIVEIRA R, NASCIMENTO R, CORREIAM. A ingestão de alimentos funcionais e sua contribuição para a diminuição da incidência de doenças. **Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde**, Aracaju, v.1, n.15, 2012. p. 43-52.. Disponível em <<https://periodicos.set.edu.br/index.php/cadernobiologicas/article/view/284/112>> . Acesso dia 6 de novembro de 2016.

35. WALTER M, SILVA LP, EMANUELLI T. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v.35, n.4, 2005., p.974-980. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a41v35n4.PDF>> Acesso: 30 de outubro de 2016.