



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Campus Rio de Janeiro

Aline Lima Damasceno Batista

**LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO E PREBIÓTICO COM ADIÇÃO DE FARINHA DE BANANA
VERDE: ENTENDENDO O EFEITO PREBIÓTICO**

Rio de Janeiro- RJ

2015

Aline Lima Damasceno Batista

**LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO E PREBIÓTICO COM ADIÇÃO DE FARINHA DE BANANA
VERDE ORGÂNICA**

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr^o Adriano Gomes da Cruz

Rio de Janeiro- RJ

2015

Aline Lima Damasceno Batista

LEITE FERMENTADO PROBIÓTICO E PREBIÓTICO COM ADIÇÃO DE FARINHA DE BANANA VERDE: ENTENDENDO O EFEITO PREBIÓTICO

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro.

Data da aprovação:

Prof.^o Dr. Adriano Gomes da Cruz. (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Prof.^a Dr.^a Aline dos Santos Garcia Gomes

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Prof.^a Dr.^a Thais Souza Silveira

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Rafael Berrelho Bernini

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro – RJ

2015

I- AGRADECIMENTOS

À Deus por me dar todas as oportunidades dessa minha vida.

Aos meus pais, Rosa Maria Lima Damasceno Batista e Horácio de Oliveira Batista, e ao meu irmão, Horácio de Oliveira Batista Junior, que sempre me apoiaram e me dão todo o suporte para o que sou hoje.

Ao meu namorado Ramon Silva por todo amor e paciência que teve nesses anos todos.

Ao meu orientador Adriano Gomes da Cruz por toda amizade e orientações que me faz ser uma pessoa muito melhor do que eu era. Obrigada por tudo!

Aos professores do mestrado do IFRJ que me deram várias orientações, tanto nas aulas quanto nas conversas fora de sala de aula.

Aos queridos alunos de iniciação científica, em especial o meu muito obrigado à Elisa Toledo, Lucas Frank e Silva e Jeremias Moraes, pois sem vocês nada disso seria viável.

Aos meus colegas de classe agradeço por todos os momentos de alegrias, tensões e encontros que tivemos, e que teremos no futuro.

II- LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Viabilidade de <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> e <i>Bifidobacterium</i> nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde	35
Tabela 2	Valores de pH, proteólise e firmeza encontrados nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde	37
Tabela 3	Composição físico-química dos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde	39
Tabela 4	Valores de ácido láctico, ácido cítrico e ácido acético nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde.	41

III- LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Fluxograma do processamento do leite fermentado probiótico adicionado de farinha de banana verde 31

IV- LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Possíveis prebióticos e suas funções	21
Quadro 2	Benefícios da ingestão de leites fermentados	23

V- LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

LF	Leite Fermentado
FBV	Farinha de Banana Verde
UFC	Unidade Formadora de Colônia
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EPS	Exopolissacarídeos
FOS	Frutooligossacarídeo
FAO	Food and Agriculture Organization of The United Nations
WHO	World Health Organization

BATISTA, D. L. A. Leite Fermentado Probiótico Adicionado de Farinha de Banana: Entendendo o Efeito Prébiótico. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Maracanã. Cidade do Rio de Janeiro, RJ, 2015.

VI- RESUMO

A ingestão de alimentos funcionais é crescente em todo mundo, em especial com relação aos produtos lácteos probióticos e prebióticos, que além da tradicional função de prover os nutrientes necessários para o metabolismo das funções vitais humanas, ajudam na prevenção de doenças. O objetivo geral deste trabalho é avaliar os efeitos de um prebiótico no processamento de leite fermentado probiótico adicionado de farinha de banana verde orgânica, ao longo de 21 dias de estocagem. Leites fermentados foram processados usando cultura mista "SAB 440 A" composta por cepas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium*, 2% m/v – aproximadamente 6 log UFC/g de *Streptococcus thermophilus* e 7 log de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*). Foi adicionado de farinha de banana verde orgânica nas seguintes proporções: 0, 1, 3, 5 % p/v e estocagem refrigerada a 5°C durante 21 dias. Análises microbiológicas (culturas lácticas e probióticas) e físico-químicas (pH, firmeza, proteólise, ácido láctico, ácido acético e ácido fórmico) e de macronutrientes (sólidos totais, proteína, gordura e amido resistente) foram realizadas. Os resultados mostram que a adição de farinha de banana verde afeta os parâmetros de qualidade intrínseco do leite fermentado adicionado de culturas probióticas, com a ressalva de haver um limite no que diz respeito a atividade metabólica da cultura probiótica bem como na produção dos ácidos orgânicos. De forma geral, podemos dizer que do ponto de vista tecnológico a adição de farinha de banana verde deve ser realizada no nível de 1,5% peso por volume de leite.

Palavras chaves: leite fermentado, farinha de banana verde, probióticos.

BATISTA, D. L. A. Leite Fermentado Probiótico Adicionado de Faria de Banana: Entendendo o Efeito Prébiótico. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), Campus Maracanã. Cidade do Rio de Janeiro, RJ, 2015.

VII- ABSTRACT

Ingestion of functional foods is growing worldwide, especially with regard to dairy products probiotics and prebiotics, which besides the traditional function of providing the necessary nutrients for the metabolism of human vital functions, aid in the prevention of disease. The aim of this study was to evaluate the effects of a prebiotic in the processing of fermented probiotic milk added to organic green banana flour, over 21 days of storage. Fermented milks were processed using mixed culture "SAB 440" comprising *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus Acidophilus Bifidobacterium*, 2% m / v - about 6 log CFU / g *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus 7 log acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*). It was added to the organic green banana flour in the following proportions: 0, 1, 3, 5% w / v refrigerated storage at 5 ° C for 21 days. Microbiological analyzes (lactic and probiotic cultures) and physico-chemical (pH, securely, proteolysis, lactic acid, acetic acid and formic acid) and macronutrients (total solids, protein, fat and resistant starch) were performed. The results show that adding green banana flour affects the intrinsic quality parameters of the fermented milk added probiotic cultures, with the proviso that there is a limit as regards the metabolic activity of the probiotic culture and the production of organic acids. In general we can say that from a technological point of view the addition of green banana flour should be performed at the level of 1.5% weight by volume of milk.

Key words: fermented milk, green banana flour, probiotics.

SUMÁRIO

RESUMO	09
ABSTRACT	10
1 - INTRODUÇÃO.....	12
2 - OBJETIVO	14
3 - JUSTIFICATIVA	14
4 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
4.1 – ALIMENTOS FUNCIONAIS	15
4.2 – PROBIÓTICOS	18
4.3 – PREBIÓTICOS	19
4.4 – LEITE FERMENTADO PREBIOTICO E PROBIÓTICO	22
4.5 – FARINHA DE BANANA VERDE ORGÂNICA	26
5 – MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1 – FARINHA DE BANANA VERDE ORGÂNICA	30
5.2 - PROCESSAMENTO DO LEITE FERMENTADO	30
5.3 – ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	32
5.3.1 – pH	32
5.3.2 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	32
5.3.3 – AMIDO TOTAL E AMIDO RESISTENTE	32
5.3.4 – FIRMEZA	32
5.3.5 – ATIVIDADE PROTEOLÍTICA	32
5.3.6 – PRODUÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS	33
5.4 – ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	33
5.5 – ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
7 – CONCLUSÃO	41
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

Probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, trazem benefícios para a saúde do hospedeiro de acordo com a Food and Agriculture Organization of United Nations / World Health Organization (FAO/WHO, 2001). Paralelamente, um alimento probiótico é definido como um produto processado que contém micro-organismos probióticos viáveis em um meio adequado e em concentração suficiente (SAXELIN *et al*, 2003). Isso significa que a viabilidade e a atividade metabólica desses micro-organismos benéficos devem ser mantidas durante todas as fases e operações do processamento do alimento, desde a sua elaboração até a sua ingestão pelo consumidor, sendo também capaz de sobreviver no trato gastrointestinal (SANZ, 2007).

Na literatura científica, populações de 10^6 - 10^7 Unidade Formadora de Colônia por grama (UFC.g⁻¹) no produto final são sugeridas como sendo quantidades terapêuticas mínimas de culturas probióticas em alimentos processado (TALWALKAR *et al*, 2004), atingindo 10^8 - 10^9 UFC providos por um consumo diário de 100g ou 100 mL do alimento, beneficiando, assim, o ser humano (JAYAMANNE e ADAMS, 2006). No Brasil, a presente legislação determina que a quantidade mínima viável da cultura probiótica deve estar entre 10^8 e 10^9 UFC por dia, ou seja, por porção de produto e que a quantidade de micro-organismos presentes no produto deve constar no seu rótulo (ANVISA, 2008).

Já os chamados “Prebióticos” são definidos, de acordo com a legislação brasileira, como todo ingrediente alimentar não digerível que afeta de maneira benéfica o organismo por estimular de maneira seletiva o crescimento ou atividade de número limitado de bactérias no cólon. De acordo com FAO/WHO (2007) “um prebiótico é um componente alimentar não viável que confere benefícios à saúde do hospedeiro associada à modelação da microbiota”. Desta forma bactérias que já possuem histórico de benefícios à saúde, tornam-se predominantes. Podem-se citar como exemplos de prebióticos alguns alimentos como fibras, féculas e oligossacarídeos não digeridos, estes muito utilizados em iogurtes (CAPRILES *et al*, 2005).

Leites fermentados constituem os principais representantes de inserção de culturas probióticas e ingredientes prebióticos em todo o mundo, com mercado consumidor sólido, e que representa grande parte do quantitativo financeiro do mercado dessa classe de produtos. Recentes dados estimam que o mercado de iogurtes probióticos na Europa está avaliado em um bilhão de euros (SAXELIN, 2008). Na China, 10-20% dos iogurtes produzidos industrialmente contém cepas probióticas em sua formulação (PATTOM, 2007).

Dentre os leites fermentados, o iogurte é um produto fermentado elaborado com leite enriquecido com alto teor de sólidos usando uma mistura simbiótica de dois microrganismos: o *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* (VEDAMUTHU, 1991).

Durante a fermentação, o *S. thermophilus* cresce primeiro, rapidamente, utilizando aminoácidos essenciais produzidos pelo *L. bulgaricus*. Em retorno, o *S. thermophilus* produz ácido láctico (homofermentativo) reduzindo o pH para a faixa ótima de crescimento do *L. bulgaricus* (LOURENS- HATTINGH, 2001). Com a redução do pH do leite, o ponto isoelétrico da caseína é alcançado resultando em uma coagulação e formação de uma estrutura de gel que é o iogurte. Essa estrutura pode então ser quebrada (iogurte batido) ou não (iogurte firme) e adicionado de frutas e outros ingredientes (LOURENS- HATTINGH, 2001).

O processamento de leites fermentados suplementados com microrganismos probióticas exige a necessidade de cuidado constante com as etapas existentes durante a fabricação do produto para manterem sua viabilidade, tornando o produto funcional. Fala-se em três grandes adversidades (estresses) enfrentadas pelas bactérias probióticas em iogurtes: o estresse ácido, causado pela contínua queda do pH do produto ao longo da estocagem (pós-acidificação), o estresse oxidativo, causado pela exposição ao oxigênio que permeia através das embalagens plásticas e o estresse pelo frio, causado pela exposição às baixas temperaturas advindas da estocagem refrigerada (GRANATO *et al.*, 2010). Durante o processamento do iogurte o *S. thermophilus* consome todo o oxigênio e exerce sua função no processo fermentativo, que é incorporado nas etapas de homogeneização e inoculação das culturas lácticas. Contudo, haverá reincorporação do oxigênio nas etapas de rompimento do gel (iogurte batido) e no enchimento, que permanece de forma contínua ao longo da estocagem do produto, na medida em que são utilizadas embalagens plásticas de permeabilidade variável ao oxigênio (TALWAKAR & KAILASAPATHY, 2004).

De acordo com TRAVAGLINI *et al.*, 1993, a indústria alimentícia está se utilizando da estratégia de aproveitamento integral dos produtos utilizados em linha, como por exemplo frutas, que são utilizadas cascas e sementes para fabricação de farinha, licor, compostas, geléias. No Brasil, a banana por ser um alimento abundante e pela sua perecibilidade é um dos frutos mais indicados para os variados tipos de processamento. O país possui destaque no cenário mundial, com produção de sete milhões de toneladas e área plantada de 505 mil hectares, o que coloca o país em segundo lugar em produção e área de colheita (AGRIANUAL, 2007).

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é avaliar os efeitos prebióticos na adição da farinha de banana verde orgânica, no processamento de leite fermentado probiótico ao longo de 21 dias de estocagem.

Os objetivos específicos são avaliação dos parâmetros intrínsecos de qualidade do produto verificado pelo monitoramento dos seguintes parâmetros: pH; proteólise; ácidos orgânicos e firmeza. Também serão realizadas análises microbiológicas das culturas lácticas e probióticas para obter informações mais específicas dos potenciais efeitos da adição do prebiótico na formulação de leite fermentado probiótico.

3. JUSTIFICATIVA

A ingestão de alimentos funcionais é crescente em todo mundo, em especial com relação aos produtos lácteos probióticos e prebióticos, que além da tradicional função de prover os nutrientes necessários para o metabolismo das funções vitais humanas, ajudam na prevenção de doenças. Por outro lado é crescente o consumo de alimentos orgânicos em todo o mundo dado a conscientização do consumidor diante dos benefícios oriundos da ingestão desse tipo de alimento aliado à recusa por alimentos processados com altos níveis de agrotóxicos e compostos químicos. Nesse contexto o oferecimento de um alimento com benefícios simultâneos de adição de culturas probióticas e originados do cultivo orgânico pode ter um apelo diferenciado para consumidores que buscam alimentos com benefícios a saúde.

Para conferir benefícios à saúde do consumidor, porém torna-se necessário que exista viabilidade das bactérias probióticas e para isto, devem estar presentes em nível mínimo estabelecido pela legislação vigente. Adicionalmente, a concentração ótima da farinha de banana verde orgânica, ingrediente prebiótico a ser adicionada na formulação, deve ser avaliada, para que não exista mínima interferência nos parâmetros tecnológicos intrínsecos do produto bem como a formulação obtida possa ser viável do ponto de vista econômico. Dessa forma, a proposta desse trabalho apresenta relevância científica e industrial.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais são os que contêm (ou são adicionados) de um componente com um efeito positivo de saúde ou os que eliminam um componente com valor negativo. Um dos componentes que podem ser adicionados é o amido resistente, amplamente utilizado como um ingrediente funcional especialmente em alimentos dietéticos com alto nível de fibra (MIKULÍKOVÁ, MASÁR, & KRAIC, 2008). Estes alimentos são usados para prevenir diversas patologias, tais como câncer de cólon, diabetes ou obesidade. A obesidade é uma doença complexa, com dimensões sociais e psicológicas graves, que afeta virtualmente todas as faixas etárias e socioeconômicas (TRASANDE *et al.*, 2009) e que corre o risco de sobrecarregar os países desenvolvidos e em desenvolvimento (KELAHHER *et al.*, 2008). Diluir as calorias de uma dieta com frutas, vegetais e grãos é considerado uma possível forma de combater a obesidade (PÉREZ- ALVAREZ, FERNÁNDEZ- LÓPEZ, E SAYAS - BARBERÁ, 2003), uma vez que todos eles contêm grandes quantidades de fibras e água que diluem a energia metabolizável contido por volume de alimentos (KEENAN *et al.*, 2006).

Alimentos prebióticos são classificados na categoria de alimentos funcionais e representam uma parte significativa deste mercado. O mercado de prebióticos em alimentos está crescendo rapidamente em todo o mundo. Em 2007, já havia mais de 400 produtos alimentícios prebióticos sendo comercializados (MÄKELÄINEN, *et al.*, 2009).

HOMAYOUNI *et al.*, (2014) afirma que uma crescente demanda por alimentos funcionais contribui para o fato de que a indústria de alimentos está constantemente à procura de substâncias, especialmente fibras dietéticas, que possam ser adicionadas aos alimentos como é o caso do amido resistente que é uma fibra dietética ideal e tem valores muito nutritivos. Faz-se necessária ingestão de 20 (vinte) gramas por dia para melhorar o sistema intestinal humano. O autor desta revisão avaliou que muitos estudos têm demonstrado que pode ser utilizados em uma grande variedade de produtos alimentares, devido às propriedades únicas de amido resistente, como cor branca, sabor suave, tamanho fino de partícula e alta resistência.

Foi também avaliado por HOMAYOUNI *et al.*, (2014) que novos métodos devem ser desenvolvidos para produzir amido resistente de fontes naturais em maior eficiência do que os quimicamente modificados, pois os efeitos dos novos tratamentos (irradiação de microondas, ultra-som, de alta pressão hidrostática, de impulsos de campos elétricos, etc) sobre a formação de amido resistente devem ser considerados. Além disso, outros produtos alimentares devem ser considerados para serem enriquecidos com amido resistente, especialmente na microencapsulação de produtos não lácteos. Como resultado, a quantidade de prebiótico amido resistente, aceitação pelos consumidores e as preocupações econômicas devem ser levados em conta na concepção de novos produtos.

De acordo com ÖTLES, S. & OZGOZ, S. (2014) em estudo afirmam que a fibra dietética é um carboidrato que resiste à digestão e absorção e podem ou não podem ser submetidos à fermentação microbiana do intestino grosso, correlacionado com os possíveis benefícios para a saúde apesar de constituída por diversos componentes diferentes, no entanto, alguns são de particular interesse e incluem arabinosilanos, inulina, β -glucanos, pectina, farelos e amidos resistentes. Estes componentes individuais de fibras dietéticas têm mostrado um papel importante na melhoria da saúde humana, embora mais pesquisas sejam necessárias para entender melhor os mecanismos envolvidos. Um alto nível de ingestão de fibras tem efeitos de proteção à saúde e benefícios doença-reversão. Os autores ainda concluem que pessoas que consomem quantidades generosas de fibras alimentares, em comparação com aqueles que têm ingestão mínima de fibra, apresentam menor risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, hipertensão, diabetes, obesidade e algumas doenças gastrointestinais, além de melhorar os valores de lipoproteínas no soro, reduz a pressão arterial, melhora o controle da glicose no sangue para diabéticos, auxilia na perda de peso e melhora a regularidade.

As tendências atuais e novas necessidades de consumo continuam a gerar alimentos funcionais inovadores e de tecnologias de processamento de alimentos. O crescimento rápido do setor de alimentos funcionais é estimulado pela autoconsciência do consumidor, visto por dados demográficos do envelhecimento e escalada dos custos de saúde. Ingredientes derivados de frutas e bioativos continuam a ser pilares do mercado de alimentos funcionais, por causa de seus benefícios para a saúde do consumidor. Conceitos de alimentos funcionais serão aqueles submetidos a uma extensa avaliação da aceitação do consumidor, bem como a eficácia e segurança, por meio de testes em animais e humanos de prova de conceito para as vantagens na saúde. Uma abordagem estruturada para a concepção e desenvolvimento de produtos funcionais é essencial para garantir o sucesso no mercado. Maximizar as interações sinérgicas entre os ingredientes bioativos e outros componentes alimentares no formato de alimentos selecionados durante o processamento e armazenamento de alimentos é a chave para inovações de alimentos nesta área de alimentos funcionais (SUN-WATERHOUSE, 2011)

4.2. PROBIÓTICOS

Segundo SZAJEWSKA *et al* (2006), para um organismo ser considerado probiótico ele deverá atender os seguintes critérios: ter origem humana, não ser patogênico, ser resistente ao processamento, ser estável e permanecer viável após exposição aos sucos gástricos, aderir a célula epitelial, ser capaz de persistir no trato gastrointestinal, e ser capaz de influenciar atividade metabólica local.

Inúmeros benefícios à saúde são adquiridos pela ingestão de alimentos contendo culturas probióticas, sendo alguns já provados cientificamente e outros necessitando, ainda, de estudos mais aprofundados. Os principais efeitos benéficos à saúde relacionados aos probióticos são: atividade antimicrobiana, prevenção e tratamento de diarreias, alívio dos sintomas de intolerância a lactose, atividades antimutagênicas e anticarcinogênicas, estímulo do sistema imunológico, melhora da saúde urogenital, alívio da constipação, otimização de efeito de vacinas, tratamento de resfriados e infecções de inverno (SHAH, 2007).

Bactérias probióticas têm sido recomendadas para o tratamento de dermatites tópicas, enterocolites, colites pseudomembranosas, doenças hepáticas crônicas, doenças alérgicas e alergias alimentares (REIFF & KELLY, 2010). É importante mencionar que os efeitos de promoção de saúde dependem da linhagem/cepa presente na formulação do produto e que não existe uma única cepa probiótica capaz de conferir todos os benefícios recentemente reportados (SHAH, 2007). STEFE *et al.*,(2008), avaliaram que os probióticos possuem vários efeitos benéficos à saúde dentre eles: equilíbrio bacteriano intestinal, redução de níveis de colesterol, diminuição de casos de diarreia, queda de risco de desenvolvimento de câncer, estímulo de produção de vitaminas, melhora da resposta imune, melhor absorção de alguns minerais, alívio de sintomas de constipação, maior aproveitamento da lactose e logo melhoras dos sintomas dos intolerantes à mesma.

Durante um tratamento de estudo, as bactérias probióticas foram capazes de sobreviver no ambiente gástrico, bem como à exposição da bile e de suco pancreático no intestino delgado superior para exercer efeitos benéficos no intestino delgado e do cólon inferior. Porém não há dados concretos sobre efeitos imunológicos benéficos a partir de células mortas. Além disso, as bactérias probióticas colonizam camada de muco do intestino, onde podem afetar o sistema imunológico intestinal, deslocar patógenos entéricos, fornecer antioxidantes e antimutagênicas, e causar muitos outros possíveis efeitos do processo de sinalização celular (MOTTET & MICHETTI, 2005).

Os principais probióticos utilizados em matrizes alimentares são, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paraca sei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Saccharomyces boulardii*, *Propionibacterium freudenreichii*. No intestino esses probióticos promovem inúmeras

vantagens como proteção contra proliferação de microrganismos patogênicos, efeito imunomodulador, restauração da permeabilidade intestinal, produção de nutrientes, a partir dos alimentos, oriundos da dieta, que serão utilizados pelo organismo, como as vitaminas (MORAIS & JACOB, 2006).

De acordo com KANMANI, P. *et al* (2013), a adição de bactérias probióticas é utilizada em várias matrizes, como na indústria de alimentos, fazendas de camarão e na chamada indústria da saúde, o que cria um impacto nesta área de pesquisa. As características de segurança, funcionalidade e tecnologia dos probióticos foram avaliadas pelo autor. Substância antimicrobiana como bacteriocinas, substâncias polimérica como exopolissacarídeos (EPS), biosurfactantes são amplamente utilizados em indústria de frutos do mar. Além disso, cepas de bactérias produtoras de ácido láctico foram relatadas em produção de antioxidantes que são capazes de seqüestrar os radicais livres como o superóxido e radicais hidroxila.

No estudo de ÇAKMAKCI *et al* (2012) foi investigado a possibilidade de utilização de bactérias probióticas (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) na produção de iogurte misturado à marmelada de banana para a fabricação de um novo alimento funcional, e concluíram que além das culturas probióticas testadas possuem um potencial para contribuir na tecnologia de produção de iogurte com sabor de frutas, as amostras de iogurte probiótico tiveram valores de 10^6 log UFC /g e cresceram até o dia 7 de armazenamento a 4°C. Após 7 dias, as qualidades sensoriais começaram a diminuir obtendo-se as maiores pontuações sensoriais no iogurte controle e em iogurtes produzidos com *Bifidobacterium bifidum*. Vinderola *et al* (2000) também afirmaram que a contagem da microflora probiótica diminui durante o armazenamento, e que a velocidade desta perda da viabilidade celular depende do tipo de iogurte e o uso do fermento natural.

4.3. PREBIÓTICOS

Para SAKO & TANAKA (2011a) prebiótico é definido como:

“um ingrediente alimentar não digerível que beneficemente afeta o hospedeiro por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de uma ou um número limitado de bactérias no cólon que podem melhorar a saúde do hospedeiro”.

Como pré-requisito de um agente prebiótico, o ingrediente alimentar não deve ser nem degradado nem absorvido no trato intestinal superior e ser um substrato seletivo para um número limitado de bactérias benéficas; assim, alterar o equilíbrio da microflora intestinal em favor de uma composição mais saudável (FAO/WHO, 2011). Enquanto carboidratos, proteínas, lipídeos, e outros componentes menores de alimentos como vitaminas e sais minerais que são fornecidos e não absorvidos pelo do intestino delgado podem ser candidatos para prebióticos, apenas os carboidratos não digeríveis de diferentes unidades de monossacarídeos com um comprimento de cadeia relativamente curta são reconhecidos e estabelecidos até agora como agentes prebióticos (FAO/WHO, 2011).

Prebióticos apresentam resistência às importantes enzimas do trato digestivo do organismo humano (salivar, pancreática e intestinais), não sofrem qualquer tipo de hidrólise ou absorção no intestino delgado e alteram a microbiota local, pois substituem pela microbiota saudável. Destacam-se entre essas substâncias a inulina, que contém duas a sessenta unidades de frutose, e o frutooligossacarídeo (FOS), que é um oligossacarídeo não digerível que contém de duas a nove unidades de frutose, ligadas ou não a uma unidade de glicose terminal (SANTOS *et al.*, 2006).

O FOS é fermentado por bifidobactérias através da enzima β -fructosidase e sintetizam inulinases para degradação de inulina (GOMIDES, 2006). Bactérias conhecidas como putrefativas, *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis*, normalmente encontradas em microbiotas podem formar algumas substâncias tóxicas que fazem efeito maléfico, por isso se faz importante a ingestão de ingredientes prebióticos para renovação de uma microbiota saudável (SANTOS *et al.*, 2006).

A introdução de compostos funcionais, como prebióticos na dieta parece ser uma alternativa atrativa para melhorar a qualidade de vida evitando a obesidade, a hipersensibilidade, doenças vasculares e doenças degenerativas. Além disso, no estudo é debatido que os prebióticos irão substituir os antibióticos utilizados como promotores de crescimento em apiário, na pesca, avicultura e pecuária. O significado clínico dos prebióticos ainda precisa ser esclarecido, e as alegações de eficácia comprovada e mecanismo subjacente decodificado (PATEL & GOYAL, 2012).

Foram apontados os seguintes resultados com a ingestão dos prebióticos: bifidobactérias têm seu crescimento estimulado no intestino o que intensifica o sistema imunológico, melhora na

flora intestinal, previne diarreias ou constipação por alteração da microflora; diminuição do desenvolvimento de um câncer de cólon; redução dos níveis de lipídeos séricos; controle de tolerância à glicose e também da produção de produtos de putrefação ser suprimida (STEFE *et al.*,2008).

Prebióticos têm um efeito significativo sobre a saúde humana e possuem várias possibilidades para a incorporação em diversos tipos de alimentos. O seu papel é desempenhado por carboidratos fermentáveis, que estimulam, preferencialmente, o crescimento de bactérias probióticas (bifidobactérias e bactérias produtoras de ácido láctico), melhorando assim o sistema gastrointestinal e o imunológico. Além disso, os prebióticos têm demonstrado um aumento da absorção de cálcio e de magnésio, influenciando nos níveis de glicose no sangue e melhorando o perfil lipídico. Porém, prazos longos com ensaios clínicos são necessários para confirmar os benefícios de saúde de prebióticos em humano (AL-SHERAJI *et al*, 2013).

Diferentes prebióticos (por exemplo, lactulose, inulina, β -glucana, lactitol, rafinose, maltodextrina, e verbascose) têm sido usados como suplementos na produção de alimentos lácteos fermentados para melhorar o crescimento e as atividades de selecionadas cepas de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Compostos prebióticos podem afetar as propriedades tecnológicas de produtos que os contêm, desde a viabilidade dos probióticos dentro do produto até o momento do consumo, o perfil sensorial, características físico-químicas, reológicas e também econômicas. Os produtos lácteos, especialmente o leite fermentado (como iogurte, kefir, bebidas à base de leite fermentado, queijos fermentados, sorvete e creme azedo fermentado) têm sido o veículo mais popular para carrear probióticos para o organismo, devido à sua boa compatibilidade com microrganismos probióticos, seus perfis sensoriais agradáveis e atraentes, bem como seus hábitos de consumo elevados em todo o mundo (KORBKAND, MORTAZAVIAM, IRAVANI, 2011).

SAKI & TANAKA (2011b) indicam que o melhor efeito de um prebiótico é melhorar o equilíbrio da microflora intestinal, aumentando o número de bactérias benéficas e diminuindo os de bactérias potencialmente prejudiciais. Nas últimas duas décadas têm sido descritos um número substancial de ingredientes alimentares que definitivamente ou, eventualmente, exercem efeitos prebióticos. A grande maioria deles até agora são carboidratos de cadeia curta que não são absorvidos ou são mal digeridos pelas enzimas humanas, e são muitas vezes chamados de oligossacarídeos não digeríveis.

O Quadro 1 mostra alguns possíveis prebióticos e suas funções para tal definição, verificada em estudo de SAKI & TANAKA (2011b):

POSSÍVEL PRÉBIOTICO	MECANISMO
Lactulose	Não é hidrolisada por enzimas digestivas humanas e é preferencialmente utilizada por bifidobactérias e lactobacilos, bem como bacteróides e por algumas estirpes de clostrídios e cocos Gram-positivos que habitam o intestino humano
Poliol	Polióis dissacarídeos são bons substratos para a fermentação com bactérias do cólon
Galactooligossacarídeos	Produzidas a partir da lactose, não é digerida por enzimas digestivas humanas, mas são facilmente fermentadas no cólon
Fructooligossacarídeos	Efeito bifidogênico e outros efeitos pré-bióticos como diminuição do pH no cólon, redução de bactérias potencialmente prejudiciais, substâncias redutoras de putrefação, e melhora no hábito de fezes.
Xylooligossacarídeo	Efeito bifidogênico in vivo tem sido demonstrado em um par de estudos em seres humanos com alívio da constipação e estimulação da absorção de minerais
Quitina	Efeitos benéficos sobre a microflora intestinal com atividades imunomoduladoras e antimicrobianas
Fructanos	Melhora do hábito intestinal, redução da fermentação no intestino grosso, melhora na absorção de cálcio e de magnésio, e redução de lipídios total no soro e colesterol
Amido Resistente	Efeito bifidogênico com maior excreção fecal de bifidobactérias

(SAKI & TANAKA, 20011b)

Alguns aspectos tecnológicos (de viabilidade, perfis sensoriais, características físico-químicas, reológicas e econômicas) dos prebióticos em produtos lácteos probióticos foram

avaliados e visto que os prebióticos poderiam se diferenciar nos fatores como: tipo, pureza, comprimento de cadeia, porcentagem, tipos de micro-organismos probióticos, especificações de formulação de produtos (tais como pH, acidez titulável, leite teor de sólidos sem gordura e teor de gordura), e condições de armazenagem podem ser envolvidos na eficácia. Por isso, investigações complementares são necessárias para alcançar resultados mais consistentes para prebióticos e probióticos que são usados regularmente (MOHAMMADI & MORTAZAVIAN, 2011).

4.4. LEITE FERMENTADO PREBIÓTICO E PROBIÓTICO

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, Instrução Normativa nº 46 de 23 de outubro de 2007, “entende-se por Leites Fermentados os produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidas por coagulação e diminuição do pH do leite, ou reconstituído, adicionado ou não de outros produtos lácteos, por fermentação láctica mediante ação de cultivos de micro-organismos específicos”. Além disso, define iogurte como

“produto incluído na definição de leites fermentados cuja fermentação se realiza com cultivos protosimbióticos de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus debrueckii* subsp. *bulgaricus*, aos quais, de forma complementar, outras bactérias ácido-lácticas podem acompanhar devido à sua atividade, que pode contribuir para a determinação das características do produto final”.

Caracteriza-se o iogurte conforme sua consistência: firme, pastosa, semi-sólida ou líquida; conforme sua cor: branca ou de acordo com a substância alimentícia e/ou aromatizante/saborizante adicionada. Também informa o teor de acidez (g de ácido láctico/100g) que varia entre 0,6 a 1,5 e o número de bactérias lácticas totais que deve ser na grandeza de 10^6 - 10^7 UFC/g até a data da validade do produto (BRASIL, 2007).

O principal açúcar do leite, a lactose, é fonte de energia para os microrganismos tanto probióticos como da cultura mãe, e as proteínas do leite desempenham papel importante na formação do coágulo e, portanto, a consistência e a viscosidade do iogurte final são proporcionais à concentração de proteínas iniciais presentes no leite (TAMIME & ROBINSON, 2007). Atualmente, é comum na fabricação de leites fermentados a utilização de ingredientes além do leite e das culturas starters básicas, como leite em pó, para aumentar o teor de sólidos, açúcar para diminuir a sensação de acidez, frutas, aromas, corantes, emulsificantes e estabilizantes para melhorar a textura e diminuir a sinérese, que é uma característica indesejável no produto pelos consumidores.

Leites fermentados constituem-se em principal veículo para adição de bactérias probióticas, devido à reputação saudável que existe na mente dos consumidores bem como a

existência prévia de uma etapa de fermentação, na qual facilitam adição de culturas adjuntas como microrganismos probióticos (GRANATO *et al.*, 2010).

Os benefícios da ingestão de leites fermentados são verificados em diversas pesquisas, como é mostrado no Quadro 2:

BENEFÍCIOS	VERIFICAÇÃO	AUTOR
REDUÇÃO NOS CASOS DE DIARRÉIAS	Diminuição nos episódios de diarréias em pacientes no tratamento de radioterapia.	DELIA <i>et al</i> , (2007)
	Cerca de 52% do total dos indivíduos estudados tiveram o benefício.	SAZAWAL <i>et al.</i> , (2006)
	Devido ao mecanismo de ação dos probióticos eles podem ser considerados bactericidas, pois há produção de ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrogênio e diacetil, que inibem atividade de microrganismos considerados patogênicos.	GUARNER <i>et al</i> (2011) E CAMILLERI (2006)
	Regulação de receptores opióides e canabióides das células epiteliais intestinais que regulam a dor (cólicas) em pessoas com síndrome do intestino irritado.	ROUSSEAX, <i>et al</i> (2007)
ATIVIDADE MICROBIANA	Com os probióticos <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Bifidobacterium lactis</i> inibição sobre patógenos nocivos para o organismo humano como o <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella enteritidis</i> , devido à produção de ácidos, láctico e acético, que os probióticos produzem durante a fermentação.	COSTA <i>et al</i> (2012)
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos, atividade sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	Pereira & Gómez (2007)
EFEITO NO SISTEMA IMUNOLÓGICO	Crianças com rinite tiveram melhoras após 30 dias de consumo de leite fermentado adicionado à cultura probiótica de <i>Lactobacillus paracasei</i>	WANG <i>et al</i> (2004)

	Produção de imunoglobulinas dada pela produção das enzimas bacteriocinas produzidas na fermentação das bactérias probióticas. Têm ação local e favoreceram para redução de citocinas pró-inflamatórias.	DENIPOTE <i>et al</i> (2010)
	Redução dos sintomas oculares de alergia decorrente ao pólen nos pacientes em tratamento de polinose do cedro japonês (reação alérgica tipo I mediada por IgE, causada pela exposição à <i>Cryptomeria japônica</i>) durante um mês de uso de suplemento a base de <i>Bifidobacterium longum</i> .	XIAO <i>et al</i> (2006)
	As bifidobactéria nos leites fermentados estimularam produção de vitaminas do complexo B, vitamina K, ácido fólico e nicotínico e restabeleceu a microbiota normal de pacientes que faziam uso de antibióticos.	SANTOS <i>et al</i> (2008)
TRATAMENTO DE GASTRITE CAUSADA POR <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	Uso de lactobacilos, bifidobactérias, <i>Saccharomyces boulardii</i> e <i>Bacillus</i> e concluíram que os efeitos secundários do tratamento foram reduzidos e que o tratamento obteve maior eficácia.	BORTOLI <i>et al</i> (2007) E TONG <i>et al</i> (2007)
TRATAMENTO DA INTOLERÂNCIA À LACTOSE	Observou que os leites fermentados são mais aceitos pelos intolerantes à lactose do que outros produtos lácteos visto que no processo de fermentação pelos probióticos lactobacilos e bifidobactérias reduzem o teor de lactose no produto	SHAH (2007)
	Produção de β -galactosidade pelos <i>Lactobacillus acidophilus</i> que auxilia a quebra das moléculas de lactose, auxilia na digestão e dieta do consumidor intolerante.	THAMER & PENNA (2006)

No estudo de RAMCHANDRAN & SHAH (2010a) onde verificaram o efeito de EPS produzidos “in situ” sobre a viabilidade dos *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* e probióticos, as atividades proteolíticas e inibitória da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), a textura e as propriedades reológicas do iogurte probiótico contendo inulina

durante o armazenamento refrigerado, chegaram a conclusão de que a presença de EPS produtoras da cepa de *S. thermophilus* não interferiu no pH e na concentração de ácido láctico dos iogurtes probióticos com baixo teor de gordura, porém alcançou um efeito protetor na sobrevivência de *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* durante o armazenamento a 4°C e melhoria na sobrevivência de *L. acidophilus*. O conteúdo EPS aumentou até o 21º dia e após foi observada uma diminuição significativa. Em geral, iogurtes contendo o EPS exibiram maior proteólise na presença de inulina e probióticos. A firmeza foi semelhante nos dois tipos de iogurtes durante as duas primeiras semanas de armazenagem e não diminuíram a separação do soro de leite espontânea.

Muitos fabricantes já utilizam inulina comumente como substituto de gordura em leite fermentado com baixo teor de gordura, como o iogurte. Porém, alguns estudos de outros autores já abordam sobre a influência da inulina em algumas atividades bioquímicas importantes, como proteólise, produção de ácidos orgânicos e crescimento de organismos utilizados no processo de iogurte, bem como a atividade de inibição da ECA. No estudo de RAMCHANDRAN & SHAH (2010b) foi visto o efeito da adição de diferentes níveis de inulina HP, disponível comercialmente pela Raftiline HP® (agora conhecido como Beneo HP®), que confirmaram sua natureza bifidogênica, uma vez que houve melhoras significativas no crescimento de *B. longum* e no estímulo do crescimento de *S. thermophilus*; além disso todos os organismos produziram mais ácido láctico, quando cultivada na presença de 1g/100 ml de Raftiline HP porém não houve qualquer efeito sobre na redução do pH do meio, com a exceção de *B. longum* e *L. delbrueckii ssp. Bulgaricus*, sua incorporação teve uma variável influência sobre as capacidades proteolíticas, dependendo do tipo de organismo, porém na geração de peptídeos inibidores da ECA (*L. casei*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* e *B. longum*) houve apenas uma melhora. Por isso o Raftiline HP® pode ser adicionado para melhorar a bioatividade dos organismos utilizados em fermentações de alimentos.

De acordo com o estudo sobre os mecanismos dos probióticos e prebióticos de SAULNIER *et al.* (2009) esses podem ter efeitos sistêmicos no sistema imune do hospedeiro e do metabolismo, como revelado pelo metabólica sistêmica integrativa e perfil microbiano. outros estudos têm demonstrado um grande impacto dos prebióticos sobre a composição da flora intestinal, estimulação direta ou indiretamente putativos outras do que as bactérias do ácido láctico comensais intestinais benéficas. Conseqüentemente, estes resultados abrem outras áreas interessantes de pesquisa para a descoberta de novas cepas probióticas e combinações simbióticas.

Com relação ao mercado consumidor, resultados de uma pesquisa realizada 2000 consumidores norte-americanos, revela que 19% dos adultos incluíram em suas compras um iogurte probiótico/prebiótico nos últimos três meses, comparado com 11% em 2006. Esses consumidores são identificados como em sua grande maioria mulheres com faixa etária de 45-54

anos (MINTEL INTERNATIONAL GROUP, 2009). Na América Latina, o mercado de iogurtes probióticos cresceu 32% de 2005 a 2007, representando 30% do total do mercado de iogurtes produzidos (GRANATO *et al.*, 2010). De fato, o amplo domínio e a preferência dos consumidores por iogurtes como veículos de culturas probióticas está relacionada mais à reputação prévia associada destes com o produto naturalmente saudável do que com os obstáculos tecnológicos envolvidos em sua produção (HAILU *et al.*, 2009; SANDERS & MARCO, 2010).

4.5. Farinha de Banana Verde Orgânica

Por conta dos meios de comunicação hoje em dia divulgarem muitas vantagens sobre uma alimentação orgânica como uma vida mais saudável, de melhor qualidade e sabor, incluindo a preocupação ecológica de melhor e preservar o meio ambiente, foi possível detectar que vários consumidores das chamadas “Feiras Verdes” buscam alimentos que possam ter alguma funcionalidade e serem naturais (ARCHANJO, BRITO, e SAUERBECK, 2001).

O mercado de produtos orgânicos tem apresentado desempenho extraordinário no Brasil, com crescimento médio de 20% ao ano, atingindo receitas de R\$ 2 bilhões. Entre os itens que se destacam, é observado disponibilidade de vegetais, legumes e frutas, mas tendo deficiências no fornecimento de produtos na cadeia animal, como laticínios, carnes e ovos (SEBRAE, 2014). Hoje, parte dos consumidores está buscando produtos mais saudáveis, sem agrotóxicos ou qualquer interferente químico já que atualmente além da preocupação com a saúde existe o comprometimento para com o meio ambiente.

Em pesquisa de GULSEVEN & WOHLGENANT (2014) com relação à demanda no mercado por produtos com melhorias nutricionais e funcionais em produtos lácteos, obtiveram resultados que indicam que os produtos orgânicos ou livres de colesterol ou sem lactose implicam em alto custo do produto, enquanto que produtos como a soja tem seu preço reduzido. Além disso, fatores sócio-demográficos, tais como renda, perfil racial, a presença de crianças, nível de escolaridade e idade têm um impacto significativo sobre a demanda por melhorias funcionais, visto que o consumo de leites especiais aumenta com a idade, escolaridade e presença de crianças na família, ao passo que diminui com relação à renda familiar.

Estudos indicam que a farinha de banana verde tem alto teor de amido resistente, que pelas suas propriedades irão estimular a formação de uma microbiota bacteriana saudável (FASOLIN, *et al.*, 2007). RAMOS, LEONEL & LEONEL (2009) ratificam essa informação em sua pesquisa de avaliação de teor de amido resistente em farinhas de banana verde, produzidas a partir de diferentes genótipos de bananeira, comparou os teores de amido resistente na farinha e concluiu que todas as farinhas de banana verde avaliadas apresentaram teores de amido resistente significativos, cujos valores variaram entre 10 e 40%. A farinha de banana verde obtida a partir do cultivar Nam pode ser utilizada como ótima fonte de amido resistente, em seguida pelas

farinhas obtidas dos cultivares Maça, Prata-anã e Prata-zulu. A farinha de banana verde é notável porque é o alimento natural não processado mais rico em amido resistente, que contém 17,5% das fibras dietéticas (OVANDO-MARTINEZ *et al.*, 2009).

A aplicação de amido resistente como um ingrediente alimentar normalmente não tem efeitos negativos sobre o sabor ou a textura do produto final. Diferentes tipos de amido resistente já foram utilizados em produtos de baixa umidade, tais como cereais, macarrão, pão, biscoito, bolo, alguns produtos de umidade moderadas, tais como sorvetes, sobremesas lácteas, queijos, e até mesmo nos mais elevados de umidade, como iogurte e bebida de iogurte fermentado (HEYDARI, *et al.*, 2011).

ENGLYST *et al.* (1987), foram os primeiros a explicar que uma pequena porção de amido não pode ser digerida no intestino delgado, sendo resistente à hidrólise *in vitro* por tratamento de amilase após 2 horas de incubação. É um homo-polissacarídeo composto de um número de unidades de monossacarídeos ligadas em conjunto com o α -Glc (1-4) e α -Glc (1-6). O amido é composto por duas partes: a cadeia linear chamado amilose, composta de 500-600 unidades glicose e a cadeia pesada muito ramificada, com cerca de 1000 unidades glicose nomeados como amilopectina. Ainda é composta por uma parte linear com α (1-4) unidades de D-glucín.

Pela revisão bibliográfica realizada por HARALAMPU (2000), o amido resistente não pode ser digerido por conta de três razões: 1) a densa configuração molecular restringe o acesso de enzimas digestivas, como amilase, que descreve a essência resistente de grânulos de amido; 2) os próprios grânulos de amido são protegidos por parede celular botânica que inibe as enzimas digestivas; 3) Os grânulos de amido são interrompidos por meio de aquecimento e umidade elevada, num processo conhecido como gelatinização. Se esses géis são resfriados depois da gelatinização, formam cristais de amido retrogradado que são resistentes à enzimas digestivas. Eles são encontrados em pequenas quantidades em alimentos como flocos de milho, produtos cozidos e batatas.

SHIMONI (2008) estudou uma fração do amido resistente, chamada Tipo III e foi constatado que este tipo é fermentado pela microbiota do cólon, um indicativo que ele pode ter benefícios para a saúde, como a modificação do metabolismo lipídico e redução do risco de câncer de cólon. O amido resistente III pode ainda ser produzido por gelatinização induzida pelo calor do amido seguida de recristalização. A quantidade de amido resistente III produzido é dependente da sua composição, tratamento térmico e condições de recristalização. Compreender a relação entre o polimorfismo do amido resistente III e a sua resistência é crítico para o desenvolvimento de amido resistente com melhores propriedades prebióticas. O polimorfismo de cristalito e a estrutura laminar do amido resistente III afetam sua resistência enzimática, alterando, assim, suas atividades prebióticas (por exemplo, as suas propriedades como um substrato enzimático). Esta hipótese foi formulada com base em estudos que encontraram correlação entre

amido de cristalinidade e sua resistência à digestão enzimática, e em outros estudos que mostram o efeito das condições de cristalização do tipo amido resistente polimorfo.

NIMSUNG, P. *et al* (2007) em estudo da composição, propriedades térmicas e morfológicas da farinha de banana verde e de seu amido, avaliou três variedades de cultivares de banana tailandeses Kluai Khuai (grupo AA), Kluai Hom Tong (grupo AAA), e Kluai Namwa (grupo ABB) e concluíram que a FARINHA KLUAI HOM TONG teve o maior rendimento (56,50%) entre as farinhas de banana. Amidos de bananas podem ser produzidos por isolamento com método alcalino e AMIDO ISOLADO do cultivar DE KLUAI NAM WA deu o maior rendimento (33,18%). Proteína, gordura, cinzas e conteúdo de farinha de banana foram menores do que os dos amidos e o conteúdo de amilose obtido dos amidos isolados dos cultivares KLUAI KHAI, KLUAI HOM TONG e KLUAI NAM WA foram 20,32% , 13,36% e 28,03%, respectivamente. Grânulos de amido apresentaram superfícies lisas, irregulares no tamanho e exibiram quanto sua forma aparências arredondadas, longas e retangulares.

O amido resistente é uma fonte de fibra, recentemente reconhecido e é classificado como um componente da fibra com a fermentação parcial ou completa no cólon, que produz vários efeitos benéficos para a saúde. Como uma fibra funcional, as suas partículas finas e sabor agradável fazem as formulações de uma série de produtos alimentares uma possível melhora na aceitação do consumidor e uma maior palatabilidade do que as feitas com fibras tradicionais. Pode ser definido como “a soma do amido e produtos da sua degradação que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis” (FUENTES-ZARAGOZA *et al*, 2010).

O amido resistente pode ser classificado em quatro tipos: tipo 1 que apresenta o amido que se encontra fisicamente inacessível à digestão, devido à presença de paredes vegetais celulares; o tipo 2- Refere-se ao amido que tem uma estrutura granular mais resistente devido à sua cristalinidade ser do tipo B e também se incluem amidos com elevados teores em amilose ; tipo 3 que é todo aquele amido que sofre uma retrogradação, devido ao seu processamento e o do tipo 4 que constitui o termo usado para descrever amido modificado quimicamente através de ésteres, fosfatos e éteres (PEREIRA *et al.*, 2010).

Na revisão de FUENTES-ZARAGOZA *et al.* (2011) é citado que os alimentos funcionais têm revolucionado e ampliado o papel da alimentação na saúde, sendo demonstrado pelo crescimento da indústria de alimentos funcionais como os probióticos, através do seu papel no aumento do número de bactérias benéficas no intestino. Com relação a isso afirmam que um dos principais responsáveis por essa contribuição é o amido resistente que por ser fermentado por bactérias do intestino humano, proporciona a microbiota do cólon substrato de carboidratos fermentáveis, aumentando a produção de butirato no cólon que conforme Champ *et al.*, (2003) tem uma gama de efeitos sobre o metabolismo celular, a diferenciação e o crescimento celular, bem como a inibição de uma variedade de fatores que estão subjacentes a iniciação, progressão e o crescimento de tumores do cólon. Os autores concluem também que o amido resistente ainda

pode atuar sinergicamente pela combinação de fructooligossacarídeos de cadeia curta e desse modo conferir efeitos prebióticos.

Desenvolvimento de produtos secos à base de cultura de conveniência que contêm bactérias viáveis por várias técnicas, tais como: a microencapsulação e a fortificação de tais pós ou produtos concentrados de minerais e vitaminas, estão ganhando importância. A preparação de misturas adequadas contendo ingredientes saudáveis, como fibra dietética, vitaminas naturais e ácido fólico também oferece novas possibilidades para esta área de pesquisa amplamente em expansão. A formulação de várias bebidas saudáveis e produtos dietéticos como produtos de valor acrescentado baseados em produtos tradicionais fermentados vai certamente trazer mais oportunidades para a indústria de bebidas. Nesse contexto, o desenvolvimento de um alimento funcional, como um leite fermentado, que traga simultaneamente os benefícios do cultivo orgânico bem como a adição de bactérias probióticas mostra-se interessante (SHIBY & MISHRA, 2013).

Conforme TEIXEIRA *et al.* 2011, ao estudar sobrevivência de probióticos em bebida fermentada à base de arroz contendo farinha de banana avaliou que apenas um percentual de 1% já é favorável para desenvolvimento e sobrevivência de micro-organismos para considerarmos um alimento prebiótico e proporcionar efeitos benéficos na vida dos consumidores.

Entretanto, o presente trabalho não avaliou o impacto da adição de farinha banana verde no aparato enzimático proteolítico e lipolítico das bactérias probióticas, que se traduz no perfil de ácidos graxos, atividade anti-hipertensiva e identificação dos compostos voláteis como está previsto no presente trabalho. Em adição, não foi realizado o monitoramento do teor de amido resistente. Nesse contexto, o presente trabalho pretende avaliar e entender de forma mais completa o efeito prebiótico da farinha de banana verde em todos os parâmetros de qualidade do leite fermentado.

5. MATERIAIS e MÉTODOS

5.1. FARINHA DE BANANA VERDE ORGÂNICA

A farinha de banana orgânica foi utilizada tendo como matéria prima a banana verde Musa (grupo AAB), variedade prata com frutos no estágio de maturação totalmente verde, com cerca de 34 mm de diâmetro. Foi fornecida por agricultores familiares de Cacaria, 2ºD Distrito de Piraí, Rio de Janeiro. A banana sofreu descascamento, trituração e secagem durante 24 horas em estufa com circulação de ar. A farinha de banana orgânica foi analisada com relação a sólidos totais e teor de amido resistente.

5.2. PROCESSAMENTO DO LEITE FERMENTADO

A processamento do leite fermentado foi realizado em escala piloto de acordo com Cruz *et al.* (2013, 2012, 2010) com modificações no Laboratório de Fermentação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro. Foi utilizada a cultura mista “SAB 440 A” composta por cepas de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* *Bifidobacterium* (Sacco, Campinas, SP). Leite Integral UHT (Glória, Itaperuna, RJ), padronizado com leite em pó desnatado a 3,5% m/v (g leite em pó/volume de leite) (Molico, São Paulo, Brasil) será aquecido até 45°C, para que haja adição das culturas láctica e probiótica (2% p/v – aproximadamente 6 log UFC/g de *Streptococcus thermophilus* e 7 log de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium lactis*). Em seguida, o produto foi submetido à fermentação a 45°C com monitoramento contínuo do pH até o valor de 4,6. Finalmente, o gel obtido foi resfriado até 10°C, com rompimento manual, para posterior adição da farinha de banana verde orgânica nas seguintes proporções: 0%, 0,5%, 1,5% e 3,0% m/v e estocagem refrigerada a 5°C em copos de polipropileno (Dixie Toga, São Paulo, Brasil) de 100 mL durante 21 dias, para que sejam realizadas as análises físico-químicas e microbiológicas.

A figura 1 mostra o fluxograma de processamento do leite fermentado probiótico adicionado de farinha de banana orgânica.

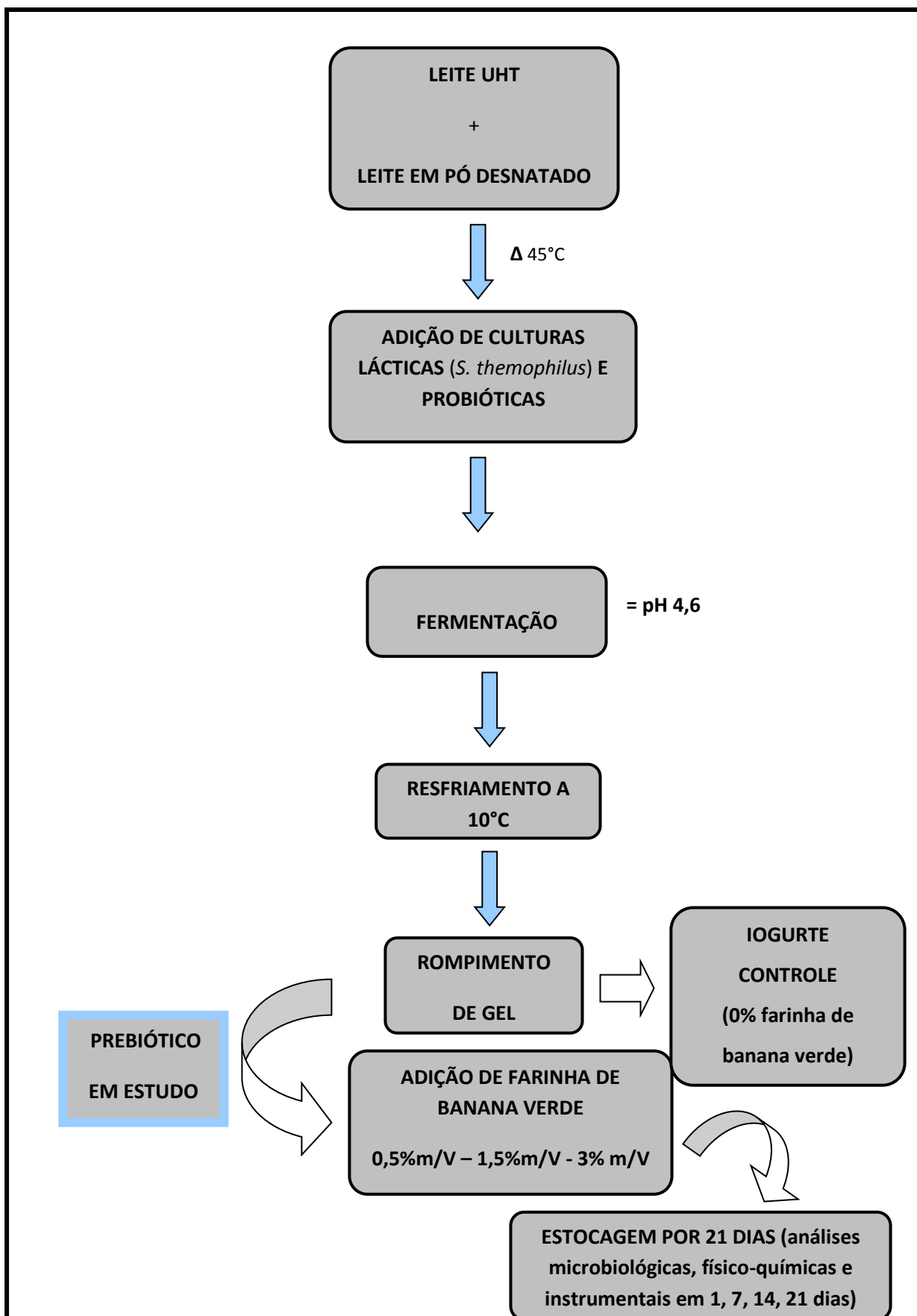


Figura 1: Fluxograma de processamento do Leite Fermentado probiótico adicionado de farinha de banana verde.

5.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

5.3.1 pH

O pH das amostras de iogurte foi determinado por meio de um potenciômetro digital (QUIMIS) calibrado por inserção direta do eletrodo na amostra (MARSHALL, 1993).

5.3.2. Composição centesimal

Sólidos totais foram determinados de forma gravimétrica após 24 horas de secagem em estufa (Micronal, São Paulo, Brasil) sendo esta análise realizada tanto na farinha de banana orgânica verde e nos leites fermentados ao longo da vida de prateleira de estocagem refrigerada. A proteína foi determinada com base no total de nitrogênio, utilizando o método de Kjeldahl com posterior multiplicação pelo fator 6,38. A gordura foi determinada utilizando o método de Gerber. Todas as análises seguiram procedimentos padronizados e foram executados em triplicata (Brasil, 2006).

5.3.3. Amido resistente

O teor de amido resistente foi realizado na farinha de banana (uma única vez) e no leite fermentado ao longo da sua estocagem refrigerada. Foram utilizados kits enzimáticos da Megazyme (*Megazyme International Ireland Limited, Wicklow, Ireland*). Esse método tem sido amplamente utilizado, sendo submetido a validação intralaboratorial e é aceito pela Associação Internacional de Químicos Analíticos (AOAC método oficial 2002.02)

5.3.4 Firmeza

Um ensaio de compressão simples onde foi utilizando um TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro System Ltd., Godalming, UK) equipado com uma célula de carga de 5 kg, utilizando um método de AMATAYAKUL *et al.* (2006). As amostras foram comprimidas com uma sonda cilíndrica de diâmetro de 20 mm (P20) a uma profundidade de 15 mm a uma velocidade constante de 1 mm/s. A firmeza foi determinada como a força máxima (N) na curva de força de compressão em tempo em triplicata (BALTAZAR *et al.*, IN PRESS).

5.3.5 Atividade proteolítica

A atividade proteolítica foi quantificada através da mensuração dos aminoácidos e peptídeos liberados pelas culturas probióticas, utilizando a solução reagente (OPA), contendo as seguintes substâncias: dodecil sulfato de sódio, tetraborato de sódio decahidratado, ditiotreitól e o-ftaldeído e etanol.

A atividade proteolítica das culturas foi expressa como absorvância dos derivados do OPA a 340 nm. O relativo grau de proteólise foi determinado como a diferença entre a atividade proteolítica do iogurte e atividade proteolítica do leite não fermentado (CHURCH *et al.*, 1983).

5.3.6 Produção de ácidos orgânicos

A quantificação do consumo de ácidos orgânicos das culturas microbianas, a saber, ácido láctico, ácido cítrico, e ácido acético, foram realizados através de cromatografia líquida de alta eficiência (modelo Varian 9010, Varian, Inc. Scientific Instruments, Palo Alto, CA, USA).

O equipamento foi constituído de coluna de troca iônica Aminex HPX-87 H, (Bio-RAD Laboratories, Richmond, CA, USA) mantida a 65°C; detector de índice de refração modelo RI 2000 para determinação dos carboidratos e detector com comprimento de onda de 220 nm para a determinação dos ácidos orgânicos. O eluente foi filtrado e desgaseificado utilizando solução de ácido sulfúrico preparado com água ultrapura (Grau 1), utilizando sistema de purificação Milli-Q (Millipore Corporation, Billerica, MA), pH 2,8, e vazão volumétrica de 0,6 mL/min.

A preparação das amostras em duplicata consistiu na mistura de 3 mL de iogurte com 80 µL de 15,5 mol/L de ácido nítrico para posterior diluição com 1,0 mL da fase móvel, 0,01 mol/L de ácido sulfúrico. A mistura resultante foi centrifugada a 14.000G por 30 minutos para remoção de proteínas, sendo o sobrenadante filtrado em membrana Milipore 0,20 µm.

A temperatura da coluna foi 65°C e a fase móvel 0,01 M ácido sulfúrico com fluxo de 0,6 mL/min (Donkor *et al.*, 2005). A quantificação dos carboidratos e dos ácidos orgânicos foi realizada utilizando curva padrão de soluções dos compostos de concentrações conhecidas. O volume de injeção foi 25 µL, utilizando um injetor automático, e a integração dos picos cromatográficos foi feita pelo software Millenium.

5.4 Análises Microbiológicas

As análises microbiológicas utilizadas para verificar a viabilidade das culturas ao longo da estocagem nos iogurtes incluem contagem de uma das culturas chamadas iniciadoras (*S. thermophilus*) e os micro-organismos probióticos, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium* (CRUZ *et al.*, 2012).

Uma alíquota de 1 mL de iogurte transferido para um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução de água peptonada estéril 0,1% m/V. A partir desta, foram feitas as diluições subsequentes, sendo a contagem de todos os micro-organismos realizada em duplicata, utilizando plaqueamento em profundidade. Para a contagem de *S. thermophilus* foi realizada utilizando Agar M17 (Oxoid, São Paulo Brasil) adicionado de lactose 0,1% m/V e para a contagem de *L. acidophilus* foi realizada utilizando MRS (Oxoid, São Paulo, Brasil) adicionado de sais biliares

0,1% m/v (Sigma, São Paulo, Brasil). Já a contagem de *Bifidobacterium* foi realizada utilizando Agar cloreto de lítio-propionato de sódio (MRS-LP), contendo concentrações de agentes inibitórios (0,5g/L de LiCl e 0,75g/L de propionato de sódio). Todas as análises foram realizadas utilizando plaqueamento em profundidade em duplicata; para o *S. thermophilus* e *L. acidophilus* foram utilizadas condições aeróbias enquanto para o *Bifidobacterium* será utilizada condição anaeróbias. A contagem das colônias microbianas foi realizada após incubação por 72 horas a 37°C para todos os micro-organismos.

5.5 Análise Estatística

Os resultados de todas as análises físico-químicas e microbiológicas foram avaliados através de Análise de Variância (ANOVA) um fator (one way) considerando amostra como fator e Teste de Tukey ao nível de $p < 0,05$, o que indica nível de confiança 95%. Na execução das análises foi executado o programa estatístico XLSTAT for Windows 2013 (Adinsoft, Paris, France).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa pesquisa foram realizadas contagens viáveis dos micro-organismos *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* conforme apresentado na Tabela 1. Os valores de média encontrados para cada micro-organismo foram determinados para os dias 1, 7, 14 e 21 e para cada produto estudado, tanto controle quanto para os diferentes percentuais utilizados com adição de FBV. A Tabela 1 mostra a contagem de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Bifidobacterium* nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde (FBV).

Para *S. thermophilus* no produto controle observou-se um aumento de 8.31 log UFC/ml no primeiro dia para 8.45 log UFC/ml no dia 21. O mesmo crescimento ocorreu para os produtos testes adicionado de FBV com 0,5% e 3%, tendo uma contagem de 8.21 log UFC/ml para 8.53 log UFC/ml e 8.11 log UFC/ml para 8.78 log UFC/ml respectivamente.

Já para o produto teste adicionado com 1,5% de FBV foi observado que para o micro-organismo em questão houve um decréscimo a partir da terceira semana, já que no dia 1 a contagem foi de 8.67 log UFC/ml e no dia 14 foi para 8.32 log UFC/ml, porém um aumento após uma semana, já que na contagem do dia 21 foi observado um valor de 8.45 log UFC/ml.

No estudo de contagem do micro-organismo *L. acidophilus*, foi observado que na matriz controle houve um crescimento na contagem ao longo do estudo durante os vinte e um dias. Isto foi uma realidade também para os produtos testes com os percentuais de 0,5% e 1,5% que levando em consideração o primeiro e último dia.

Porém no produto teste com 3% de adição de FBV ocorreu uma diminuição gradativa na contagem do micro-organismo, onde se obteve valores de contagens para o dia 1, 7, 14 e 21 respectivamente 8.03, 7.56, 7.34 e 7.14 log UFC/ml.

Tabela 1. Viabilidade de *S. thermophilus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* em leites fermentado adicionados de farinha de banana

Microorganismos	DIAS	Y 0	Y 0.5	Y 1.5	Y 3	Prebiótico		
						Prebiótico	Tempo	X Tempo
<i>S. thermophilus</i>	1	8.31a	8.21a	8.67a	8.11a			
	7	8.54a	8.11a	8.88a	8.26a			
	14	8.43a	8.22a	8.32a	8.41a	ns	ns	ns
	21	8.45a	8.53a	8.45a	8.78a			
<i>L. acidophilus</i>	1	7.61a	7.11b	8.65a	8.03a			
	7	7.22b	8.22a	8.35a	7.56b			
	14	7.73a	8.45a	8.22a	7.34b	*	*	*
	21	8.05a	8.77a	8.77a	7.14b			
<i>Bifidobacterium</i>	1	6.17a	6.45c	6.56c	6.78c			
	7	6.87b	7.34b	7.90a	7.99a			
	14	7.34b	7.81a	8.34a	6.89c	*	*	*
	21	6.11c	7.34a	8.85a	7.02b			

* P<0.05. Análises efetuadas em duplicata. Valores expressos em log UFC/ml. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0.05)

Para o estudo de *Bifidobacterium* foi observado comportamento semelhante do controle com o produto adicionado de 0,5% de FBV, pois apresentaram aumento até o 14º dia e redução no dia 21 em relação ao dia 14, porém mesmo com essa redução ainda obteve um crescimento em relação ao dia 1. Para o leite fermentado adicionado de 1,5% de FBV também foi visualizado esse crescimento, porém um regular e progressivo. Já o leite fermentado adicionado com 3% de FBV, que também teve aumento na contagem de *Bifidobacterium* se considerarmos o dia 1 e o dia 21, apresentou um decréscimo a partir da contagem do dia 14 em relação ao dia 7. Até o dia 14

todos os produtos avaliados obtiveram valores de contagem maior do que a contagem inicial, dia após a produção.

Com esses resultados é possível sugerir que existe uma capacidade de consumir a FBV a partir de Y1,5, e que acima desse percentual (Y3) não tem um aumento significativo pois sua capacidade é limitada. Como os resultados encontrados em Y3 são semelhantes com os em Y1,5 existe uma capacidade de consumo da bactéria pelo substrato. Essa capacidade é verificada até Y1,5 já que a partir dessa concentração não existe alteração significativa das contagens dos micro-organismos citados.

Com relação ao efeito descrito na Tabela 1 verifica-se que o *S. thermophilus* não apresentou diferença significativa nem com relação ao tempo, nem com relação a quantidade do prebiótico em estudo (FBV) e nem com a interação dos dois (Prebiótico X Tempo). Já com relação às bactérias *L. acidophilus* e *Bifidobacterium*, o efeito foi significativo, porém como já discutido anteriormente não existe uma diferença muito grande, pois só consegue absorver até Y1,5. E a contagem desses micro-organismos no leite fermentado controle está menor do que nos testados com um percentual de FBV, o que nos indica o real efeito do prebiótico sobre as colônias ali existentes. Ou seja, foram contabilizados no Y0 valores menores do que em todos os outros testados.

O que se pode verificar é que o *Bifidobacterium* consegue aproveitar de uma maneira melhor o AR existente na FBV já que pelos valores mostrados na Tabela 1 influenciou melhor do que na contagem dos *L. acidophilus*.

Independente da quantidade inserida do prebiótico em estudo, todas as amostras tiveram como resultado uma contagem maior que 6 log UFC / mL, em todas as contagens de *L. acidophilus* e *Bifidobacterium* o que significa portanto que pode-se sugerir que todos são probióticos.

Avaliando uma porção de 100g desse leite fermentado testado, foram encontrados valores de aproximadamente 8 log UFC / mL o que é um resultado relativamente bom já que foi realizado uma produção artesanal e de pequeno porte, pois quando comparado com indústrias que fabricam leite fermentados em quantidades industriais (lote) com formulações mais otimizadas, os leite fermentados apresentam valores de aproximadamente 11 a 12 log UFC / mL.

Análises físico-químicas são apresentadas na Tabela 2 que demonstra os valores de pH, proteólise e firmeza nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde. No estudo foi observado que os valores de pH não variaram significativamente de uma semana para outra, e a adição de farinha de banana verde nos percentuais estudados também não contribuiu para uma diferença nos valores. Visualizados os valores no leite fermentado probiótico controle de 4.61 no dia 1, 01 dia após a produção do produto, 4.60 na primeira semana (dia 7), 4.61 no dia 14 e 4.63 no último dia de análise. O produto testado nas diferentes concentrações do prebiótico (farinha de

banana verde) não demonstrou significativas diferenças comparando com o controle, o que podemos afirmar que conforme os resultados esse parâmetro não sofreu influência.

Tabela 2. pH, proteólise e firmeza e de Leites Fermentados probióticos adicionados de farinha de banana

PARÂMETROS AVALIADOS	DIAS	Y 0	Y 0.5	Y 1.5	Y 3	Prebiótico	Tempo	Prebiótico X Tempo
pH	1	4.61a	4.62a	4.67a	4.67a			
	7	4.60a	4.57a	4.55a	4.63a	ns	ns	ns
	14	4.61a	4.53a	4.51a	4.60a			
	21	4.63a	4.48a	4.45a	4.62a			
Proteólise	1	0.356a	0.359c	0.352a	0.345a			
	7	0.367a	0.430b	0.452c	0.336a	*	*	*
	14	0.369a	0.559a	0.578b	0.356a			
	21	0.374a	0.667a	0.622a	0.378a			
Firmeza	1	1.23b	1.28b	1.43a	1.43a			
	7	1.29b	1.34b	1.6a6	1.61a	*	*	*
	14	1.35c	1.41b	1.76a	1.79a			
	21	1.47b	1.57b	1.88a	1.92a			

* P<0.05. Análises efetuadas em duplicata. pH é adimensional. Proteólise é expressa em absorbância a 340nm e firmeza em Newton. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0.05)

Os valores encontrados para o leite fermentado com 0,5% de FBV foram de 4.62 no dia 1 do produto, 4.57 no dia 7, 4.53 no dia 14 e 4.48 no último dia de análise, observado um decréscimo no valor do pH com o passar das semanas. Percebido também com o produto com percentual de 1,5% de FBV foram encontrados valores de 4.67 para o primeiro dia, 4.55 para o sétimo dia, 4.51 para o décimo quarto dia e 4.45 para o vigésimo primeiro dia. E para o produto com 3% de FBV encontrados valores de 4.67 no dia 1, 4.63 para o dia 7, 4.60 para o dia 14 e 4.62 para o dia 21.

Conforme esperado, houve uma diminuição do pH do meio com o passar das semanas explicado pela produção de ácido lático produzido pelas cepas que fazem parte da matriz do produto.

Foi analisado o teor de proteólise dos produtos estudados, e foram expressos por absorção no comprimento de onda de 340nm, encontrado as seguintes leituras nos dias 1, 7, 14 e 21 respectivamente: para o leite fermentado controle 0.356, 0.367, 0.369 e 0.374; para o leite fermentado com 0,5% de FBV 0.359, 0.430, 0.559 e 0.667; para o leite fermentado com 1,5% de FBV as leituras foram de 0.352, 0.452, 0.578 e 0.622; e para o leite fermentado com 3% de FBV encontrados os valores de 0.345, 0.336, 0.356 e 0.378 como mostra na Tabela 2.

Analisados os valores encontrados, visualizou-se um crescimento do valor de proteólise com o passar dos dias para todas as diferentes concentrações estudadas inclusive controle. Porém foi notado que esse parâmetro obteve um valor quase que dobrado nos leites fermentados com adição de 0,5% e 1,5% de FBV em relação ao controle.

O teste de firmeza foi realizado tanto no produto controle quanto nos demais testados, e verificado um aumento no valor da firmeza que é expresso em Newton (N). Inversamente proporcional aos valores de pH (quanto menor o pH maior a firmeza) foi verificado que os resultados encontrados para este parâmetro foi de acordo com o esperado. A tabela 2 expressa os valores de firmeza para o controle e os percentuais estudados de 0,5%, 1,5% e 3,0% que foram adicionados de FBV e foi encontrado os respectivamente os seguintes valores para o dia 1: 1.23, 1.28, 1.43 e 1.43; para o dia 7: 1.29, 1.34, 1.66 e 1.61; para o dia 14: 1.35, 1.41, 1.76 e 1.79; e para o dia 21 os valores de: 1.47, 1.57, 1.88 e 1.92. Com o produto de 3,0% de FBV com o maior valor de firmeza encontrado pela 4ª semana (dia 21) e o menor valor encontrado para o leite fermentado controle no dia da produção.

Esses resultados nos indicam, como já esperado, que com o crescimento dos microorganismos já citados, o pH das amostras são reduzidos devido a produção de ácido lático oriunda da fermentação das bactérias. Porém, como os valores de pH são maiores do que os encontrados no controle, pode-se sugerir que o prebiótico em questão estudado teve influência nesse parâmetro.

O mesmo pode-se concluir para a proteólise, que conforme citado anteriormente seus resultados obtidos no controle são inferiores aos encontrados nas amostras com percentuais de FBV. O valor do consumo de proteínas no meio é maior quando se tem o prebiótico inserido na amostra. Porém como já discutido esses resultados são significativos até o percentual de 1,5% já que os valores encontrados para 3,0% são significativamente iguais.

Foram encontrados valores de sólidos totais, proteína, gordura e amido resistente nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde demonstrados na Tabela 3. Esses parâmetros foram avaliados no dia 1 e no dia 21, ou seja, no primeiro e último dia para verificação de alguma mudança significativa. O que pode se perceber é que os valores não se alteraram

estatisticamente, pois as mudanças de início e final foram praticamente a mesma para a composição físico-química das amostras.

Tabela 3. Composição Físico-Química de Leites Fermentados probióticos adicionados de farinha de banana

PARÂMETROS AVALIADOS	DIAS	Y 0	Y 0.5	Y 1.5	Y 3	Prebiótico		
						Prebiótico	Tempo	X Tempo
Sólidos Totais	1	14.56a	15.78a	17.03a	19.98a			
	21	14.89a	16.02a	17.13a	19.89a	ns	ns	ns
Proteína	1	3.45a	3.47a	3.48a	3.46a			
	21	3.43a	3.45a	3.47a	3.57a	ns	ns	ns
Gordura	1	1.91a	1.13a	1.52a	1.63a			
	21	1.89a	1.40a	1.52a	1.79a	ns	ns	ns
Amido Resistente	1	----	3.21a	6.73a	10.29a			
	21	----	3.01a	5.77b	9.08a	ns	ns	ns

* P<0.05. Análises efetuadas em duplicata. Todas as variáveis estão expressas em massa/massa (%m/m). Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0.05)

Para os sólidos totais obtiveram-se resultados diretamente proporcionais, o que já era esperado, pois à medida que a quantidade de FBV era aumentada o valor de sólidos totais também aumentava. Valores de 14.6 em 100g foi o menor valor encontrado no controle no primeiro dia de estudo e o maior valor 19.98 encontrado para o maior percentual de prebiótico testado também no primeiro dia. Com relação aos efeitos do prebiótico não foram significativos suas alterações, pois tanto a adição do prebiótico, o tempo de estocagem e a relação do tempo com o probiótico não apresentaram diferenças estatisticamente diferentes.

Nos resultados para proteínas foram obtidos valores significativamente iguais em todos os testes realizados. Tanto os adicionados com o prebiótico quanto o controle tiveram valores semelhantes, sendo 3.45 o valor encontrado para o controle, no primeiro dia, e para amostra adicionada com 0,5% de FBV, no último dia de estocagem. E encontrado o valor de 3.57 para a amostra com 3% de FBV para o dia 21. E da mesma forma com relação aos efeitos do prebiótico não foram significativos suas alterações, pois tanto a adição do prebiótico, o tempo de estocagem e a relação do tempo com o probiótico não apresentaram diferenças estatisticamente diferentes.

Na medição de gordura, os resultados obtidos foram semelhantes em todos os casos, o controle e os percentuais testados com o prebiótico em estudo tiveram valores próximos e sem diferença com relação ao teor de FBV e ao tempo de estocagem. Foram encontrados valores de 1.13 no dia 1 da amostra com menor percentual de FBV e 1.89 no dia 21 da amostra controle. E como já citado esse parâmetro também não foi significativo estatisticamente para avaliar o efeito do prebiótico.

Foi dosado o valor de Amido Resistente (AR) nas amostras testes com os percentuais estudados e pôde ser concluído que quanto maior o percentual de FBV maior teor de AR foi encontrado, o que já era totalmente esperado. Porém, apesar dos valores de 3,0% serem os maiores já foi discutido que a bactéria não consegue consumir todo o substrato e por isso sobra mais AR nessa amostra do que nas amostras com percentual de 0,5% e 1,5% m/m.

Os resultados encontrados para os valores de ácido lático, ácido cítrico e ácido acético nos leites fermentados adicionados de farinha de banana verde encontram-se na tabela 4. Realizada em todas as amostras, controle e todos os percentuais com FBV, e em todos os tempos estudados. Os valores encontrados para todos os ácidos avaliados, em todas as amostras, aumentam do primeiro ao último dia de avaliação, o que corresponde à lógica de fermentação das bactérias ao longo dos dias.

Foi verificado que o maior valor de ácido lático encontrado foi na amostra que adicionou 1,5% de FBV, encontrando 6.17 mg/ml no último dia de estocagem, o que mais uma vez indica uma capacidade de consumo da bactéria até essa concentração de prebiótico, já que na concentração de 3,0% esses valores sempre são inferiores.

Na avaliação de ácido acético para a amostra controle foram encontrados valores de 0.12 a 0.25 mg/ml, já para as amostradas que tiveram adição da FBV os valores são maiores sendo encontrado para o leite fermentado com 0.5% do prebiótico valores de 1.10 mg/ml a 1.78 mg/ml; para o com 1,5% valores de 1.18 mg/ml a 1.67 mg/ml e para aquele com 3,0% de prebiótico, valores de 1.04 mg/ml a 1.31 mg/ml.

Para o ácido cítrico os valores encontrados mantêm os padrões dos parâmetros anteriores, com crescimento visualizado ao longo dos dias e a medida da adição de FBV, seguindo indicação que as amostras adicionadas 1,5% encontram com os maiores resultados.

Os valores encontrados para ácido lático são maiores que os encontrados para ácido acético e cítrico, isso é explicado devida à produção de ácido lático ser realizada tanto pelo *L. acidophilus* quanto pelo *Bifidobacterium*. O ácido acético é resultado da fermentação realizada pelo *Bifidobacterium*, já o ácido cítrico é originário do ácido lático pelo metabolismo do citrato, pois parte é convertido à ácido cítrico por enzimas das bactérias lácticas e outra parte não é totalmente metabolizado.

Tabela 4. Ácido Lático, Ácido Acético e Ácido Cítrico de Leites Fermentados Probióticos de Farinha de Banana

PARÂMETROS AVALIADOS	DIAS	Y 0	Y 0.5	Y 1.5	Y 3	Prebiótico		
						Prebiótico	Tempo	X Tempo
Ácido Lático (mg/mL)	1	4.32a	4.78a	4.92a	4.14a			
	7	5.12a	5.16a	5.18a	4.90b	*	*	*
	14	5.49a	5.98a	5.83a	5.24a			
	21	5.95a	6.12a	6.17	5.35b			
Ácido Acético (mg/mL)	1	0.12b	1.10a	1.18a	1.14a			
	7	0.21c	1.27a	1.32a	1.04b	*	*	*
	14	0.25c	1.67a	1.45a	1.29b			
Acido Cítrico (mg/mL)	21	0.20c	1.78a	1.67a	1.31b			
	1	0.89a	0.91a	0.95a	0.94a			
	7	1.44c	1.56a	1.57a	1.43b	*	*	*
	14	1.98a	2.09a	2.11a	2.03a			
	21	2.02c	2.97a	2.98a	2.78b			

* P<0.05. Análises efetuadas em duplicata. Ácido Lático, ácido acético e ácido cítrico estão expressos em mg/mL. Médias seguidas de letras diferentes diferem significativamente (p<0.05)

7. CONCLUSÃO

Os resultados mostram que a adição de farinha de banana verde afeta os parâmetros de qualidade intrínseca do leite fermentado adicionado de culturas probióticas, com a ressalva de haver um limite no que diz respeito à atividade metabólica da cultura probiótica bem como na produção dos ácidos orgânicos. De forma geral, podemos dizer que do ponto de vista tecnológico a adição de farinha de banana verde deve ser realizada no nível de 1,5% massa por massa (m/V) de leite.

Futuros estudos devem cobrir a análise sensorial dos leites fermentados com consumidores típicos do produto bem como testes sensoriais descritivos para estabelecer os atributos sensoriais que compõem o perfil sensorial dos leites fermentados.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA Atribuição de função de aditivos, aditivos e seus limites máximos de uso para a categoria 8 - carne e produtos cárneos. Portaria no 1.004, de 11 de dezembro de 1998.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos: lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Atualizado em julho, 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm.

AGRIANUAL 2007: anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2007. p.194-204.

AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Funcional Food*, v. 5, p. 1542-1553, 2013.

AMATAYAKUL, T., HALMOS, A.L., SHERKAT, F. and SHAH, N.P. Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharideproducing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, n. 16, p. 40–51, 2006.

ARCHANJO, L.R.; BRITO, K.F.W.; SAUERBECK, S. Alimentos Orgânicos em Curitiba: consumo e significado. *Cadernos de Debate*, v. VIII, p. 1-6, 2001.

BALDIM, I. M. et al. Teste de sensibilidade ao quefir de cepas de *Cândida* SP. Isoladas de vulvovaginites. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, Araraquara, v. 33, n. 3, p. 379-382, 2012.

BALTAZAR, C.F.; GAZE, L.V.; SILVA, H.L.A.; PEREIRA, C.S.; FRANCO, R.M.; CONTE-JUNIOR, C.A.; FREITAS, M.Q.; SILVA, A.C.O. Sensory evaluation of ovine Milk yoghurt with inulin addition. *Internacional Journal of Dairy Technology*. In Press,

BRASIL. 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.68 de 2006. Métodos Oficiais de análises físico-químicas para produtos lácteos. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>

CAMILLERI, M. Probiotics and irritable bowel syndrome: rationale, putative mechanisms, and evidence of clinical efficacy. *Journal of Clinical Gastroenterology*, New York, v. 40, n. 3, p.264-269, 2006.

CAPRILES, V.D.; SILVA, K.E.A.; FISBERG, M. Probióticos e simbióticos: nova tendência no mercado de alimentos funcionais. *Nutrição Brasil*, Rio de Janeiro, v. 4, nº 6, p. 327-335, nov/dez 2005.

COSTA, G. N. *et al.* Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* frente a microrganismos patogênicos "in vitro". *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1839-1846, 2012.

CRUZ AG, CASTRO WF, FARIA JA, LOLLO PC, AMAYA-FARFÁN J, FREITAS MQ, RODRIGUES D, OLIVEIRA CA, GODOY HT. Probiotic yogurts manufactured with increased glucose oxidase levels: postacidification, proteolytic patterns, survival of probiotic microorganisms, production of organic acid and aroma compounds. *Journal of Dairy Science*, 95, 2261, 22699, 2012.

ÇAKMAKÇI, S.; ÇETIN, B.; TURGUT, T.; GÜRSES, M.; ERDOGAN, A. Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts. *J. Vet. Anim. Sci.* v. 3, n. 36, p. 231-237, Turk, 2012.

CHAMP, M., LANGKILDE, A.M., BROUNS, F., KETTLITZ, B., LE BAIL-COLLET, Y. Advances in dietary fibre characterization. 2. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labeling. *Nutr. Res. Rev.* n. 16, p. 143-161, 2003.

CHURCH, F.C; SWAISGOOD, H. E.; PORTER D. H., AND CATIGNANI. G. L. Spectrophotometric Assay Using o-Phthaldialdehyde for Determination of Proteolysis in Milk and Isolated Milk Proteins. *J. Dairy Sci.* 66: 1219-1227,1983.

CUSHMAN, D. W. & CHEUNG, H. S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochemical Pharmacology*, n. 20, p. 1637-1648, 1971.

DELIA P. *et al.*, Use of probiotics for prevention of radiation-induced diarrhea. *World Journal of Gastroenterology*. Beijing, v. 4, n.13, p. 912-915, 2007.

DENIPOTE, F. G.; TRINDADE, E. B. S. M.; BURINI, R. C. Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. *Arquivos de Gastroenterologia*, São Paulo, v. 47, n. 1, p. 93-98, 2010.

DI CARO, S.; TAO, H.; GRILLO, A.; ELIA, C.; GASBARRINI, G.; SEPÚLVEDA, A. R.; GASBARRINI, A. Effects of *Lactobacillus GG* on genes expression pattern in small bowel mucosa. *Dig. Liver Dis.* n 37, p. 320-329, 2005.

DIPLOCK, A. T.; AGGETTI, P. J.; ASHWELL, M.; BORNET, F.; FERN, E. B.; ROBRRFROID, M. B. Scientific concepts of functional food in Europe: Consensus document. *Br. J. Nutr.* n. 81, p. 11-27, 1999.

ENGLYST, H. N.; TROWELL, H.; SOUTHGATE, D. A. T., CUMMINGS, J. H., Dietary fiber and RS. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 46, p. 873-874, 1987.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 2001. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Córdoba, Argentina. Available in: ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/probioreport_en.pdf.

FASOLIN *et al.*, Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações químicas, físicas e sensorial. Campinas, 2007.

Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Technical Meeting on Prebiotics. 2007.12 pp.

FUENTES-ZARAGOZA, E., RIQUELME-NAVARRETE, M. J., SÁNCHEZ-ZAPATA, E., PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research Internacional*, n. 43, p. 931-942, 2010.

FUENTES-ZARAGOZA, E., SÁNCHEZ-ZAPATA, E., SENDRA, E., SAYAS, E., NAVARRO, C., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., PÉREZ-ÁLVAREZ, J.A. Resistant starch as prebiotic: A review. *Starch Journal*, n. 63, p. 406-415, 2011.

FUNG, W-Y & LIONG, M-T, Evaluation of proteolytic and ACE-inhibitory activity of *Latobacillus acidophilus* in soy whey growth medium via response surface methodology. *LTW – Food Science and Technology* n 43, p. 563-567, 2010.

RODRIGUES, A. C. ; DA SILVA, R. C.; DO ESPÍRITO SANTO, A. P. ; GIOIELLI, L. A.; TAMIME, A. Y.; DE OLIVEIRA, M. N.; OLIVEIRA, M. N. . Increased CLA content in organic milk fermented by bifidobacteria or yoghurt cultures. *Dairy Science & Technology*, v. 89, p. 541-553, Florence, 2009.

GRANATO, D.; BRANCO, F. G.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; SHAH, N. P. Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.9, p.455-470, 2010.

GUARNER, F. *et al.* Diretrizes mundiais da organização mundial de gastroenterologia: guias práticas probióticos e prebióticos, p. 29, 2011.

GULSEVEN, O. & WOHLGENANT, M. Demand for functional and nutritional enhancements in specialty milk products. *Appetite*, n. 81, p. 284-294, 2014.

HARALAMPU, S. G. Resistant starch: A review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydr. Polym*, v. 41, p. 285-292, 2000.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. 5.ed. Oxford: Clarendon, 1999. p. 899.

HEYDARI, S.; MORTAZAVIAN, A.M.; EHSANI, M. R.; MOHAMMA-DIFAR, M.A. *et al.*, Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic compounds. *Italian J. Food* v. 23, p. 153 – 163, 2011.

HOMAYOUNI, A.; AMINI, A.; KESHTIBAN, A. K.; MORTAZAVIAN, A. M., ESAZADEH, K.; POURMORADIAN, S.; Resistant starch in food industry: A changing outlook for consumer and producer. *Starch-Journal*, n.66, p. 102-114, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Produção da extração vegetal e silvicultura*, v.24, 2009. 45p. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pevs/2014/>>. ISSN: 0103- 8435.

JAYAMANNE, V.S.; ADAMS, M.R. Determination of survival, identity, and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bio-yoghurts. *Letters in Applied Microbiology*, v.42, p. 189-194, 2006.

KANMANI, P.; KUMAR, R. S.; YUVARAJ, N.; PAARI, K. A.; PATTUKUMAR, V.; ARUL, V. Probiotics and Its Functionally Valuable Products – A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 6, n. 53, p. 641-658, 2013.

KELAHAR, M., PAUL, S., LAMBERT, H., AHMAD, W., & SMITH, G. D. The impact of different measures of socioeconomic position on the relationship between ethnicity and health. *Annals of Epidemiology*, 18 (5), p. 351–356, 2008.

KORBKANDI, H.; MORTAZAVIAN, A. M.; IVARANI, S. Technology and stability of probiotic in fermented milks. In *Probiotic and Prebiotic Foods: Technology, Stability and Benefits to the human health*; SHAH, N.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; Nova Science Publishers, New York, 2011.

MARSHALL, R.T. 1993. *Standard Methods for Examination of Dairy Products*. Washington: American Public Health Association.

MÄKELÄINEN, H.; HASSELWANDER, O.; RAUTONEN, N.; OUWEHAND, A. C. Panose, a new prebiotic candidate. *Lett. Appl. Microbiol.* N. 49, p. 666-672, 2009.

- MERCADANTE, A.Z. et al. Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. *MeatScience*, v.84, p.718-726. 2010.
- MIREMADI, F. & SHAH, N. P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. *International Food Research Journal*, n. 19, p. 1337-1350, 2012.
- MIKULÍKOVÁ, D., MASÁR, S., & KRAIC, J. Biodiversity of legume health-promoting starch. *Starch*, v. 60, p. 426–432, 2008.
- MOHAMMAD, R. & MORTAZAVIAN, A. M. Review Article: Technological Aspects of Prebiotics in Probiotic Fermented Milks, *Food Reviews International*, v. 2, n. 27, p. 192-212, 2011.
- MOTTET, C. & MICHETTI, P. Probiotics: Wanted dead or alive. *Dig Liver Dis*. n 37, p. 3-6, 2005.
- MORAIS, M. B. & JACOB, C. M. A. The role of probiotic and prebiotics in pediatric practice. *Journal Pediatrics*, v 5, n. 42, p. 454-475, 2006.
- NIMSUNG, P.; THONGNGAM, M.; NAIVIKUL, O. Compositions, Morphological and Thermal Properties of Green Banana Flour and Starch. *Kasetsart Journal*, n. 41, p. 324-330, Bangkok, 2007.
- ÖTLES, S. & OZGOZ, S. Health effects of dietary fiber. *Acta Scientiarum Polonorum., Technol. Aliment*, v. 2, n. 13, p. 191-202, 2014.
- OVANDO-MARTINEZ, M.; SÁYAGO-AYERDI, S.; AGAMA-ACEVEDO, E.; GOÑI, I.; *et al.*, Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta. *Food Chem*, v 113, p. 121-126, 2009.
- PATEL, S. & GOYAL, A. The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *Biotech*, n. 2, p. 115-125, 2012.
- PÉREZ-ALVAREZ, J. A., FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., & SAYAS-BARBERÁ, M. E. La alimentación en las sociedades occidentales. *Alimentos funcionales y Dieta Mediterránea* (pp. 11–25). Elche, Spain: Universidad Miguel Hernández, 2003.
- PEREIRA, V. G.; GÓMEZ, R. J. H. C. Atividade antimicrobiana de *Lactobacillus acidophilus* contra microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. *Ciências Agrárias*, v. 28, n. 2, p. 229-240, 2007.
- PEREIRA, A., MEDA, V. & TYLEN, R.T. Resistant starch: A review of analytical protocols for determining resistant starch and of factors affecting the resistant starch content of foods. *Food Research International*, v.42, n.10, 1959–1974, 2010.
- RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *Food Science and Technology*, v.43, p. 819–827, 2010.
- RAMOS, D.P.; LEONEL, M.; LEONEL, S. Amido resistente em farinhas de banana verde. *Alim. Nutr*, Araraquara, v.20, n 3, p. 479 – 483, jul-set, 2009.
- REIFF, C.; KELLY, D. Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy. *International Journal of Medical Microbiology*, v.300, p. 25-33, 2010.

- ROUSSEAU, C. *et al.* *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nature Medicine*. New York, v. 13, n. 1, p. 35-37, 2007.
- SAULNIER, D. MA; SPINLER, J.K.; GIBSON, G.R.; VERSALOVIC, J. Mechanisms of probiosis and prebiosis: considerations for enhanced functional foods. *Current Opinion in Biotechnology*, n. 20, p. 135-141, 2009.
- SANZ, Y. Ecological and functional implications of the acid-adaptation ability of *Bifidobacterium*: a way of selecting improved probiotic strains. *International Dairy Journal*, v.17, p. 1284-1289, 2007.
- SANTOS, E.F. *et al.* Alimentos funcionais. *Revista de Pesquisas Biológicas da UNIFEV*, São Paulo, nº 1, p.13-19, 2006.
- SANTOS, F. L. *et al.* Utilização de probióticos na redução da anemia ferropriva. *Diálogo e Ciência*, Salvador, v.7, n. 4, p. 13-18,2008.
- SAXELIN, M. Probiotic Formulation and Applications, the current Probiotic Market, and Changes in the MarketPlace: A European Perspective. *Clinical Infectious Disease*, v. 46, p. S76-S79, 2008.
- SAZAWAL, S. *et al.* Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo-controlled trials. *The Lancet Infectious Diseases*, New York, v.6, n.6, p. 374-382, 2006.
- SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, v. 17, n.11, p. 1262-1277, 2007.
- SHIBY, V. K. & MISHRA, H. N., Fermented Milks and Milk Products as Functional Foods – A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53:5, p. 482-496, 2013.
- SHIMONI, E. in: Garti, N. (Ed.) Starch as an encapsulation material to control digestion rate in the delivery of active food components. *Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2008.
- SILVA, L. I., RODRIGUES, D., FREITAS, A. C., GOMES, A. M., ROCHA-SANTOS, T., Pereira, M., *et al.* Optical fibre based methodology for screening the effect of probiotic bacteria on conjugated linoleic acid (CLA) in curdled milk. *Food Chemistry*, 127, 222–227, 2011.
- SPINLER, H. E. & CORRIEU, G. Automatic method to quantify starter activity based on pH measurement. *J. Dairy Res.* 56: 755-764, 1989.
- STEFE, C.A.; ALVES, M.A.R.; RIBEIRO, R.L., Probióticos, Prebióticos e Simbióticos. *Saúde e Ambiente em Revista*, Duque de Caxias, v.3, n.1, p.16-33, 2008.
- SUN-WATERHOUSE, D. The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review, *International Journal of Food Science and Technology*, n. 46, p. 899-920, 2011.
- SZAJEWSKA H., SETTY M., MRUKOWICZ J., GUANDALINI S. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. *Journal Pediatric Gastroenterol Nutrition*, v. 5, n. 42, p. 454-475, 2006.
- TAMINE, A. Y.; ROBINSON, R.K. *Yogurt: Science and Technology*. 2007. New York: CRC Press. 2007.

TALWALKAR, A.; MILLER, C.W.; KAILASAPATHY, K.; NGUYEN, M.H. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, v. 39, p. 605-611, 2004.

TEIXEIRA, L. H.; JURKIEWICZ, C. H. 2011. Sobrevivência de probióticos em bebida fermentada à base de arroz contendo farinha de banana. Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de Mauá. Disponível em <http://www.maua.br/arquivos/index/h/2e013938a9fd25815131497001d2df3e>

THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescido de prebiótico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas*, v. 26, n. 3, p. 589-595, 2006.

TRASANDE, L., CRONK, C., DURKIN, M., WEISS, M., SCHOELLER, D., HEWITT, J. B., et al. Environment and obesity in the national children's study. *Environmental Health Perspectives*, 117, 159–166, 2009. storage. *Foods Res. Int.*, n. 33, p. 97-102, 2000.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic microflora in Argentinean yogurts during refrigerated

WANG, K. et al. Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. *Pediatric allergy and immunology, Copenhagen*, v. 15, n. 02, p. 152-158, 2004.

XIAO, J. L. *et al* . Probiotic in the treatment of Japanese cedar pollinosis a double-blind placebo-controlled trial. *Clinical and Experimental Allergy. Oxford*, v.3, n.11, p. 1425-1435, 2006.