



DIANA CLARA NUNES DE LIMA

SUCO DE BANANA EM PÓ PROBIÓTICO

CAMPINAS

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DIANA CLARA NUNES DE LIMA

SUCO DE BANANA EM PÓ PROBIÓTICO

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestra em Tecnologia de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA DIANA CLARA NUNES DE LIMA, E ORIENTADA PELO PROF. DR. FLÁVIO LUÍS SCHMIDT.

Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt

CAMPINAS
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
CLAUDIA AP. ROMANO DE SOUZA – CRB8/5816 - BIBLIOTECA DA FACULDADE DE
ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

L628s Lima, Diana Clara Nunes de, 1987-
Suco de banana em pó probiótico / Diana Clara Nunes
de Lima. -- Campinas, SP: [s.n.], 2012.

Orientador: Flávio Luís Schmidt.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. *Lactobacillus acidophilus*. 2. Viabilidade. 3.
Suco em pó. 4. Liofilização. I. Schmidt, Flávio Luís. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Probiotic powder banana juice

Palavras-chave em Inglês:

Lactobacillus acidophilus

Viability

Juice powder

Freeze-drying

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestra em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Flávio Luís Schmidt [Orientador]

Karen Signori Pereira

Priscilla Efraim

Data da defesa: 26-03-2013

Programa de Pós Graduação: Tecnologia de Alimentos

Banca Examinadora

Prof. Dr. Flavio Luis Schmidt
Orientador
Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp

Prof. Dra. Karen Signori Pereira
Membro Titular
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dra. Priscilla Efraim
Membro Titular
Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp

Prof. Dr. José de Assis Fonseca Faria
Membro Suplente
Faculdade de Engenharia de Alimentos - Unicamp

Dr. Valeria Christina Amstalden Junqueira
Membro suplente
Instituto de Tecnologia de Alimentos

“A educação é a arma mais ponderosa que você pode usar para mudar o mundo”

Nelson Mandela

Aos meus pais Dimas Nunes (*in memoriam*) e Quitéria Lima,
Dedico.

Agradecimentos

A Deus por estar sempre presente em minha vida, companheiro fiel;
A minha família, que não mediu esforços para minha formação, pelos conselhos, por acreditar em minhas escolhas e estar ao meu lado em todos os momentos;
Ao meu pai (*in memoriam*) por ter me ensinado a sonhar e a buscar por realização;
Ao Lucas, pelo carinho, amor e compreensão;
Ao Prof. Dr. Flávio Luís Schmidt pela oportunidade, por compartilhar seu conhecimento e experiência, pela simplicidade e humildade de coração, tornando a convivência no ambiente de trabalho agradável e produtiva;
À querida Ana Koon, pela compreensão, acolhimento, entusiasmo e alegria, vista por nós alunos como uma grande amiga;
Aos amigos do laboratório de frutas: Carlyne, Simone, Adriana, Danielle, Kazumi, Sebastian, Juliana pela troca de conhecimento, experiências, pelos momentos de descontração e auxílio;
Aos colegas e amigos, principalmente do Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA): Bruna, Laura, Miguel, Cíntia, Ludmilla, Lígia, Guilherme, Karina, Cecília, Thiago, Bruno, Talita, Leandro que me ofereceram ajuda e companhia nos momentos em que precisei, que davam vida ao DTA nos longos feriados e finais de semana;
Aos antigos e novos Amigos, pelos bons momentos vividos e apoio;
À Diana, técnica do Laboratório de Microbiologia pela atenção e auxílio nos momentos de dúvida;
À Chr. Hansen, N&N Polpas, Corn Products e Fosmix pela colaboração com ingredientes;
Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida;
A todos que de alguma forma me incentivaram e contribuíram para a realização deste trabalho.

OBRIGADA!

Resumo

O consumo de frutas vem crescendo no mercado nacional e internacional, o que está relacionado ao sabor, às preferências pessoais e com mudanças no comportamento do consumidor, que se preocupa cada vez mais com a saúde, o que promove um aumento na demanda de produtos naturais, de alto valor nutritivo. Um grupo de alimentos que também vem ganhando mercado no Brasil são os alimentos probióticos. O leite é a principal matriz alimentícia utilizada como veículo para estes micro-organismos e o desenvolvimento de alimentos probióticos de origem não láctea é uma opção atrativa diante do crescente número de consumidores vegetarianos, da intolerância à lactose, e do colesterol presente nos laticínios. Este trabalho teve o objetivo de desenvolver um suco de banana em pó e utilizá-lo como veículo para o micro-organismo probiótico *Lactobacillus acidophilus*. Uma mistura de purê de banana, maltodextrina, antiiumectante e solução de *L. acidophilus* foi liofilizada, triturada e armazenada por 90 dias a 5, 25 e 35° C. A viabilidade do micro-organismo foi acompanhada durante a vida de prateleira a cada sete dias. Realizou-se também determinação da atividade de água, umidade, pH, acidez, açúcares totais e redutores e ácido ascórbico a fim de entender as relações entre a sobrevivência do *L. acidophilus* e os parâmetros físico-químicos do produto. Realizou-se testes *in vitro* a fim de verificar a tolerância do micro-organismo frente à simulação gastro-intestinal, no tempo zero (após a liofilização) e com 90 dias de armazenamento a 5° C. Além disso, fez-se a caracterização das propriedades físicas do suco em pó e das características físico-químicas do purê de banana utilizado. Na temperatura de armazenamento de 5° C as contagens mantiveram-se na ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹, não havendo diferença significativa ($p>0,05$) a partir do 14° dia de prateleira. Enquanto a 25 e 35° C a viabilidade reduziu gradualmente e após os 90 dias de armazenamento as contagens foram de 10^2 UFC.mL⁻¹. Dentre os parâmetros físico-químicos, a atividade de água e umidade foram os que mais influenciaram na sobrevivência da cultura probiótica. O *L. acidophilus* demonstrou menor resistência à simulação gastro-intestinal depois dos 90 dias de armazenamento, apresentando

48% de sobrevivência. Em relação à caracterização das propriedades físicas e físico-químicas do suco em pó e do purê de banana, os resultados mostram que os produtos apresentaram características similares e qualidade compatível com a de frutas em pó produzidas por outros tipos de secadores e de polpas de frutas estudadas em trabalhos anteriores. Os resultados demonstraram que a aplicação de *L. acidophilus* em suco em pó de banana é viável, se o produto for armazenado a 5° C, sendo esta a temperatura que mais favoreceu a sobrevivência do probiótico e a manutenção das características físicas e químicas do suco em pó. A tolerância do *L. acidophilus* ao estresse gastro-intestinal diminuiu com o tempo de armazenamento. Quanto à caracterização do pó e do purê, os resultados atestam a qualidade do produto, se o mesmo for armazenado em embalagens adequadas e a baixas temperaturas.

Summary

The consumption of fruit is growing in the national and international market, which is related to taste, personal preferences and changes in consumer behavior that is concerned more with health, and this fact promotes an increase in demand for natural products, of high nutritional value. One food group that also has been gaining market in Brazil are the probiotic foods. Milk is the main food matrix used as a vehicle for these microorganisms and the development of probiotic foods of non dairy origin is an attractive option because of its increasing number of vegetarians consumers, lactose intolerance, and the cholesterol content in dairy products. This study aimed to develop a banana puree powder and its use as a vehicle for the probiotic microorganism *Lactobacillus acidophilus*. A mixture of banana pulp, maltodextrin, antiwetting agent and solution of *L. acidophilus* was freeze-dried, crushed and stored for 90 days at 5, 25 and 35 °C. The viability of this microorganism was accompanied during the shelf life study measuring also water activity, moisture, pH, acidity, total and reducing sugars and ascorbic acid in order to understand the relationship between survival of *L. acidophilus* and physico-chemical parameters of the product. It was conducted in vitro tests to verify the tolerance of the microorganism in the gastro-intestinal simulation, at time zero (after freeze dried) and 90 days storage at 5 ° C. Moreover, it was the characterization of physical properties of powdered juice and physicochemical characteristics of banana puree used. At the storage temperature of 5 ° C counts remained in the order of 10^6 UFC.mL⁻¹, with no significant difference ($p > 0.05$) from day 14 of the shelf life. While 25 and 35 ° C the viability decreased gradually and after 90 days of storage counts were 10^2 UFC.mL⁻¹. Among the physico-chemical parameters, water activity and moisture were most influenced the survival of probiotic culture. *L. acidophilus* showed less resistance to simulated gastro-intestinal tract after 90 days of storage, showing 48% survival. With respect to the characterization of physical and physical-chemical properties of powdered juice and banana puree, the results showed that the products have similar characteristics and quality compatible with fruit powder produced by other types of dryers and fruit

pulp studied in previous works. It was concluded, that the application of *L. acidophilus* in banana juice powder is viable if the product is stored at 5 °C, this being the temperature at which most favored the survival of the probiotic and maintenance of the physical and chemical characteristics of the juice powder. The tolerance of *L. acidophilus* to gastro-intestinal stress decreases with the time. As for powder characterization and puree, results substantiate the quality of the product, whether it is stored in appropriate packaging and low temperatures.

Sumário

Resumo	vii
Summary	ix
Sumário	xi
Lista de Tabelas	xiii
Lista de Figuras	xiv
1. Introdução	15
2. Objetivos	16
3. Revisão Bibliográfica	17
3.1. Banana	17
3.2. Desidratação por liofilização	21
3.3. Sucos de fruta em pó	24
3.4. Probióticos em alimentos não lácteos	27
3.5. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	30
4. Material e Métodos	32
4.1. Caracterização do purê de banana	32
4.1.1. pH	32
4.1.2. Acidez total	33
4.1.3. Ácido ascórbico (AA)	33
4.1.4. Sólidos solúveis totais (SST)	33
4.1.5. Ratio	33
4.2. Preparo da cultura de <i>Lactobacillus acidophilus</i>	33
4.3. Preparo do suco de banana probiótico	34
4.4. Obtenção do suco de banana em pó	34
4.5. Caracterização física do suco em pó	35
4.5.1. Higroscopicidade	35
4.5.2. Solubilidade	36

4.5.3.	Tempo de reconstituição.....	36
4.5.4.	Fluidez	36
4.5.5.	Densidade aparente e de compactação	37
4.6.	Vida de prateleira do suco em pó probiótico de banana	37
4.6.1.	Viabilidade do <i>Lactobacillus acidophilus</i>	38
4.6.2.	Análises físico-químicas	38
4.7.	Viabilidade do <i>Lactobacillus acidophilus</i> em suco de banana em pó sob simulação das condições gastro-intestinal.....	41
4.8.	Microscopia eletrônica de varredura	41
4.9.	Análise estatística	42
5.	Resultados e Discussão.....	42
5.1.	Caracterização do purê de banana.....	42
5.2.	Caracterização do suco de banana probiótico em pó	43
5.3.	Vida de prateleira do suco em pó probiótico de banana	47
5.4.	Viabilidade de <i>Lactobacillus acidophilus</i> em suco de banana em pó sob simulação das condições gastro-intestinal.....	57
5.5.	Microscopia eletrônica de varredura	60
6.	Conclusão	63
7.	Referências Bibliográficas.....	64

Lista de Tabelas

Tabela 1: Parâmetros químicos do purê de banana utilizado como matéria prima no suco de banana em pó.....	42
Tabela 2: Resultados de caracterização de propriedades físicas do suco em pó probiótico de banana.....	47
Tabela 3: Parâmetros de cor para amostras do tempo zero e amostras armazenada a 5, 25, 35° C por 90 dias.....	57
Tabela 4: Redução logarítmica do <i>L. acidophilus</i> presente no suco de banana após incubação sequencial do produto em suco gástrico artificial (SGA), suco intestinal artificial (SIA) e a bile 1%.	58

Lista de Figuras

Figura 1: Classificação de banana nanica quanto à maturação.	19
Figura 2: Fluxograma do processamento do suco de banana em pó probiótico	35
Figura 3: Viabilidade de <i>L. acidophilus</i> em suco em pó de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenados a 5, 25 e 35 °C.....	49
Figura 4: Atividade de água do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25, 35° C.....	51
Figura 5: Umidade do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25, 35° C.	53
Figura 6: pH do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25, 35° C.....	55
Figura 8: Teor de ácido ascórbico (AA) expresso em mg/100 g de suco em pó probiótico de banana após liofilização e depois de 90 dias a 5, 25 e 35° C.....	56
Figura 2: Suco em pó probiótico de banana reconstituído em água.	57
Figura 8: Sobrevivência do <i>L. acidophilus</i> veiculado por suco em pó de banana, após exposição do produto com diferentes tempos de vida de prateleira (T= 0 - após liofilização; e T= 90 - dias de armazenamento a 5° C) à simulação gastrointestinal e à bile 1%.	60
Figura 9: Imagem da estrutura do suco de banana em pó e de <i>L. acidophilus</i>	62

1. Introdução

Probióticos são micro-organismos vivos que administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro (FAO, 2001). Tradicionalmente são utilizados em produtos lácteos, fermentados, sorvetes e queijos (SHAH et al., 2000). Porém, atualmente, há um aumento na demanda por produtos probióticos não lácteos e estes micro-organismos já vêm sendo incorporados em diversos produtos, na forma de bebidas vegetais ou até mesmo como suplementos em cápsulas (SCHREZENMEIR & DE VRESE, 2001; PERES, et al., 2012). Como consequência, o comportamento de cepas probióticas em diferentes matrizes alimentares vem sendo alvo de estudos (ISOLAURI, 2007).

Os sucos de frutas já são explorados como meio para estes micro-organismos e a viabilidade é o principal ponto a ser observado no desenvolvimento destes produtos, tanto no processamento, quanto no armazenamento (LUCKOW & DELAHUNTY, 2004; YING et al., 2010). A concentração mínima de bactérias probióticas viáveis no produto deve ser de 10^6 – 10^7 UFC.mL⁻¹ durante toda a vida de prateleira. Sucos de frutas possuem características que contribuem para o crescimento e manutenção dos probióticos (DING & SHAH, 2008; SHEEHAN, et al., 2007; ANVISA, 2002). Além disso, são uma opção ideal para consumidores que possuem intolerância à lactose ou desejam reduzir a ingestão de alimentos que contenham colesterol, ou quando o consumidor se recusa a ingerir lácteos por razões particulares (RIVERA-ESPINOZA & GALLARDO-NAVARRO, 2010).

O desenvolvimento de novos alimentos probióticos apresenta muitos desafios e busca, além de tudo, oferecer ao consumidor produtos saudáveis e mais atrativos. Conveniência e saudabilidade representam as duas mais importantes tendências no setor de alimentos e o consumidor vêm exigindo cada vez mais produtos que aliem os benefícios à saúde e praticidade no preparo.

O objetivo deste estudo foi desenvolver um suco de banana em pó e utilizá-lo como veículo para o micro-organismo probiótico *Lactobacillus acidophilus*.

2. Objetivos

- Acompanhar a viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* durante a vida de prateleira do suco em pó de banana armazenado a 5, 25 e 35° C durante 90 dias.
- Verificar a tolerância do *Lactobacillus acidophilus* no suco de banana em pó durante a simulação das condições gastrointestinais.
- Avaliar as propriedades físicas do suco de banana em pó.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Banana

O Brasil está entre os maiores produtores de frutas do mundo, sendo um dos principais produtores e exportadores de várias espécies frutíferas nativas e exóticas ainda não aproveitadas em todo seu potencial (MAIA, 2009; BUAINAIN & BATALHA, 2007).

As principais frutas produzidas no Brasil são laranja, banana, abacaxi, uva, mamão, coco, maçã e manga. Algumas delas, como a banana, representam expressiva importância para a economia do país, pois se destacam em volume de exportação, porém apresentam baixos valores unitários de venda, tanto no mercado interno como no externo (BUAINAIN & BATALHA, 2007).

A banana (*Musa spp.*) é uma fruta de clima tropical e sua produção concentra-se principalmente nas Américas Central e do Sul. Antes da chegada dos europeus à América, ao que tudo indica, existiam algumas espécies de bananeiras nativas, mas seus frutos não eram consumidos *in natura*, necessitando de cozimento prévio. Presume-se que apenas a partir do século XV o cultivo da banana e o hábito de consumir a fruta *in natura* tenham sido introduzidos no continente americano (SILVA, 2001; BUAINAIN & BATALHA, 2007).

A banana se destaca na produção mundial de bens agrícolas em diversas regiões, assumindo a segunda posição na produção mundial, superada apenas pela melancia. Seu cultivo é desenvolvido em todos os continentes, estando presente em aproximadamente 115 países; o continente asiático contribuiu com 58% da produção mundial, seguido do americano com 27% e do africano com 13%. Em 2007 a Índia liderou o *ranking* dos produtores de banana com um volume de 26.217.000 toneladas da fruta, o que representou 28,1% da produção mundial, seguida pelas Filipinas (9,3%), China (8,6%), Brasil (7,5%), Equador (7,2%) e Indonésia (6,1%). Em 2009, a produção nacional foi de aproximadamente sete milhões de toneladas, das quais menos de 3% foram exportados (BUAINAIN & BATALHA, 2007; FAO, 2011).

No Brasil, o aumento na produção de banana é mais influenciado pela demanda doméstica do que as flutuações do mercado externo. Dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior de 2010 mostram que as exportações nacionais de banana alcançaram 139,6 mil toneladas. A atividade gerou um montante financeiro de 45,4 milhões de dólares, indicando um incremento de 15,2% em relação a 2009, resultante do bom desempenho do preço médio. Isso foi possível devido ao aprimoramento do sistema de produção e à qualificação da mão de obra empregada na atividade, gerando produtos de qualidade e mais competitivos (IBGE, 2007-2009; LSPA, 2011).

Nas regiões menos desenvolvidas economicamente, o cultivo da banana desempenha um papel econômico e social relevante, atuando na fixação da mão-de-obra rural, gerando postos de trabalho no campo e nas cidades, contribuindo para o desenvolvimento regional (SILVA et al., 2008; VIEIRA, 2011).

Atrativa do ponto de vista comercial e nutricional, a banana apresenta elevado consumo, mesmo em regiões não produtoras, como é o caso dos países europeus, EUA e Japão (PASSOS & SOUZA, 1994; AGRIANUAL, 2003). Sua boa aceitação deve-se aos aspectos sensoriais, ao seu valor nutricional, ausência de suco e de sementes duras na polpa e a sua disponibilidade durante todo o ano. Consiste em fonte energética, devido principalmente à presença de carboidratos, além de minerais, como o potássio, cálcio, fósforo, ferro e das vitaminas A, B1, B2 e C (LICHTENBERG, 1999; MESQUITA, et al., 2009). Ocupa o segundo lugar no *ranking* mundial das frutas mais consumidas, 10,38 Kg/hab./ano. A população da América do Sul é a maior consumidora, com 21,13 Kg/hab./ano, seguida da América Central. O clima brasileiro permite que o fruto seja ofertado no mercado interno durante todo o ano, com maiores variações nas estações mais quentes (FAO, 2011).

No Brasil, a maior parte da produção é destinada ao consumo *in natura* e as cultivares mais difundidas são as: i) as bananas do tipo “Prata” (Prata, Pacovan e Prata Anã), responsáveis por 60% da área cultivada; ii) as cultivares do tipo “Maçã” , iii) as do tipo Mysore, iv) as do tipo Cavendish (Nanica, Nanicão e Grande Naine),

preferidas pelo mercado internacional, e, v) as bananas tipo Terra (Terra e D`Angola) (SILVA et al., 2002).

A banana Nanica tem casca de cor amarela e polpa de cor creme, sendo muito doce e agradável ao paladar (MEDINA, 1978). A avaliação do seu grau de maturação e classe é normalmente feita por meio da comparação da cor da casca com figuras já padronizadas, como mostra a Figura 1.

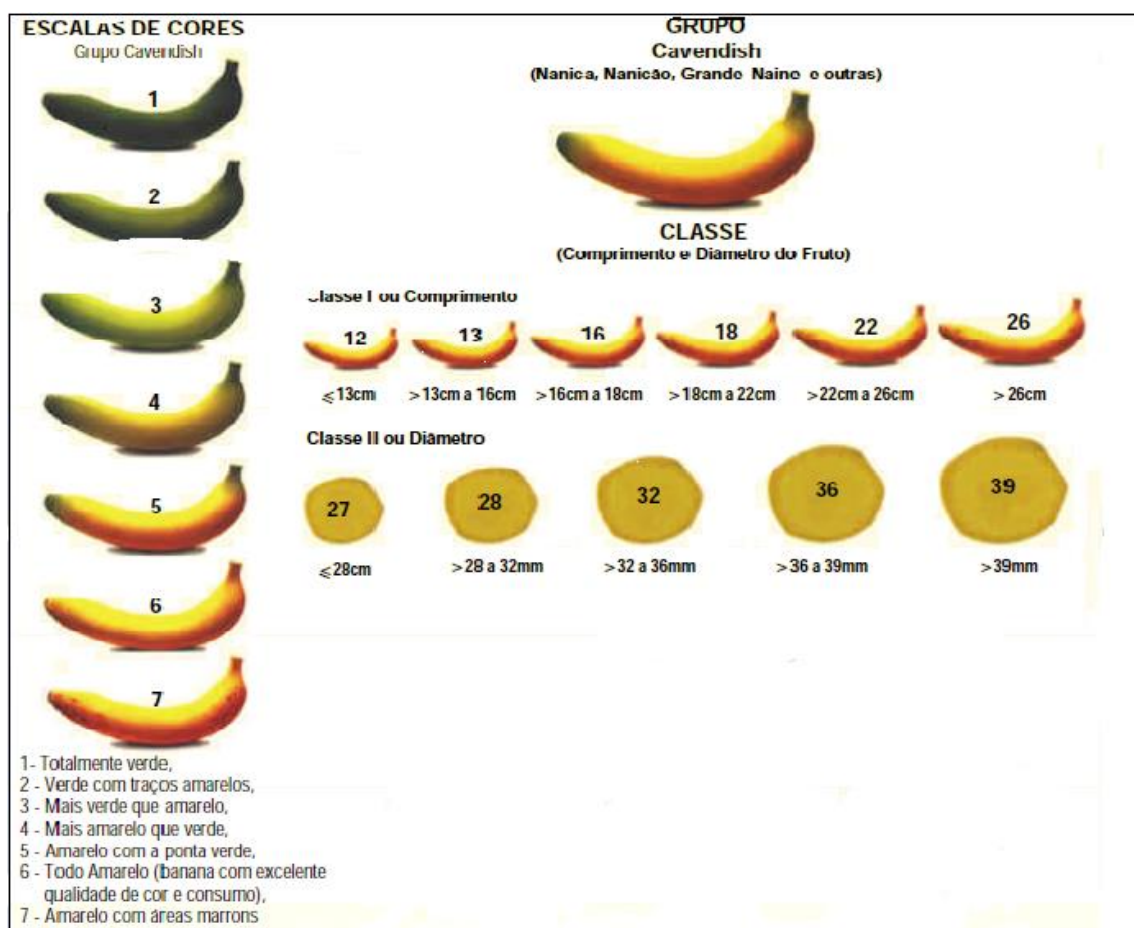


Figura 1: Classificação de banana nanica quanto à maturação.

Fonte: Frutiséries, (2006).

A banana é um fruto extremamente perecível, sendo que cerca de 40% do total produzido é perdido. Este alto índice se deve à baixa utilização de tecnologias mais avançadas de produção, sobretudo nas práticas de pós-colheita. Além disso,

questões como sazonalidade, transporte precário, entre outros fatores, contribuem para a maior susceptibilidade do fruto. Outro fator que impacta a produção da banana é a baixa produtividade das variedades comerciais. Entretanto, existem inovações tecnológicas, principalmente relacionadas à variabilidade genética e ao melhoramento da bananeira, sobretudo no que se refere aos aspectos fitossanitários, que visam sanar alguns problemas encontrados na produção deste fruto (SILVA, 1995; BORGES, et al., 2003; BUAINAIN & BATALHA, 2007).

As perdas na produção são maiores nas Regiões Norte e Nordeste e a industrialização é um dos meios para maior aproveitamento desse fruto (SILVA, 1995; BORGES, et al., 2003). Medina et al. (1995) citam algumas alternativas para o emprego da banana como matéria-prima na produção de alimentos, como o purê, néctares, doces, sucos, banana passa e bananada. Outros autores, como Loreto (1996) sugere a produção de farinha de banana verde ou madura, banana *chips*, cereais matinais, balas, geleias, vinho, vinagre, álcool e amido. Tais produtos são pouco explorados pelos bananicultores, devido ao pouco conhecimento das técnicas de processamento ou em função dos custos (RANZANI et al., 1995; BORGES et al., 1997; OLIVEIRA, 1997). No Brasil, os produtos a base de banana mais produzidos são purê (corresponde a 55%); bananada (20%); banana passa (13%); flocos (10%) e chips (2%) (SILVA et al., 2008). Produtos desidratados, banana liofilizada e na forma de *snacks* (MARQUES, 2008).

Nos anos 90 o número de produtos de varejo produzidos com bananas não aumentou significativamente. No entanto, existe uma taxa de crescimento constante para o consumo purê de banana e produtos de banana congelados. Vitaminas de fruta nos EUA e os sucos de frutas na Alemanha geraram demanda adicional significativa para o purê de banana e de outras frutas tropicais. Outros produtos processados de banana se destacam na América do Norte e Europa. Nos EUA, as bananas em conjunto com a maçã, o abacaxi e a laranja são muito utilizadas na produção de alimentos para bebês. Na Europa, essas misturas são desidratadas e consumidas com cereais, podendo ser reconstituídas em água ou leite. Os produtos

de banana também são utilizados na fabricação de ingrediente para sorvetes, iogurte e *frozen* iogurte. Em vários países da Europa, o leite contém uma pequena proporção de purê de banana, e é vendido como leite aromatizado. O purê de banana é o produto mais importante da banana processada (SOLÉ, 2004).

A princípio foram lançadas bebidas alternativas ao suco de laranja, muito tradicional nos cafés da manhã, o primeiro produto lançado no mercado foi um *blend* de laranja com banana. Já as bebidas compostas apenas de banana são muito comuns na Grécia e no Oriente Médio. Mas, este tipo de produto ainda apresenta baixo consumo, sendo mais utilizado em conjunto com outras frutas (SOLÉ, 2004). A perspectiva para esses produtos é boa, porém a rentabilidade ainda é influenciada pelo excesso de oferta (SOLÉ, 2004).

A tendência é de que o consumo de frutas *in natura* se torne menor do que seu consumo industrializado e neste ponto a agroindústria é parte importante da cadeia de produtiva de frutas, pois agrega valor, reduz os desperdícios e as perdas oriundas dos processos de seleção e classificação, promove o aproveitamento dos excedentes de safra, cria empregos permanentes e satisfaz o novo perfil do consumidor que busca alimentos mais saudáveis (MARQUES, 2008).

3.2. Desidratação por liofilização

Em um país com condições climáticas tão diferenciadas, de grande extensão territorial e com tanta diversidade frutífera como o Brasil, a tecnologia pós-colheita, bem como o processamento são pontos essenciais que contribuem com a redução dos desperdícios, ampliam a vida de prateleira e agregam valor aos produtos agrícolas (ORNELLAS, 2001; CAMARGO e QUEIROZ, 2003).

A desidratação foi um dos primeiros métodos utilizados pelo homem para prolongar a vida de prateleira dos alimentos. É um dos mais importantes métodos de preservação e produção de uma grande variedade de produtos. É definida como aplicação de calor sob condições controladas para remover grande parte da água presente em um produto, o que inibe o crescimento microbiano e a atividade

enzimática (FELLOWS, 2006). A desidratação, na maioria dos casos, muda a forma física e bioquímica da fruta levando ao encolhimento e mudança na cor, textura e sabor. Se a atividade de água é reduzida a níveis adequados, o produto seco pode ter uma vida útil superior a um ano, se devidamente acondicionado. A fruta pode ser seca inteira (uvas, damasco, ameixa, etc.), em fatias (manga, banana, papaia, kiwi, etc.), sob a forma de puré (manga, damasco, banana, etc.), ou por pulverização ou secagem em tambor. As diversas formas de secagem permitem manter ao máximo suas características naturais, sendo que a tecnologia mais adequada deve ser escolhida em função do tipo da fruta e da forma física (por exemplo, conjunto, pasta, fatias) (SOLÉ, 2004).

Além disso, outros fatores intrínsecos à fruta devem ser observados durante a escolha do tipo de secador, entre eles: o teor de umidade inicial; sensibilidade a temperaturas elevadas, o que pode promover alterações na cor, textura, sabor, valor nutricional; suscetibilidade ao desenvolvimento microbiano; teor de açúcar; presença de película com baixa permeabilidade a água ou umidade (SOLÉ, 2004).

As técnicas de desidratação mais utilizadas na tecnologia de frutas são a secagem solar, secagem conectiva, micro-ondas, desidratação osmótica, *foam-mat*, *spray-drying*, liofilização e leite fluidizado (MARQUES et al., 2006).

A liofilização divide-se em três estágios, denominados de congelamento, sublimação e dessorção. Contudo o sucesso do processo de liofilização depende significativamente da etapa de congelamento, pois define o tamanho, distribuição e conectividade dos poros, se os cristais de gelo são pequenos e descontínuos a taxa de transferência de massa de vapor de água pode ser limitada. Por outro lado, se o tamanho dos cristais for formado de maneira apropriada, e a dispersão da solução pré-eutética e pós-eutética congelada é homogênea, a taxa de transferência de massa de vapor de água na camada seca pode ser elevada e o produto secar mais rapidamente (LIAPIS et al., 1996). Na segunda etapa a água congelada é removida por sublimação, no qual se faz necessário o uso de baixa pressão no liofilizador, próxima a pressão de vapor de equilíbrio da água congelada. Além disso, por se

tratar de um fenômeno essencialmente endotérmico, se faz necessário o fornecimento de calor durante todo o processo, que pode ser feito por meio de condução, radiação ou combinado ambos os métodos. O último estágio é a dessecção, tem início com o fim da sublimação, quando não há mais camada congelada. Nesta etapa ocorre a retirada da água ligada à estrutura do material até que a umidade residual seja tão pequena que o material se mantenha estável e com alta qualidade por longo tempo (LUCCAS, 1998). Por trabalhar sob baixas temperaturas e vácuo, esta tecnologia gera produtos de qualidade superior quando comparados às outras técnicas de secagem (RATTI, 2001).

Na ausência de água líquida e às baixas temperaturas requeridas no processo, o encolhimento e a migração de sólidos solúveis do interior do material são minimizados, a estrutura porosa do material seco facilita a rápida reidratação, a retenção de componentes aromáticos voláteis é favorecida e as reações degradativas são minimizadas (RATTI, 2001; GEORGE & DATTA, 2002).

O mercado tem disponibilizado uma variedade de produtos desidratados que apresentam grande diversificação e aplicação, tais como sopas instantâneas com vegetais desidratados, frutas desidratadas (maçã, abacaxi, manga e banana) sucos de frutas em pó, polpas de frutas em pó, entre outros (SANTOS, 2005). Diante do valor nutricional e comercial das frutas, é essencial o uso de uma tecnologia de desidratação adequada, que preserve as características sensoriais e nutricionais (MARQUES, 2008).

Nesse sentido, a desidratação é uma técnica viável para maior aproveitamento de excedentes de safra, reduzir os desperdícios e perdas pós-colheita, disponibilizando para o mercado consumidor a comercialização de *commodities* sazonais, de produtos estáveis, seguros, práticos e com longa vida de prateleira (MAIA, 2007). Além disso, vem sendo vista como um método capaz de introduzir novos produtos no mercado, com características próprias e cujas propriedades são mantidas por um tempo mais prolongado, viabilizando a regularização da oferta e melhorando o perfil do investimento na produção e no beneficiamento do material *in*

natura, face aos benefícios que derivam da transformação do produto (SOARES et al., 2001).

3.3. Sucos de fruta em pó

O Brasil é um grande produtor de frutas e possui uma das maiores diversidades de espécies frutíferas do mundo, porém apresenta baixo consumo per capita de frutas frescas (IBRAF, 2004). Do total de frutas produzidas anualmente, estima-se que 14% sejam constituídas por frutas tropicais de pouca exploração econômica, como por exemplo, cajá, umbu, mangaba, entre outras (FAO, 2005).

As variadas formas de comercialização das frutas mostram sua boa aceitação no mercado, principalmente no que se refere aos sucos. Desde os anos 70 o consumo de sucos de frutas processadas vem despontando, influenciado principalmente, pelos avanços na tecnologia de alimentos, que permitiram a fabricação de produtos de qualidade, com maior vida de prateleira e ao mesmo tempo mantendo características semelhantes ao produto *in natura* (VARNAM, 1994). O desenvolvimento do setor acontece, principalmente, em função da praticidade aliada a saudabilidade, ou seja, produtos de fácil manuseio e rápido preparo e que sobre tudo atendam as necessidades nutricionais básicas (MATSUURA, et al., 2002).

Em geral, a inserção de novas marcas e sabores de sucos de frutas vem aumentando cerca de 6% ao ano, sendo que observa-se uma tendência de que dois terços dos consumidores procuram produtos livres de aditivos e conservantes artificiais na seleção de sucos de frutas e néctares. Embora os sucos de frutas ajudem a impulsionar este segmento de mercado aliando aos produtos um apelo mais saudável, as preocupações com açúcar e o valor calórico são obstáculos para alguns consumidores (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010).

Pesquisas mostraram um crescimento de 21% entre 2002 e 2009, sendo que em 2009 foram comercializados 1.413 milhões de litros de suco a mais que em 2002. O grande destaque foi à categoria Sucos e Néctares, que cresceu 158,5% em sete

anos. O consumo de sucos em pó cresceu 33% e o de suco concentrado teve um incremento de 8% (ABIR, 2011).

Os sucos concentrados e o preparado sólido para refresco são os principais produtos dentro do setor das bebidas de frutas. Em 2009 na América Latina o segmento de refrescos em pó foi responsável por 58% dos novos lançamentos, seguido pelos sucos concentrados, sendo que o Brasil representou mais da metade (56%) dos produtos lançados na América Latina, seguido pelo México com 17% (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010).

O preparado sólido para refresco tem posição de destaque no mercado devido ao baixo custo, praticidade, portabilidade, vida de prateleira prolongada e rendimento. Tais fatores garantem sua aceitação no mercado, principalmente nos países em desenvolvimento, tanto por adultos quanto por crianças (CANO-CHAUCA, et al., 2005; NEVES et al., 2011).

No Brasil o produto surgiu na década de 60, comercializado em embalagens pequenas de 6g. Na década de 90 começou a perder mercado para os refrigerantes, porém para reverter à situação a formulação do preparado sólido para refresco foi modificada, e além dos ingredientes usuais, houve introdução de polpa desidratada de frutas e de fibras solúveis, a fim de tornar o produto mais atrativo para o consumidor (FUJII, 1999; CALEGUER, 2005). Nos últimos anos, as mudanças concentram-se sobre a limitação de açúcar, baixo teor calórico, adição de vitaminas, conteúdo mineral, impulsionado por um forte interesse do consumidor em linhas fortificadas (ADITIVOS E INGREDIENTES, 2010).

No ano de 2009 o consumo desse tipo de produto cresceu 33% e os sabores que mais se destacaram foram laranja, abacaxi e manga (ABIR, 2010). No mesmo ano o consumo global de preparado sólido para refresco e de suco concentrado foi de 35 milhões de litros (NEVES et al., 2011).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento o preparado sólido para refresco é o produto à base de suco ou extrato vegetal de sua origem e açúcares, podendo ser adicionado de edulcorantes hipocalóricos e não calóricos,

acidulantes, aromatizantes e outras substâncias aprovadas, sendo destinado à elaboração de bebida, para o consumo imediato, pela adição de água potável. É vedado o uso da denominação "bebida de fruta, ou de extrato vegetal ou de parte do vegetal" em substituição à denominação "refresco". Os ingredientes são basicamente, açúcar cristal, polpa de fruta desidratada (1%), vitamina C, acidulante, aromatizante, corantes, edulcorante e estabilizante (BRASIL, 1998). Apesar de possuírem uma participação significativa no mercado de consumo de bebidas, os refrescos em pó são associados a produtos de segunda linha, por se tratarem de produtos com adição de ingredientes artificiais, fator negativo para este segmento da indústria de bebidas (CALEGUER, 2005).

Comparando-se com os diversos setores da indústria alimentícia brasileira, o de sucos de frutas ainda não tem explorado todo seu potencial, o que poderia ser conseguido por meio da disponibilização de bebidas alternativas e diferenciadas. A chave para se conquistar este crescente mercado reside na disponibilidade, na imagem de produto natural e na possibilidade de oferecer aos consumidores uma ampla variedade de sabores (VEENEMAN, 1999).

Considerando as tendências atuais por alimentos nutritivos e de rápido preparo, a desidratação de sucos para utilização em bebidas instantâneas apresenta-se como uma interessante alternativa em substituição aos similares artificiais existentes no mercado (PRATICIDADE, 2002; MARQUES, 2008). Quando embalados adequadamente, têm uma vida de prateleira superior a 12 meses mesmo estocados à temperatura ambiente, representando uma economia nos custos de transporte e armazenamento.

O suco e/ou a polpa em pó possuem alto potencial de mercado, por se tratar de alimentos naturais, que atendem às tendências atuais (CANO-CHAUCA et al., 2005, GRANATO et al., 2010). São produtos utilizados extensivamente na elaboração de bebidas de fruta ou incorporados como ingredientes no processo de outros alimentos, de fácil reconstituição, baixa relação massa/volume, maior vida de prateleira, que podem ser armazenados em temperatura ambiente, permitindo

redução de custo com embalagens e despesas inerentes à conservação a frio e transporte (CANO-CHAUCA et al., 2005). O que permite o consumo de frutas que normalmente não seriam consumidas *in natura*, seja por impossibilidade geográfica ou climática, por motivos de entressafra ou, simplesmente, pela facilidade no consumo (SCHIMDT & PEREIRA, 2011).

A desidratação tem motivado maiores investimentos no processo de industrialização das frutas e hortaliças, face aos benefícios monetários que derivam do lançamento de produto no mercado (SOARES et al., 2001).

3.4. Probióticos em alimentos não lácteos

O papel cada vez mais influente da indústria de alimentos sobre a dieta e estilo de vida dos consumidores vem acompanhado do desafio de atender a demanda por produtos que sejam saborosos, visualmente atrativos e que visem o bem-estar físico e mental. Entre esses alimentos, estão aqueles denominados funcionais, que além dos efeitos nutricionais conhecidos, contribuem com benefícios clínicos ou de saúdes comprovados (SAAD, et al., 2011). Tratando-se de alegação a saúde, os produtos probióticos se destacam e vem sendo amplamente divulgados e estudados para aplicações tecnológicas e industriais (LOURENS-HATTINGH e VILJOEN, 2001; GRANATO, et al., 2010)

A definição mais recente de probióticos é a de micro-organismos vivos, que quando consumidos em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde (FAO, 2001). Promovem efeitos considerados terapêuticos, fixam-se na parede intestinal e para isto devem permanecer viáveis ao longo da vida de prateleira e ser frequentemente consumidos (SCHREZENMEIR & DE VERSE 2001). São comumente comercializados em alimentos lácteos, sendo 78% destes produtos distribuídos na forma de iogurtes (CARGILL, 2009). Acredita-se que, inicialmente, este segmento foi dominado por lácteos devido à própria composição, processo, familiarização dos consumidores com o fato de que estes alimentos possuem micro-organismos viáveis e por se tratar de produtos presentes no dia a dia, o que facilita a

recomendação diária de ingestão (HELLER, 2001). No entanto, com o crescimento do número de consumidores vegetarianos, intolerantes à lactose e alérgicos as proteínas do leite, a inclusão de probióticos em alimentos não láteos vem se tornando uma opção cada vez mais atrativa para a indústria (CHAMPAGNE, et al., 2005; YOON, et al., 2006).

Há evidências de que as matrizes alimentares desempenham um papel importante nos efeitos benéficos à saúde. O desenvolvimento de produtos probióticos não lácteos é um desafio para a indústria de alimentos, a viabilidade dos micro-organismos é a principal barreira, pois deve ser mantida durante o processamento, armazenamento e passagem pelo trato gastrintestinal (YING et al., 2010). A concentração mínima de bactérias vivas indicadas deve ser de $10^6 - 10^7$ UFC.mL⁻¹ em produtos como iogurtes e sucos de frutas (ANVISA, 2002; DING & SHAH, 2008). Alguns estudos buscam verificar a sobrevivência destas cepas em diferentes matrizes, a investigação agora se concentra tanto nas estirpes de probióticos quanto na matriz e as consequentes interações entre estes (ISOLAURI, 2007).

Os produtos a base de frutas tem vantagens, tais como, quantidades elevadas de açúcares, vitaminas e minerais, os quais em geral aumentam a sobrevivência dos probióticos durante o armazenamento (DING & SHAH, 2008; SHEEHAN, et al., 2007). Estudos mostram que os principais fatores que influenciam na viabilidade dos probióticos em sucos de frutas incluem o pH e os níveis de ácidos orgânicos, fibra dietética, proteína total, fenol e oxigênio (CHAMPAGNE, et al., 2005; NUALKAEKUL, et al., 2011).

O desenvolvimento de um suco probiótico vem ao encontro do consenso atual sobre a importância do consumo de vegetais para uma alimentação balanceada, uma vez que bebidas de origem vegetal são naturalmente tidas como saudáveis e isentas de colesterol. Sendo também, uma alternativa para o consumo de alimentos probióticos por vegetarianos, alérgicos a leite e/ou intolerantes à lactose (CHAMPAGNE et al., 2005; SCHMIDT & PEREIRA, 2011). No entanto, para um suco

de fruta manter as características que o definem, é importante que as alterações dos componentes da bebida sejam reduzidas, isso implica em controlar o crescimento dos micro-organismos no produto, de modo que se mantenha a sua viabilidade e funcionalidade durante a vida de prateleira (SCHMIDT & PEREIRA, 2011).

As bactérias pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são mais frequentemente empregadas como suplementos probióticos nos alimentos (SAAD, 2006). Os lactobacilos são utilizados em uma maior diversidade de alimentos incluindo, leites, hortaliças, frutas e cereais. Por outro lado, a aplicação de bifidobactérias é mais limitada e ainda muito restrita a derivados lácteos, devido a sua sensibilidade a condições ácidas, considerando que os sucos de frutas são bebidas em sua maioria ácidas e que, com a atividade microbiana os valores iniciais de pH tendem a baixar ainda mais. No entanto a resistência à acidez varia com a espécie. O *B. animalis*, por exemplo, é visivelmente mais resistente que outras espécies de *Bifidobacterium* como o *B. breve*. (SAARELA, 2006; CHAMPAGNE, et al., 2005; SHEEHAN et al., 2007). Porém quando comparado a outras espécies probióticas a capacidade do *L. acidophilus* em tolerar baixas concentrações de oxigênio e resistir ao pH de leite fermentado (pH 4,6) contribuem para sua utilização na produção de leite fermentado (GOMES e MALCATA, 1999).

O impacto sensorial que os probióticos promovem nos alimentos também deve ser observado, uma vez que o metabolismo destes micro-organismos pode produzir componentes que contribuem negativamente no aroma e sabor, é o chamado *probiotic off-flavor*, que influencia na aceitação com conseqüente redução da utilização do produto na frequência requerida para obtenção dos benefícios alegados (LUCKOW; DELAHUNTY, 2004; GRANATO et al., 2010). Luckow et al. (2004; 2005), constataram *off-flavor* associado com sabor “medicinal” e “lácteo” em bebida à base de suco de laranja suplementada com lactobacilos. *Bifidobacterium* spp. produz ácido acético como produto de seu metabolismo, o que pode resultar em aroma de vinagre, prejudicando a performance nas avaliações sensoriais (TAMIME et al., 1995). De acordo com Luckow, et al. (2004b; 2005) seriam basicamente três as

maneiras de reduzir o impacto negativo do *off-flavor* na aceitação destas bebidas: mascarar o sabor e odor indesejável, familiarizar o consumidor com o produto e informá-lo dos benefícios à saúde que tal consumo traria.

3.5. *Lactobacillus acidophilus*

O gênero *Lactobacillus* foi isolado pela primeira vez por Moro a partir das fezes de lactentes amamentadas com leite materno (FERNANDES, et al., 2008). Inclui cerca de 80 espécies reconhecidas e é filogeneticamente diverso. No *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, o gênero *Lactobacillus* é descrito como um grupo heterogêneo de bastonetes regulares, Gram-positivos e não-esporulados (HOLZAPFEL, et al., 2001).

A divisão clássica dos lactobacilos está baseada em suas características fermentativas, podendo ser obrigatoriamente homofermentativos, heterofermentativos facultativos e heterofermentativos obrigatórios (AXELSSON, 2004). Vários lactobacilos homofermentativos obrigatórios e heterofermentativos facultativos e obrigatórios são utilizados em alimentos fermentados, como queijo, iogurte, kefir, salame, polvilho, azeitonas, picles, molhos ácidos, entre outros (JAY, 2005).

Os lactobacilos obrigatoriamente homofermentativos incluem aqueles que fermentam glicose exclusivamente em ácido láctico e não fermentam pentoses ou gliconato. Exemplos desse grupo são as espécies *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus delbrückii*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus salivarius* (HOLZAPFEL, et al., 2001; JAY, 2005).

O interesse pela presença dos lactobacilos na dieta humana aumentou desde o início do século XX, quando Elie Metchnikoff – Instituto Pasteur, Paris – promoveu o uso desses microrganismos para a bacterioprevenção e bacterioterapia (STILES & HOLZAPFEL, 1997).

Hoje, o *Lactobacillus acidophilus* é o micro-organismo probiótico mais utilizado e estudado, com extenso histórico de segurança para o seu consumo pela população saudável, considerado GRAS (*generally recognized as safe*) (O'SULLIVAN, 2006). Sua utilização em leites fermentados tornou-se popular no final da década de 70 como resultado de grande aumento no conhecimento da taxonomia e ecologia (GOMES e MALCATA, 1999).

Espécies de *Lactobacillus* spp. ocorrem naturalmente no intestino delgado humano. O gênero contém grande número de espécies com propriedades bioquímicas e fisiológicas variadas, capazes de crescer em temperaturas que variam de 2°C a 53°C, com valores ótimos, geralmente, de 30°C a 40°C, e pH ótimo entre 5,5 e 6,2 (KANDLER e WEISS, 1986). São Gram-positivos, não esporulados, catalase-negativos, desprovidos de citocromos, anaeróbios, mas aerotolerantes, ácido-tolerantes e estritamente fermentativos. O ácido láctico é o principal produto final da fermentação de açúcares (HOLZAPFEL, et al., 2001; AXELSSON, 2004).

Estudos sugerem que a ingestão de uma dose diária de 10^8 a 10^{10} UFC de micro-organismos probióticos, o que representa o consumo de 100 g do alimento contendo no mínimo 10^6 UFC/g, é necessária para que esses possam desempenhar efeito probiótico (FULLER, 1989; MATTILA-SANDHOLM et al., 2002, REID et al., 2003).

A microbiota intestinal exerce influência considerável sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro. Três possíveis mecanismos de ação são atribuídos aos dos probióticos, a supressão do número de células viáveis, através da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por sítios de adesão; a alteração do metabolismo microbiano, através do aumento ou da diminuição da atividade enzimática; o estímulo da imunidade do hospedeiro, através do aumento dos níveis de anticorpos e o aumento da atividade dos macrófagos. O espectro de atividade dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (FULLER, 1989; SAAD, 2006).

Möller e De Vrese, (2004) revisaram os efeitos probióticos das espécies *Lactobacillus acidophilus* linhagem LA-5[®]. Existem evidências, de que essa linhagem seja capaz de proporcionar balanceamento das instabilidades temporárias na microbiota intestinal, além de inibir a invasão e a colonização de microrganismos patogênicos; aumentar a concentração de ácidos orgânicos de cadeia curta, diminuindo o valor do pH; e diminuir a concentração de amônia, de indóis e de outras substâncias putrefativas no intestino. O consumo de probióticos por quatro semanas antes do tratamento com antibióticos reduziu a intensidade das complicações intestinais dos pacientes (diarreia ou constipação, dor abdominal, náusea, flatulência), quando comparados ao grupo controle (placebo). Houve menor número de casos de diarreia associada ao rotavírus em 55 crianças hospitalizadas, nos Estados Unidos da América, quando comparadas ao grupo que recebeu placebo. Somam-se a isso o aumento da produção de anticorpos e os efeitos anticarcinogênico (produção de substâncias que inibem a divisão e o crescimento das células do tumor) e anticolesterolêmico (desconjugação de sais biliares).

4. Material e Métodos

Para realização dos experimentos foi utilizado purê de banana (N&N Comércio de Alimentos). O purê é esterilizado, adicionado de vitamina C e envasado em bags assépticos de 2,5 Kg.

4.1. Caracterização do purê de banana

A caracterização do purê foi realizada em triplicata:

4.1.1. pH

Verificou-se o pH do purê de banana por meio do potenciômetro (Digimed Modelo DM-20) previamente calibrado (AOAC, 1995).

4.1.2. Acidez total

A acidez total titulável foi realizada por titulometria com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando-se o indicador fenolftaleína, sob constante agitação até mudança de cor, do amarelo para rósea persistente. Para isso, uma alíquota de 10 mL da amostra foi diluída em 100 mL de água destilada. Anotou-se o volume gasto de hidróxido de sódio e calculou-se a acidez total titulável, expressa em % ácido málico (AOAC, 1995).

4.1.3. Ácido ascórbico (AA)

Para determinação de ácido ascórbico, foi utilizado o método titulométrico da AOAC (1995), 5 g da amostra foram diluídas em solução de ácido oxálico (2%) e tituladas com 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) até ponto de viragem. O volume gasto foi anotado e calculou-se o teor de ácido ascórbico a cada 100 g de produto (BENASSI & ANTUNES, 1988).

4.1.4. Sólidos solúveis totais (SST)

As medidas de teor de sólidos solúveis foram realizadas por meio de leituras diretas em refratômetro digital com compensador de temperatura (Leica/ Modelo AR200).

4.1.5. Ratio

Determinado por meio da razão entre o valor obtido para acidez total expressa em ácido málico e para sólidos solúveis totais (°Brix) da amostra.

4.2. Preparo da cultura de *Lactobacillus acidophilus*

A cultura de *Lactobacillus acidophilus* La5 (Christian Hansen, Valinhos, Brasil) foi cultivada aerobicamente em caldo Man Rogosa Sharpe (Difco) a 37° C por 15 horas. O conteúdo foi fracionado em tubos estéreis e submetido à centrifugação (centrífuga Fanem/ Modelo 204-n) por 15 minutos a 4000 rpm. O sobrenadante foi

descartado e as células foram lavadas por centrifugação com solução tamponada peptonada. O procedimento foi realizado por três vezes, obtendo-se no final uma suspensão de células. Fez-se então, contagem destes micro-organismos por plaqueamento em profundidade mais sobre camada, em ágar Man Rogosa Sharpe (Difco), a fim de se verificar a concentração inicial de células na suspensão que foi utilizada no preparo do produto. Tal procedimento foi repetido para cada experimento (RÖBLE, et al. 2010).

4.3. Preparo do suco de banana probiótico

O preparado para suco de banana foi obtido por meio da mistura de purê de banana a 20 % de Maltodextrina 10 DE (1910 Corn Products Brasil®) e 0,25 % de antiemectante fosfato tricálcio (Fosmix) sob agitação (agitador mecânico digital Tecnal/ Modelo TE – 039/1) por 3 min. Após completa dissolução, adicionou-se uma suspensão de células de *L. acidophilus* à mistura. O produto foi colocado em bandejas, numa espessura de um cm, e congelado a - 20°C por quatro horas.

4.4. Obtenção do suco de banana em pó

A mistura para suco de banana já congelada a - 20 °C foi levada ao liofilizador (Edwards®/Modelo super modulyo) onde permaneceu por 48 horas. A temperatura do condensador foi de - 50 á - 60 °C sob pressão de $3,9 \times 10^{-2}$ mbar. O material desidratado obtido foi triturado em processador (Blendetc/Smoothen) até obtenção do pó. O suco de banana em pó adicionado de probióticos foi dividido em porções de dois gramas. As mesmas foram embaladas em sachês laminados (polipropileno tereftalato, alumínio, polietileno) e fechadas por termosoldagem em seladora (Selovac/2005). As amostras foram armazenadas por três meses a diferentes temperaturas, 5, 25 e 35 °C, para estudo de sua vida de prateleira. Segue o fluxograma de processamento do suco em pó probiótico de banana.

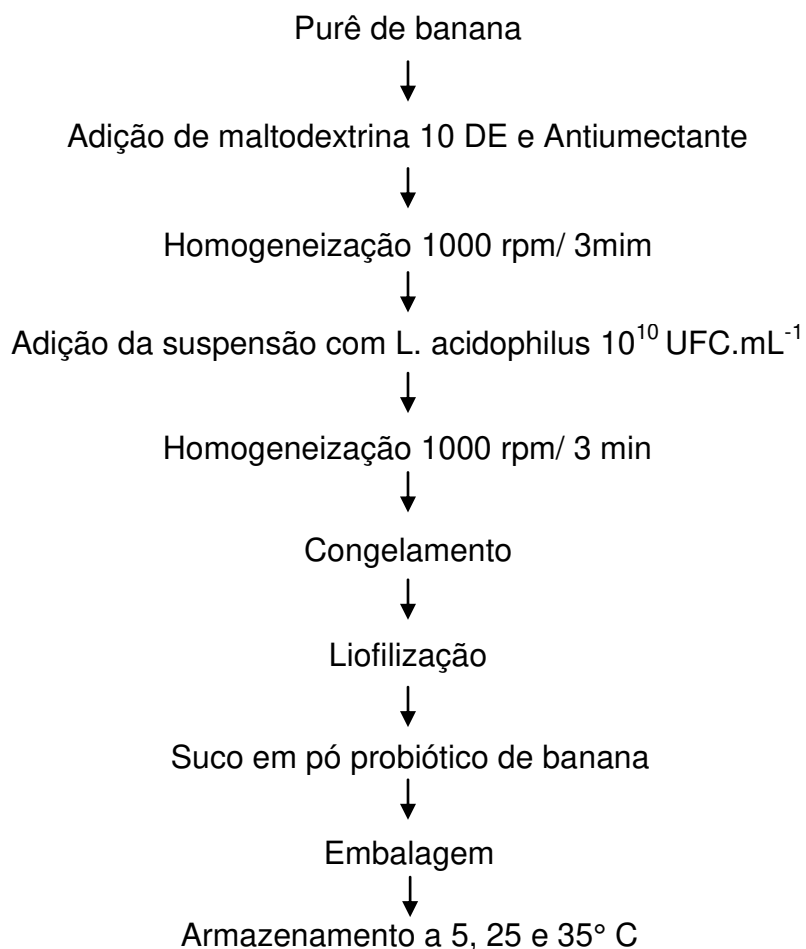


Figura 2: Fluxograma do processamento do suco de banana em pó probiótico

4.5. Caracterização física do suco em pó

A caracterização física do produto em pó foi realizada em triplicata, logo após o processo de liofilização (T = 0):

4.5.1. Higroscopicidade

A higroscopicidade foi definida como a umidade de equilíbrio atingida pelo produto, quando exposto à umidade relativa. Para a determinação da higroscopicidade, aproximadamente 1 g do suco em pó foi colocado em cápsulas de

alumínio e mantidos em dessecador contendo solução saturada de cloreto de sódio (umidade relativa de 75,0 %). As amostras foram pesadas até obtenção de peso constante (TONON, et al., 2009).

4.5.2. Solubilidade

Determinou-se de acordo com método descrito por Eastman & Moore (1984) citado e modificado por Cano-Chauca et al. (2005). Adicionou-se 100 mL de água destilada em um béquer de 250 mL, um grama do suco em pó foi adicionado e a solução foi levada a um agitador (Tecnal/ TE-039/1) a 1000 rpm por 5 min. A solução obtida foi transferida para tubos de centrífuga e levada à centrifugação (Fanem/ 204-n) a 3000 rpm por 5 min. Uma alíquota de 20 mL do sobrenadante obtido foi transferida para uma placa de petri já pesada e então levada a uma estufa (Tecnal/ TE 394/1) a 105 °C. O percentual de solubilidade foi calculado a partir da diferença entre o peso final e inicial do material contido na placa.

4.5.3. Tempo de reconstituição

O tempo de reconstituição do suco em pó foi determinado de acordo com Kachan (1988) com adaptações, pelo tempo requerido sob agitação para completa reidratação do produto em água destilada. O método consistiu em adicionar 20 g de pó a 80 mL de água destilada a temperatura ambiente sob agitação (Tecnal/ TE-039/1) a 200 rpm, com acompanhamento visual em intervalos de 30 segundos até desaparecimento de aglomerados da amostra.

4.5.4. Fluidez

Medida do ângulo de repouso estático segundo método descrito por Bhandari et al., (1997). Fixou-se um funil a uma determinada altura de uma superfície horizontal. O pó foi despejado lentamente pelo funil, formando um amontoado de formato cônico. A partir da altura (1,5 cm) e raio (3,75 cm) deste cone, foi determinado o ângulo de repouso.

4.5.5. Densidade aparente e de compactação

As análises foram realizadas de acordo com Hahne (2001) citada por Birchall (2003) com modificações, avaliando-se o empacotamento livre e a compactação máxima. Pesou-se 20 g do pó, transferiu-se para uma proveta de 100 mL, registrou-se o volume ocupado pela amostra, obtendo-se a densidade aparente (ρ_{apmin}). Em seguida, a proveta foi fechada com filme plástico e batida por 40 vezes consecutivas em uma superfície horizontal, novamente registrou-se o volume obtido e determinou-se a densidade aparente do leito em sua compactação máxima (ρ_{apmax}).

A partir dos valores obtidos determinou-se o fator de Hausner (FH) e índice de compressibilidade (IC), conforme as equações 1 e 2:

$$FH = \frac{\rho_{apmax}}{\rho_{apmin}} \quad \text{(Equação 1)}$$

$$IC = \frac{\rho_{apmax} - \rho_{apmin}}{\rho_{apmax}} \quad \text{Equação (2)}$$

4.6. Vida de prateleira do suco em pó probiótico de banana

A vida de prateleira foi estimada por meio da realização de análises de viabilidade do *L. acidophilus*, bem como determinação da atividade de água (Aa), teores de umidade, pH, acidez total, açúcares totais e redutores e ácido ascórbico a fim de entender as relações entre a sobrevivência do micro-organismo probiótico e os parâmetros físico-químicos do produto.

4.6.1. Viabilidade do *Lactobacillus acidophilus*

Amostras armazenadas a 5, 25 e 35° C foram analisadas nos tempos zero e 24 horas e a partir de então, semanalmente, durante o período de três meses. Para isto, cada amostra foi reconstituída em água estéril 20% (p/v) para obtenção do suco de banana. A solução obtida foi diluída em 90 mL de água peptonada tamponada 0,1% (diluição 10⁻¹), realizando-se as demais diluições a partir desta. As contagens foram realizadas em duplicata, por plaqueamento em profundidade e sobre camada, utilizou-se o meio de cultura Man Rogosa Sharpe Agar – MRS (Difco), incubando-se a 37°C por 72 horas (LIMA, et al., 2009). Realizou-se também, a contagem do *L. acidophilus* na suspensão de células utilizada.

4.6.2. Análises físico-químicas

A atividade de água (Aw), umidade, pH e acidez total foram realizadas após o processo de liofilização (T=0) e nos tempos de 30, 60 e 90 dias de armazenamento a 5, 25, 35°C. Enquanto o teor de ácido ascórbico, a cor, açúcares totais e redutores foram realizados após a liofilização e 90 dias de vida de prateleira.

4.6.2.1. Atividade de água

A atividade de água do pó foi obtida por medida em higrômetro Aqua Lab (Cx-2T - Decagon), após liofilização e a cada 30 dias de vida de prateleira.

4.6.2.2. Umidade

A umidade foi determinada por evaporação até peso constante em estufa (Tecnal/ TE-394/1) com circulação de ar a 105 °C. Aproximadamente 2 g de amostra foram misturadas a 4 g de areia e colocadas em placas de petri previamente secas e pesadas e então levadas à estufa. Para acompanhamento da perda de umidade, as amostras foram retiradas da estufa e levadas a dessecadores até resfriamento e então pesadas. O procedimento foi repetido até obtenção de peso constante. A

umidade foi verificada após liofilização e a cada 30 dias de vida de prateleira (AOAC, 1995).

4.6.2.3. pH

Verificou-se o pH do suco em pó reconstituindo-o em água destilada, 20 % (p/v), após liofilização e a cada 30 dias de vida de prateleira. Utilizou-se potenciômetro (Digimed/ DM-20) previamente calibrado (AOAC, 1995).

4.6.2.4. Acidez total

A acidez total titulável do suco em pó foi determinada após liofilização e a cada 30 dias de vida de prateleira, por titulometria com solução de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando-se o indicador fenolftaleína, sob constante agitação até mudança de cor, do amarelo para rósea persistente. Para isso, uma alíquota de 10 mL do suco reconstituído (20% p/v) foi diluída em 100 mL de água destilada. Anotou-se o volume gasto de hidróxido de sódio e calculou-se a acidez total titulável, expressa em % ácido málico (AOAC, 1995).

4.6.2.5. Ácido ascórbico (AA)

Para determinação de ácido ascórbico, foi utilizado o método titulométrico da AOAC (1995), no qual 0,5 g da amostra foi diluída em solução de ácido oxálico 2% e tituladas com 2,6-diclorofenol indolfenol-sódio (DCFI) até ponto de viragem. O volume gasto foi anotado e calculou o teor de ácido ascórbico a cada 100 g de produto (BENASSI & ANTUNES, 1988). A análise foi realizada após a liofilização do produto e com 90 dias de vida de prateleira.

4.6.2.6. Cor

A avaliação da cor foi realizada no suco reconstituído, após liofilização e a cada 30 dias de vida de prateleira, por meio do sistema de leitura de três parâmetros, CIELAB, proposto pela Comissão Internationale de l'Eclairage (CIE) em 1971. Os parâmetros L*, a* e b* foram fornecidos pelo espectrofotômetro de bancada Color

Quest II (Hunter Lab, Reston, EUA), onde L^* define a luminosidade ($L^* = 0$ preto e $L^* = 100$ branco) e a^* e b^* são responsáveis pela cromaticidade ($+a^*$ vermelho e $-a^*$ verde, $+b^*$ amarelo e $-b^*$ azul).

4.6.2.7. Açúcares totais e redutores

Os teores de açúcares redutores e totais foram determinados pelo método de Lane-Eynon (AOAC, 1995). Para realização da análise, 0,5 g de suco em pó foi diluído em 100 mL de água destilada. A solução foi adicionada de ferrocianeto de potássio e acetato de zinco, deixando agir por aproximadamente 20 minutos, e posteriormente filtrada. Uma alíquota de 50 mL foi reservada para análise de açúcares redutores e a outra foi adicionada de 2 mL de ácido clorídrico concentrado e levada à fervura por 15 minutos em banho-maria para posterior determinação de açúcares totais. Depois de resfriadas, neutralizou-se a solução com hidróxido de sódio e o volume foi completado para 100 mL. Para determinação dos açúcares redutores, 10 mL de cada amostra foi misturado a Fehling A e B, a 50 mL de água destilada e a gotas do indicador azul de metileno em equipamento específico, Redutec (Tecnal/ TE-086), onde a solução é titulada com uma solução de 0,5% de glicose. A análise consiste em quantificar o teor de açúcares redutores e totais por meio da leitura do volume de solução de glicose necessária para reduzir completamente o cobre presente na solução de Fehling de volume conhecido. A análise foi realizada após a liofilização do produto e com 90 dias de vida de prateleira.

4.6.2.8. Sólidos solúveis totais (SST)

A amostra em pó foi reconstituída em água destilada (20 % p/v). As medidas de °Brix foram realizadas por meio de leituras diretas em refratômetro digital com compensador de temperatura (Leica/AR 200) após liofilização do produto (AOAC, 1995).

4.7. Viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* em suco de banana em pó sob simulação das condições gastro-intestinal

Avaliou-se o comportamento do *L. acidophilus* frente à simulação das condições gastro-intestinais. Para isso, preparou-se o suco gástrico artificial a partir de cloreto de potássio $1,12 \text{ g.L}^{-1}$; cloreto de sódio $2,0 \text{ g.L}^{-1}$ e cloreto de cálcio $0,11 \text{ g.L}^{-1}$; hidrogenofosfato de potássio $0,4 \text{ g.L}^{-1}$. A solução foi esterilizada e o pH ajustado para 2,0 com ácido clorídrico estéril. A pepsina e mucina estéreis (Sigma-Aldrich) foram adicionadas nesta solução na concentração final de 1 mg.mL^{-1} e $3,5 \text{ g.L}^{-1}$, respectivamente. Utilizou-se solução de bile (Bile bovina B3883 – Sigma-Aldrich) na concentração de 1% (CHARTERIS, et al., 1998; MOZZI et al., 2009).

Um mL e meio da amostra de suco de banana probiótico em pó reconstituído (20% p/v) foi adicionado a 15 mL de suco gástrico artificial (pH 2,0) (SGA) e incubado a 37°C sob agitação. A viabilidade do probiótico foi avaliada nos intervalos de tempo de 0, 30 min, 1 h, 2h. A partir de 2 h de contato com o suco gástrico artificial o pH das amostras foi ajustado para 7,0 e adicionou-se pancreatina ($1,95 \text{ g.L}^{-1}$) (Sigma-Aldrich), e a viabilidade foi avaliada após 300 minutos, simulando suco intestinal (SIA). A tolerância à bile foi avaliada na concentração de 1 %. Um mL e meio da amostra foi adicionado em 15 mL da solução de bile. A amostra foi incubada a 37°C sob agitação e a viabilidade avaliada nos tempos de 0, 60 e 300 minutos (SAARELA, et al., 2003; PICOT e LACROIX, 2004;). A viabilidade do micro-organismo foi realizada por meio de contagens em ágar MRS (LIMA, et al., 2009).

4.8. Microscopia eletrônica de varredura

Para preparação das amostras, utilizou-se *stubs*, cilindro metálico de 10,0 mm de diâmetro e 1,0 cm de altura. Uma fita adesiva dupla face foi fixada na superfície do cilindro e a amostra foi colocada diretamente sobre a fita adesiva e o excesso foi retirado. O recobrimento da amostra foi realizado no evaporador Balzer, modelo SCDS 50, que continha uma *target* de ouro onde se trabalhou com uma corrente de

40 mA, por 200 s, o que gerou um fino filme de ouro aproximadamente 19 nm de espessura.

A microscopia foi realizada em microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM-T300, com condições de operação aceleração de voltagem de 10 e 20 Kv, e o aumento observado variou de 2000 até 5000 vezes.

4.9. Análise estatística

Os dados obtidos nas análises foram avaliados por meio de Análise de Variância (ANOVA) e posteriormente submetidos ao teste de Tukey ($p = 0,05$).

5. Resultados e Discussão

5.1. Caracterização do purê de banana

Na Tabela 1 verificam-se as médias dos valores obtidos para cada parâmetro.

Tabela 1: Parâmetros físico-químicos do purê de banana utilizado como matéria prima no suco de banana em pó e resultados obtidos por outros autores para este tipo de produto.

Parâmetros	Purê de banana (Bananapurê)	Cardoso et al. (1999)	Maatsura et al. (1999; 2002)	Jesus et al. (2004)
SST (°Brix)	22	22,7	28	24
ATT (% ác. málico)	0,3	ND	0,22 - 0,57	0,3
pH	4,9	4,85	4,6	4,83
SST/ATT	73,3	ND	79,6 - 89,6	79,6
AA (mg/100 g)	23	ND	9 - 12,96	9,5

SST: Sólidos solúveis totais. ATT: Acidez Total Titulável. SST/ATT: Ratio. AA: Ácido ascórbico. ND: Não disponível.

O purê de banana foi utilizado como matéria-prima para a produção do suco em pó probióticos sendo assim, verificou-se o teor de sólidos solúveis totais (°Brix), ácido ascórbico (mg/100g) , pH, acidez (% ácido málico) e ratio, parâmetros químicos importantes para manutenção da viabilidade do micro-organismo probiótico utilizado. Além disso, os métodos estão dentre os principais utilizados na avaliação da qualidade pós-colheita de bananas.

O purê de banana utilizado apresentou características similares aos avaliados por outros autores, exceto pela concentração de ácido ascórbico, diferença justificada pelo fato do purê possuir adição de vitamina C no seu processo.

5.2. Caracterização do suco de banana probiótico em pó

Produtos em pó devem reunir características como a facilidade de reconstituição, degradação mínima dos constituintes e sabor agradável. As propriedades instantâneas são influenciadas pela natureza dos alimentos (teor de sólidos e viscosidade), tipo de secagem, velocidade de secagem, pressão operacional (NATH & SAPATHY, 1998).

A solubilidade é um dos parâmetros observados para verificar a capacidade de um pó em manter-se misturado de forma homogênea com a água. Não constituindo uma solução no sentido estrito da palavra, mas sim uma emulsão e/ou suspensão, em que o aumento da estabilidade é comumente referido como solubilização (MAIA & GOLGHER, 1983).

O suco em pó probiótico de banana elaborado neste trabalho apresentou alta solubilidade, de 99,11 %. Valor semelhante foi encontrado por Moreira (2007) em pós de extrato microencapsulado de resíduo de acerola, 90,97 % e 96,92 %, e por Cano-Chauca et al. (2005) em manga em pó, que alcançou valores superiores a 90 %. A solubilidade do pó está associada com o conteúdo de umidade e condições operacionais do secador, aumentando com a diminuição no teor de umidade (GOULA & ADAMOPOULOS, 2008). Neste caso, a alta solubilidade pode ser relacionada também, à presença de maltodextrina na composição do produto.

Estudos mostram que há relação entre a concentração de maltodextrina sobre as propriedades físicas de sucos em pó (ABADIO et al., 2004; CANO-CHAUCA et al., 2005).

Materiais ricos em açúcares e ácidos de baixo peso molecular, como é o caso dos sucos de frutas, tem como resultado pós higroscópicos, susceptíveis à aglomeração e consequentes problemas na fluidez, devido à baixa temperatura de transição vítrea desses compostos. Estes problemas podem ser minimizados com a adição de carboidratos de alto peso molecular, por exemplo, maltodextrinas (BHANDARI, 1997).

A higroscopicidade encontrada no suco em pó probiótico de banana elaborado neste trabalho foi de 23,6 %. Rodríguez-Hernández et al. (2005) trabalhando com secagem de figo-da-Índia em *spray dryer* encontraram valores de higroscopicidade de 18 a 23%. Tonon et al. (2009) apresentaram valores de 15,15 % e 15,79 % em suco de açaí em pó.

O ângulo de repouso estático também é importante para sucos em pó, pois está relacionado à fluidez destes produtos. Neste estudo o ângulo obtido para o suco de banana probióticos em pó foi de 21,08°. Segundo Bhandari (1997), pós com propriedades de escoamento livre apresentam ângulos de repouso menores que 45°, enquanto que aqueles acima de 50° indicam coesividade ou problemas para escoamento. Sendo assim, pode-se afirmar que o produto apresentou fluidez adequada. Valores semelhantes foram encontrados por Oliveira (2008) 23,96 ° e 36,59°, em estudo com suco de caju atomizado.

A densidade aparente é a razão entre a massa e o volume do sólido incluindo seus espaços vazios (MARTINS, 2006). A densidade aparente obtida para o suco em pó em estudo foi de 0,33 g/mL, valor próximo ao apresentado por Souza, (2009) em uma mistura de frutas em pó, de 0,21 e 0,29 g/mL, e por Fracione et al. (2002) citado por Oliveira, (2007) de 0,38 a 0,57 g/mL em suco de maracujá desidratado em secador por aspersão. A densidade aparente máxima, também conhecida como

densidade de acomodação, foi de 0,46 g/mL no produto em estudo, Martins (2006), em estudo com pós a base de maltodextrina encontrou 0,59 g/mL.

A razão entre a densidade de acomodação e a densidade aparente é denominada como fator de Hausner, relacionado com o efeito das forças coesivas de sólidos particulados. Materiais que possuem o número de Hausner superior a 1,4 são determinados como coesivos e quando inferior a 1,25 são de fácil escoamento (GELDART et al.,1984 citado por MARTINS, 2006). O número de Hausner encontrado para suco de banana probiótico em pó foi de 1,39, o que coloca o produto na posição de coesivo. Para o parâmetro de compressibilidade do suco em pó encontrou-se o valor de 0,33. Dantas, (2009) em estudo com pós de misturas de polpas de frutas com diferentes fontes lipídicas encontrou índice de 0,31 e 0,37. Este parâmetro é relacionado à capacidade de empacotamento de pós. De acordo com Silva (2007) valores de índice de compressibilidade superiores a 0,20 caracterizam materiais com empacotamento estável, o que pode vir a dificultar a capacidade de escoamento.

De acordo com estes resultados, o suco de banana em pó pode ser classificado como coesivo e de fluidez complicada.

A umidade do suco de banana em pó deste trabalho foi de 5,56 %, semelhante ao resultado apresentado por Gomes et al. (2004), que obteve 4,07 % em pó de acerola. Enquanto, a fruta *in natura*, quando liofilizada, apresenta umidade na faixa de 8,35 %. A maltodextrina presente no suco de banana em pó reduz a higroscopicidade de pós em geral, e neste caso pode ter contribuído com a menor umidade do pó em relação à fruta liofilizada. O mesmo foi observado com relação à atividade de água, que foi de 0,24, enquanto para a fruta inteira liofilizada os dados são de 0,32.

A umidade e a atividade de água do suco de banana em pó são pontos importantes para a manutenção da qualidade do produto durante a sua vida de prateleira, são fatores que determinam reações químicas, físicas e microbiológicas no alimento. Um ganho de umidade do produto promoveria aumento da mobilidade

do sistema, acarretando uma série de reações e conseqüentes alterações das propriedades. Segundo Peleg (1983), a elevada absorção de umidade por um alimento em pó resulta no aumento de sua coesividade. Logo, quanto mais úmido, mais coeso e mais resistente será seu fluxo, pois ocorre a formação de pontes líquidas entre as partículas, muito comum em alimentos ricos em açúcares. O que pode acarretar em mudanças na densidade aparente e escoamento, perceptíveis no seu consumo.

A análise para tempo de reconstituição do suco de banana em pó mostrou resultado de 310,8 segundos para que o pó fosse completamente diluído em água. Em estudo da secagem de misturas de frutas tropicais em leite de jorro, Souza, (2009) apresentou resultado de 315 segundos. O tempo que um pó leva para se misturar completamente à água, sem presença de grumos, está relacionado principalmente ao conteúdo e às características como tamanho e formato das partículas, além da temperatura do solvente onde o produto será reconstituído. Produtos que tendem a formar grumos quando misturados à água, possuem baixa molhabilidade. Em partículas não aglomeradas, pequenas e simétricas, a água penetra com dificuldade, pois ocorre a redução dos interstícios, promovendo a dissolução de substâncias solúveis, que formam uma camada pegajosa na superfície das partículas, surgindo então, os grumos, que promovem o aumento do tempo de reconstituição em água. Outro fator importante no tempo de reconstituição é a imersibilidade, o rompimento da tensão superficial e conseqüente submersão das partículas na água, depois que as mesmas estão molhadas. Neste caso a densidade da partícula e o ar incluso são os responsáveis pela velocidade de imersão (MAIA & GOLGHER, 1983).

A acidez total titulável e pH foram mensurados no produto reconstituído o qual apresentou 0,13 % de ácido málico e pH de 4,85, como apresentado na Tabela 2.

Tabela 2: Caracterização das propriedades físicas do suco em pó probiótico de banana.

Parâmetros	Pó
pH	4,85
Acidez (% ác. málico)	0,13
Umidade (% bu)	5,56
Aw	0,24
Solubilidade (%)	99,11
Higroscopicidade (%)	23,6
Tempo de reconstituição (s)	310,8
Densidade aparente mínima (g/mL)	0,33
Densidade aparente máxima (g/mL)	0,46
Índice de compressibilidade	0,33
Fator Hausner	1,39
Ângulo de repouso (°)	21,08

5.3. Vida de prateleira do suco em pó probiótico de banana

Nos últimos anos, tem sido grande o interesse sob a incorporação de bactérias probióticas em alimentos não lácteos e no desenvolvimento de produtos em pó para aplicações nutracêuticas. Como consequência, pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de promover maior sobrevivência destes micro-organismos durante os processos de secagem e armazenamento (SIATERLIS et al., 2009).

Há, também, diversos estudos com alimentos probióticos de origem vegetal, como suco de uva suplementado com *L. acidophilus* (SANTOS et al., 2008), bebida fermentada de tomate com *L. acidophilus* BCRC (TSEN et al., 2007), suco de laranja e maçã (DING e SHAH, 2008), suco de laranja, grapefruit, groselha, abacaxi, romã, *cranberry* e limão com *L. plantarum* (NUALKAEKUL e CHARALAMPOPOULOS, 2011) e suco de beterraba e couve (YOON, et al., 2004; 2006). Em sua maioria

bebidas fermentadas, que descaracterizam o suco e podem ser um obstáculo para a inserção do produto no mercado.

Para que um alimento possa ser denominado como probiótico a legislação brasileira estipula uma contagem para *L. acidophilus* de no mínimo 10^6 UFC.g⁻¹ (ANVISA, 2002). Por esse motivo, a estabilidade do micro-organismo deve ser verificada ao longo da vida de prateleira. Em produtos desidratados, a sobrevivência dos probióticos depende de fatores como a concentração inicial de células, condições e meio de crescimento, meio de crescimento, condições de secagem, meio de liofilização, armazenamento e condições de reidratação (CARVALHO, et al., 2004; PORTNER et al., 2007).

O uso de baixas temperaturas como as de congelamento promove a redução da atividade metabólica, podendo levar também a uma diminuição da carga microbiana (SHAH, 2000; SCHMIDT & PEREIRA, 2011). A estrutura das células pode ser comprometida em temperaturas muito baixas, neste aspecto a presença de crioprotetores é de extrema importância no processo de liofilização de micro-organismos. Não foi utilizado agente crioprotetor no suco em estudo, uma vez que a banana é uma fruta naturalmente rica em carboidratos, entre eles a sacarose (MOTA, et al., 1997). Esta exerce função de crioprotetor quando se trabalha com liofilização de lactobacilos (SIATERLIS, et al., 2009). Além disso, utilizou-se maltodextrina na formulação do produto, que também pode vir a atuar como crioprotetor em conjunto com a sacarose. O suco de banana em pó apresentou um teor de 38% de açúcares redutores e 40 % de açúcares totais e quando reconstituído apresentou 14 °Brix.

Para controle da contagem inicial de micro-organismos, verificou-se a concentração de células na solução probiótica utilizada para o processamento do suco em pó e no produto logo após a liofilização (T = 0). As contagens obtidas foram de $1,6 \times 10^{10}$ UFC.mL⁻¹ na solução e de $2,25 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ no suco reconstituído logo após a liofilização. Observou-se uma redução, que está de acordo com

trabalhos anteriores com liofilização de lactobacilos (AMPATZOGLOU, et al.,2010; SIATERLIS et al., 2009).

Nualkaekul et al. (2012) utilizaram 10% de sacarose como crioprotetor em estudo com *Lactobacillus plantarum* e constataram redução de aproximadamente 40% na viabilidade após liofilização da cultura, resultado similar ao deste trabalho.

Com o objetivo de acompanhar a viabilidade do probiótico no suco em pó de banana, foram realizadas contagens a cada sete dias das amostras armazenadas a 5, 25 e 35 °C durante três meses. Os resultados são apresentados na Figura 3.

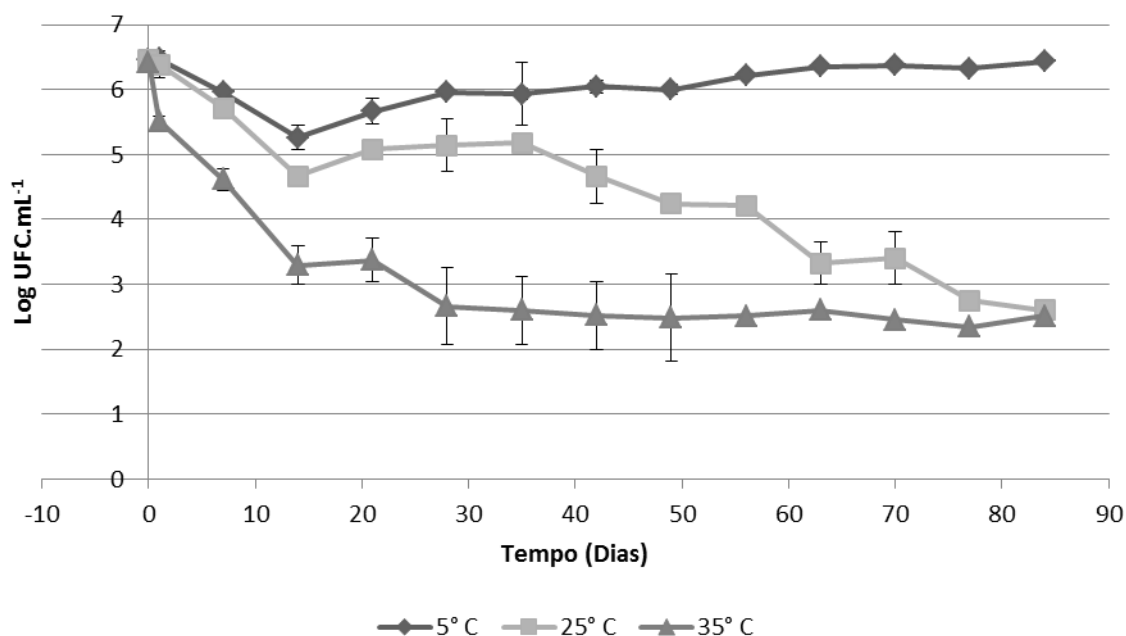


Figura 3: Viabilidade de *L. acidophilus* em suco em pó de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25 e 35 °C.

Como apresentado na figura, houve diferença significativa nas contagens entre as amostras armazenadas sob diferentes temperaturas e ao longo do tempo. Nas primeiras semanas de armazenamento do suco em pó foi observada uma redução na concentração de micro-organismos nas três temperaturas utilizadas. A contagem inicial realizada logo após o processo de liofilização (T = 0), mostra uma

concentração de *L. acidophilus* de 10^6 UFC.mL⁻¹ no produto reconstituído. O efeito da temperatura de armazenamento sob a cultura pôde ser observado nas primeiras 24 horas de armazenamento, uma vez que a contagem realizada na amostra a 35° C apresentou alteração, reduzindo para 10^5 UFC.mL⁻¹. Nota-se que a viabilidade nas amostras a esta temperatura diminuiu gradualmente nos primeiros 21 dias, cerca de um ciclo log a cada semana, e a partir de então observou-se uma estabilização na sobrevivência dos micro-organismos, mantendo-se em 10^2 UFC.mL⁻¹ até o fim da vida de prateleira de 90 dias.

Diferentemente das amostras a 35 °C, as demais apresentaram mudanças na viabilidade por volta do 14° dia de armazenamento. Nas amostras armazenadas a 25°C também observou-se uma queda gradual na concentração das células probióticas, porém de modo mais lento, apresentando contagens da ordem de 10^2 UFC.mL⁻¹ de suco no final da vida de prateleira.

Trachoo, et al. (2008) avaliaram a capacidade crioprotetora de diferentes vegetais adicionados de *L. acidophilus*. Depois de congelados, os vegetais foram liofilizados e armazenados a 5 e 25°C. Diferentemente do presente trabalho, a sobrevivência do *L. acidophilus* foi de apenas 6 dias quando armazenados a 25° C.

A temperatura de armazenamento de 5° C foi a que mais favoreceu a sobrevivência do probiótico, sendo as contagens mantiveram-se na ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre as contagens a partir do 14° dia de armazenamento.

Estudos apontam a atividade de água como um dos principais fatores que contribuem para redução e/ou manutenção da viabilidade ao longo do armazenamento de micro-organismos liofilizados, sendo que o aumento da atividade de água reduz a viabilidade da cultura (MARSHAL, et al., 1973).

Nos sucos armazenados a 5 e 25° C, a concentração de *L. acidophilus* pode ser explicada pela atividade de água das amostras e sua alteração durante a vida de prateleira (Figura 4). A atividade de água do suco em pó apresentou diferença

significativa ($p < 0,05$) entre as amostras armazenadas a diferentes temperaturas ao longo do tempo de armazenamento.

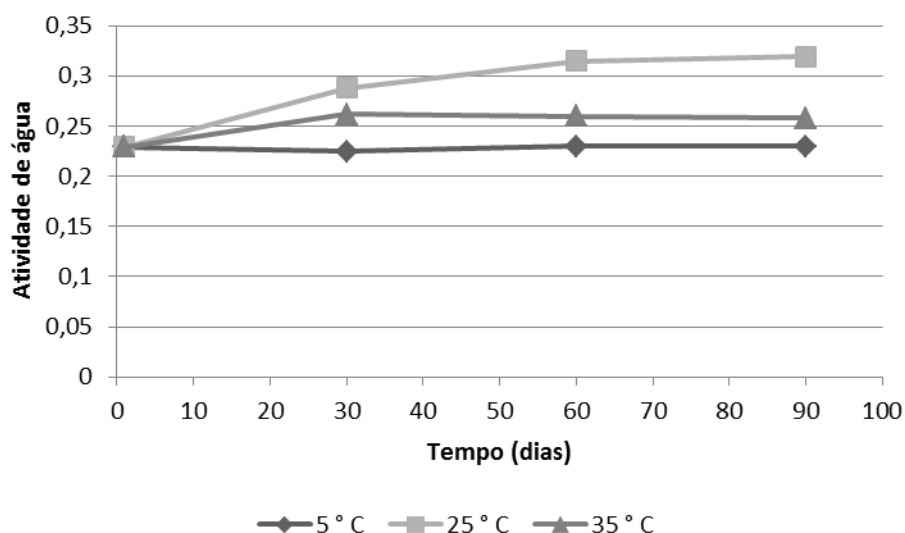


Figura 4: Atividade de água do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25 e 35° C.

A atividade de água inicial do suco em pó foi de 0,22, e aumentou conforme o tempo e temperatura de armazenamento. A 5° C, a Aa das amostras não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) ao longo da vida de prateleira, manteve-se na faixa de 0,22 - 0,23 durante os dias de armazenamento. O que está de acordo com os resultados apresentados por Kurtmann, et al. (2009), que em estudo com bactérias liofilizadas constataram que Aa de 0,11 - 0,22 conduzem a níveis aceitáveis de sobrevivência após 12 semanas de armazenamento.

Nas amostras a 25° C a Aa do material aumentou de 0,22 para 0,31 ao longo do tempo, o que pode ter afetado a sobrevivência do micro-organismo. A redução drástica na contagem de *L. acidophilus* ocorreu a partir de 40 dias de armazenamento (Figura 3), sendo este o mesmo período em que o suco em pó apresentou valor de Aa próximo a 0,3 (Figura 4). Uma taxa acelerada na perda da viabilidade também foi citada por Kurtmann et al. (2009) para Aw na faixa de 0,32 - 0,43 em estudo com *L. acidophilus* liofilizado. Seus resultados mostram claramente

que a aplicação deste micro-organismo em alimentos de A_w maior será acompanhada de uma alta perda da sua viabilidade. Isso pode ser explicado com base no aumento da mobilidade molecular, componentes que não eram reativos por estarem presos ou encapsulados dentro de uma matriz quando em baixas A_w , ganham movimento, podendo participar de reações.

Na temperatura de 35° C a *Aa* também não teve variação significativa ($p>0,05$), passou de 0,22 para 0,26 após os 90 dias de estocagem. Mesmo assim a bactéria probiótica apresentou baixa sobrevivência, o que pode estar relacionado a processos de oxidação lipídica da membrana celular. Em estudo com lactobacilos, Castro et al. (1996) constataram que depois do processo de liofilização os ácidos graxos saturados da membrana celular do micro-organismo começaram a diminuir de forma imediata. A redução destes ácidos graxos pode ocorrer por meio de autooxidação, que em temperaturas mais baixas acontece de forma mais lenta (NAWAR, 1976) e/ou por oxidação lipolítica, causada pelo ácido láctico, que mesmo em pequenas concentrações pode ter ação lipolítica (STADHOUDERS e VERINGA, 1973). As consequências das alterações do perfil lipídico são muito importantes para a célula. O aumento da proporção de ácidos graxos saturados vem sendo relacionado com a perda da viabilidade (CASTRO, et al., 1995). A consequência do aumento desta proporção é a alteração da temperatura de transição vítrea da membrana, causando mudanças no estado dos lipídeos, de líquido para a forma cristalina (WATSON et al., 1973 citados por CASTRO, et al., 1996), o que reduz a fluidez da membrana e conseqüentemente a viabilidade celular.

Assim como a *Aa*, a umidade foi fator relevante para sobrevivência do *L. acidophilus* no suco em pó armazenado a diferentes temperaturas. A Figura 5 apresenta os valores encontrados de umidade do suco em pó durante a vida de prateleira. Houve diferença significativa ($p<0,05$) entre as amostras armazenadas a temperaturas diferentes e nos tratamentos a 25 e 35° C, que tiveram aumento da sua umidade ao longo do armazenamento.

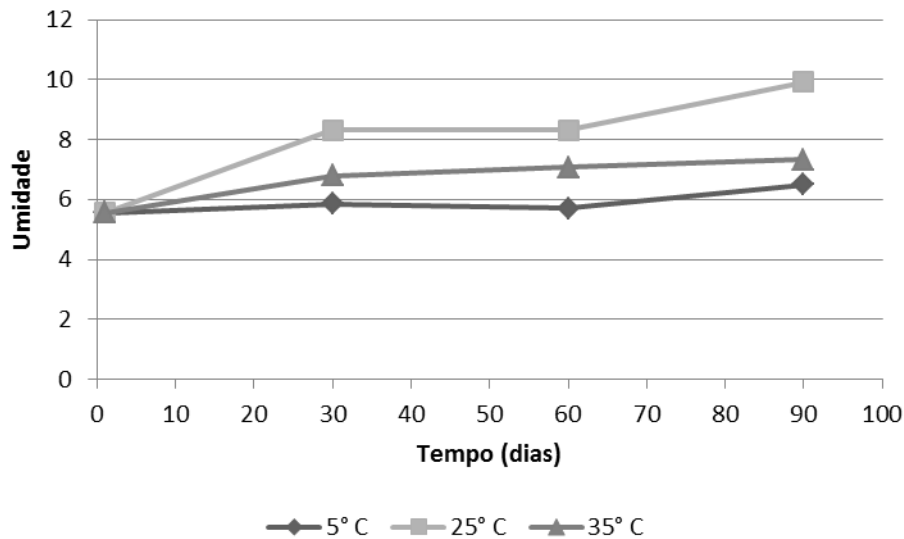


Figura 5: Umidade do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25 e 35° C.

Os resultados mostram mais uma vez, a relação entre o teor de água e a manutenção da viabilidade do micro-organismo probiótico. Castro et.al. (1995) armazenaram amostras de lactobacilos liofilizados em ambientes com diferentes umidades relativas (UR), a 5 e 20° C, e concluíram que URs mais elevadas aceleraram a morte dos micro-organismos e que as taxas de sobrevivência foram maiores nas amostras refrigeradas. O mesmo autor afirma que quanto maior a umidade maior a oxidação lipídica, o que afeta diretamente a estrutura da membrana celular de *L. acidophilus*, assim como a temperatura.

Comparando-se as amostras armazenadas a temperatura de 5, 25 e 35 ° C percebe-se que a 25° C o suco em pó apresentou Aa e umidade (Figura 4 e 5) superiores às demais amostras durante a vida de prateleira. Tal fato se deve ao material da embalagem (PET/Al/PE), que tem a propriedade de permeabilidade a vapor d'água influenciada pela temperatura e tempo de armazenamento. A tendência é que um alimento em pó, altamente higroscópico, entre em equilíbrio com o ambiente com o decorrer do tempo. Embalagens flexíveis para produtos alimentícios

desidratados limitam o seu contato com o oxigênio atmosférico e o seu ganho de umidade. As transferências de oxigênio e umidade são simultâneas, sendo que, quando o ganho de umidade for mais importante do que a transferência de oxigênio, o produto poderá deteriorar-se devido ao ganho de umidade (PADULA e OLIVEIRA, 1986; CABRAL e ALVIM, 1981).

Ao longo da vida de prateleira, observou-se diferença entre a umidade relativa das B.O.Ds, sendo de 44% (5°C), 48% (25° C) e 35% (35° C), comparando a A_w inicial do suco em pó (0,22) e as URs, observou-se um gradiente de 24, 28 e 15%, respectivamente, entre a A_w das amostras e a UR, o que explica o ganho de umidade nas amostras armazenadas a 25° C.

Os resultados para pH e acidez demonstraram que o produto possui características interessantes para a manutenção dos micro-organismos, pois mesmo tratando-se de bactérias ácido lácticas, a exposição a ambientes muito ácidos por um longo período podem provocar danos celulares e conseqüentemente reduzir a sobrevivência do *L. acidophilus*. O pH e a acidez do suco em pó foram avaliados após a liofilização ($T = 0$) e a cada 30 dias durante a vida de prateleira (Figura 6 e 7). Os resultados mostram que com o tempo o pH aumentou, diferiram estatisticamente ($p < 0,05$) com o tempo de estocagem, o que tem relação com a oxidação do ácido ascórbico. Enquanto a acidez (% em ácido málico) não apresentou diferença estatística.

No início da vida de prateleira o suco em pó possuía aproximadamente 90 mg de ácido ascórbico (AA) por 100g (Figura 8). Após 90 dias de armazenamento a concentração de AA diminuiu aproximadamente 53% e 13% nas amostras armazenadas a 5 e 25° C, respectivamente. Enquanto que a 35° C, todo o ácido ascórbico foi perdido.

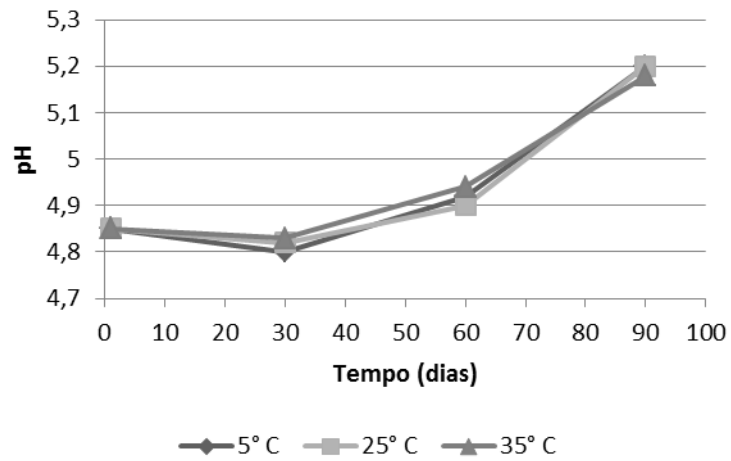


Figura 6: pH do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25 e 35° C.

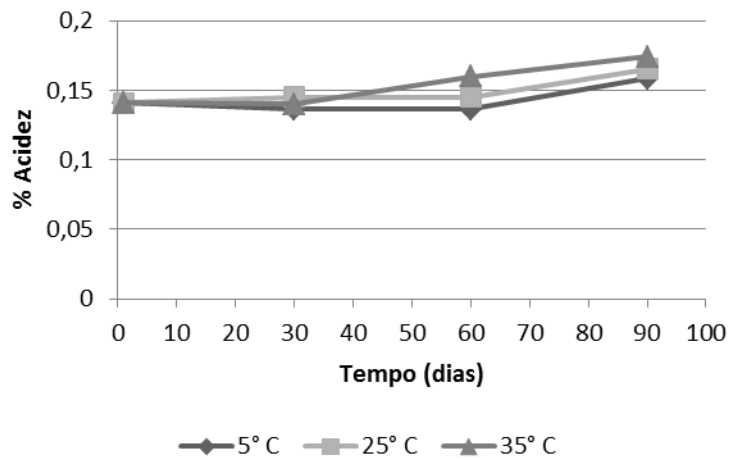


Figura 7: Acidez total, expressa em % de ácido málico, do suco em pó probiótico de banana ao longo de 90 dias de vida de prateleira armazenado a 5, 25 e 35 °C.

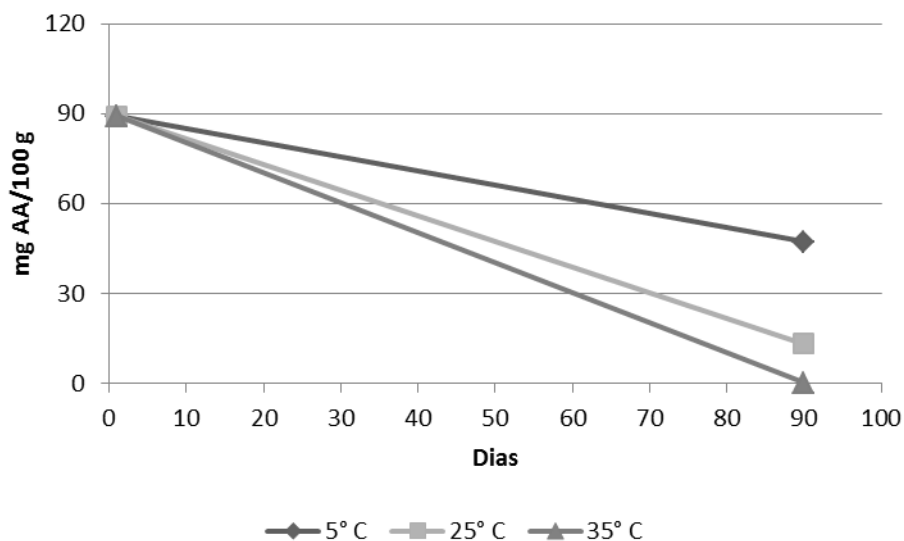


Figura 8: Teor de ácido ascórbico (AA) expresso em mg/100 g de suco em pó probiótico de banana após liofilização e depois de 90 dias a 5, 25 e 35 °C.

Os resultados para cor estão apresentados na Tabela 3. A luminosidade das amostras (L^*) pode ter sido influenciada pela maltodextrina utilizada como matéria-prima, que por possuir cor branca, diminui a cor amarelada característica da banana, o que deixa o produto mais claro. Constatou-se diferença entre a luminosidade da amostra no tempo zero e das demais. Para o parâmetro a^* os resultados foram negativos, indicando tonalidade verde, que alterou conforme o tempo e temperatura de armazenamento. Já no parâmetro b^* , a amostra armazenada a 25° C, indicou aumento da tonalidade azul, apresentando variação quando comparada as demais amostras. A coloração diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) entre as amostras com o tempo de armazenamento, mas visualmente o produto não apresentou mudança (Figura 2).

Tabela 3: Parâmetros de cor para amostras do tempo zero e amostras armazenada a 5, 25, 35° C por 90 dias.

Amostras	T	L*	a*	b*
0 hora	-	46,35	-1,57	1,93
90 dias	5° C	47,82	-1,71	3,42
	25° C	47,51	-1,69	2,46
	35° C	47,91	-1,74	3,35

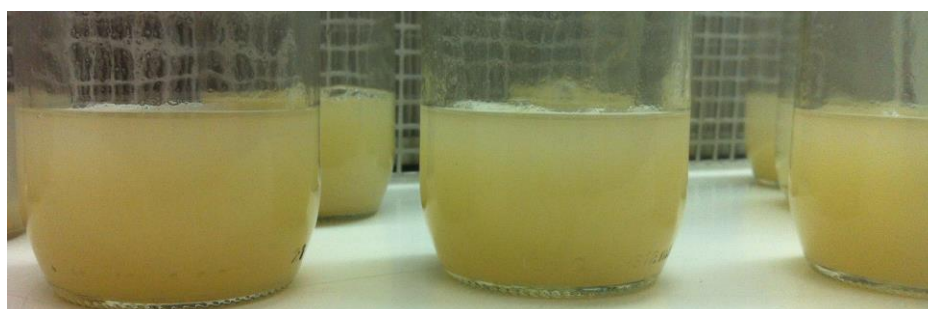


Figura 2: Suco em pó probiótico de banana reconstituído em água.

5.4. Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* em suco de banana em pó sob simulação das condições gastro-intestinal.

Realizou-se a simulação gastro-intestinal apenas com as amostras de suco em pó que apresentaram contagens de *L. acidophilus* na ordem de 10^6 UFC.mL⁻¹. Sendo assim, a análise foi realizada nas amostras no tempo zero (T=0, após o processo de liofilização) e com 90 dias de armazenamento a 5° C.

As secreções ácidas do estômago e as enzimáticas do trato gastrintestinal são os primeiros mecanismos de defesa do organismo frente a micro-organismos invasores, estas secreções atuam como um bloqueio microbiano à colonização do estômago e conseqüentemente do intestino. Sendo assim, para que um micro-organismo probiótico possa se aderir ao epitélio intestinal e se desenvolver, é

essencial sua sobrevivência frente a todas estas barreiras do trato gastrointestinal (MARTEAU et al, 1993).

É comum uma variabilidade entre as linhagens dos micro-organismos probióticos em relação à tolerância ao baixo pH. Por isso, para verificar as propriedades probióticas de um microrganismo, uma característica a ser analisada é sua tolerância ao ácido gástrico.

A Tabela a seguir apresenta a viabilidade do *L. acidophilus*, veiculado pelo suco de banana em pó, durante a simulação gastro-intestinal. O micro-organismo apresentou resistência ao pH 2,0, tanto nas amostras T=0 (após liofilização), quanto nas amostras armazenadas por 90 dias a 5° C.

Tabela 4: Redução logarítmica do *L. acidophilus* presente no suco de banana após incubação sequencial do produto em suco gástrico artificial (SGA), suco intestinal artificial (SIA) e a bile 1%.

Incubação sequencial		Tratamentos*	
		T = 0 hora	T = 90 dias
SGA pH 2,0	0 min.	1,1	0,87
	30 min.	1,1	1,1
	60 min.	1,19	1,46
	120 min.	1,56	1,87
SIA pH 7,0	300 min.	1,54	1,03
Bile 1%	0 min.	1,11	0,91
	60 min.	1,67	1,35
	300 min.	2,39	3,24

A alta resistência apresentada pelo *L. acidophilus* pode ser explicada por características da estrutura celular, segundo Rius et al, (1994), esta espécie

apresenta citoplasma com alta capacidade tamponante, o que favorece sua resistência frente a mudanças do pH e ganho de estabilidade em condições ácidas.

De acordo com Park et al, (2006), para que uma bactéria possa ser considerada probiótica, ela deve sobreviver entre os pH 2,0 e 3,0, durante 3 horas. Enquanto Bernardeau et al. (2001) afirma que para resistir à passagem pelo estômago, o tempo de permanência para que uma cultura possa ser considerada potencialmente probiótica é de 90 minutos em pH 3,0.

É importante ressaltar que após a ingestão do alimento, o pH estomacal que inicialmente varia de 1,2 a 2,0, pode se alterar dependendo do alimento ingerido (CHENG, et al., 2004). Neste estudo após a adição do suco reconstituído de banana o pH da solução de suco gástrico subiu de pH 2,0 para 2,42.

L. acidophilus também não foi afetado estatisticamente ($p > 0,05$) pelo suco gástrico (SGA) e suco intestinal artificial (SIA), mostrou-se resistente às enzimas utilizadas, apresentando maior sensibilidade apenas quando exposto à bile, principalmente na amostra de suco em pó com 90 dias de armazenamento a 5° C, como apresentado na Figura 8.

A redução da viabilidade perante a 1 % de bile foi mais significativa para o micro-organismo do suco em pó armazenado por 90 dias a 5° C que do suco T= 0 (após liofilização), apresentando uma taxa de sobrevivência de 48% e 69,4%, respectivamente. A Figura 8 destaca clara relação entre o tempo de vida de prateleira e a sobrevivência do *L. acidophilus* frente à simulação gastro-intestinal, uma vez que sua resistência à bile diminuiu com o tempo de armazenamento. Champagne e Gardner, (2008) verificaram a resistência de células frescas de *L. acidophilus* e também armazenadas por 35 dias a 4° C frente às condições gastrointestinais, constataram que o micro-organismo não foi afetado significativamente em presença de bile, porém a concentração utilizada foi de 0,3%. No presente trabalho utilizou-se de 1% de bile, o que pode ter acelerado a redução da viabilidade do micro-organismo.

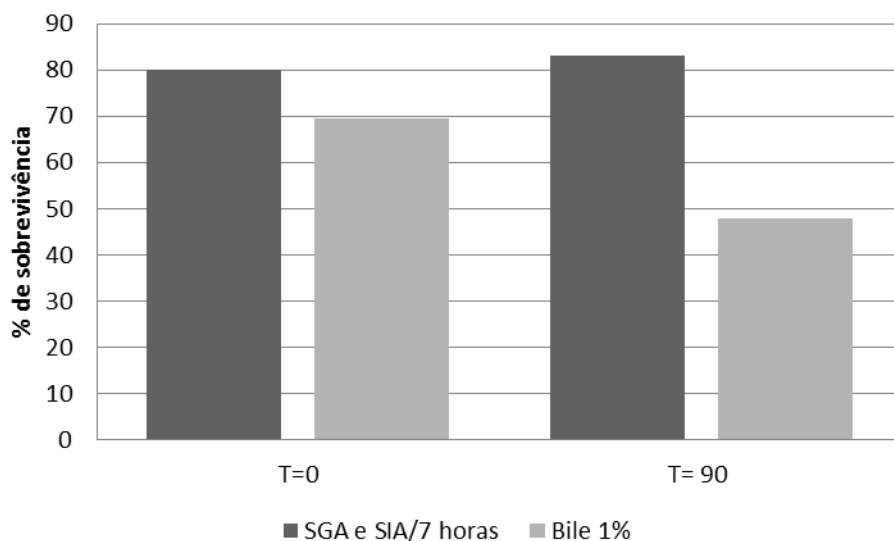
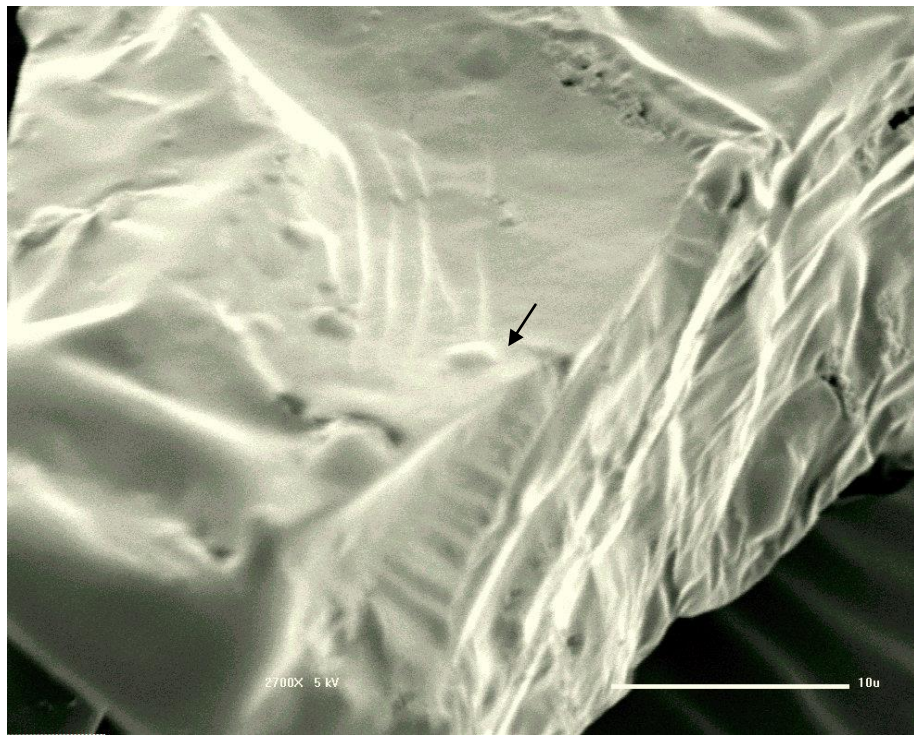
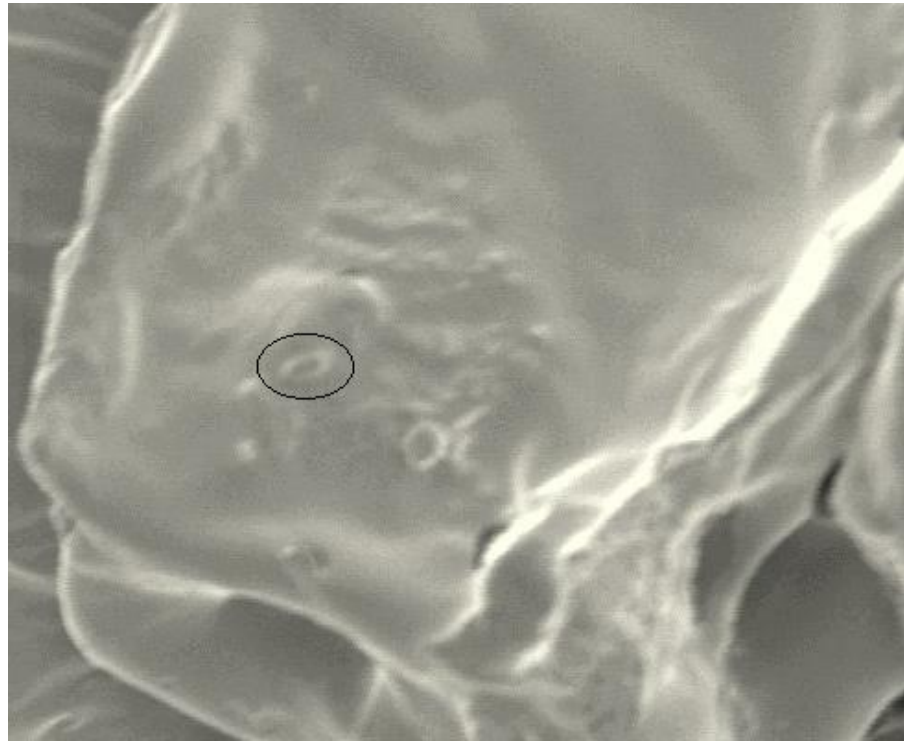


Figura 8: Sobrevivência do *L. acidophilus* veiculado por suco em pó de banana, após exposição do produto com diferentes tempos de vida de prateleira (T= 0 - após liofilização; e T= 90 - dias de armazenamento a 5° C) à simulação gastro-intestinal e à bile 1%.

De acordo com Del Piano, et al. (2006 a) a bile é responsável por mais de 35% da perda da viabilidade de micro-organismos probióticos. A resistência aos sais biliares é um importante mecanismo para que um micro-organismo seja potencialmente probiótico. Estes sais promovem a desorganização celular, pois atuam na camada lipídica da membrana. Essa modificação afeta não somente a viabilidade, como também suas interações celulares (VALDEZ et al, 1996).

5.5. Microscopia eletrônica de varredura

Após liofilização, com auxílio da microscopia eletrônica de varredura (Figura 9), pode-se observar a estrutura do suco em pó probiótico de banana e a presença do micro-organismo *Lactobacillus acidophilus* no produto.



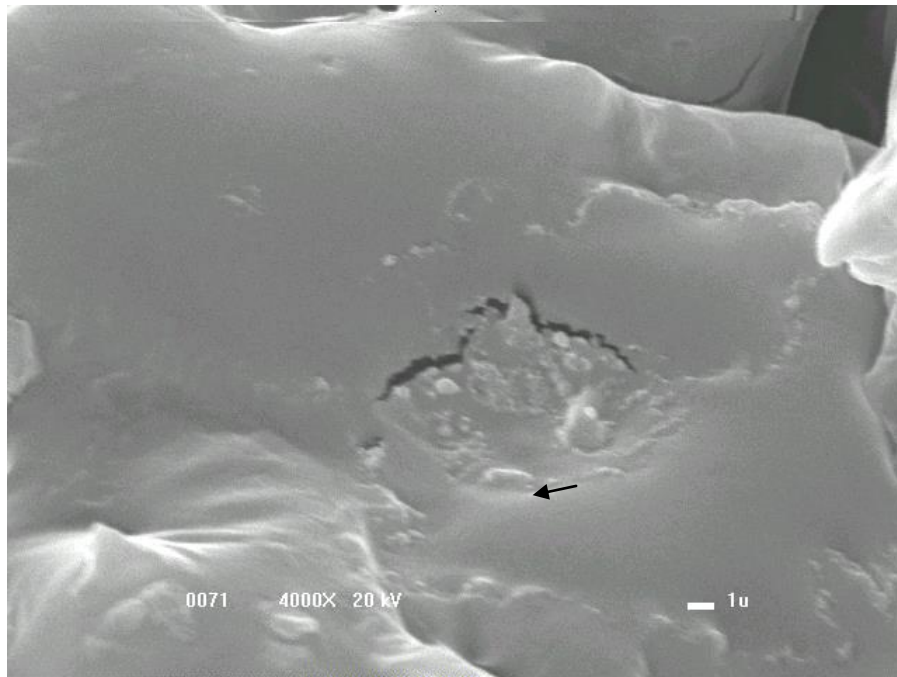
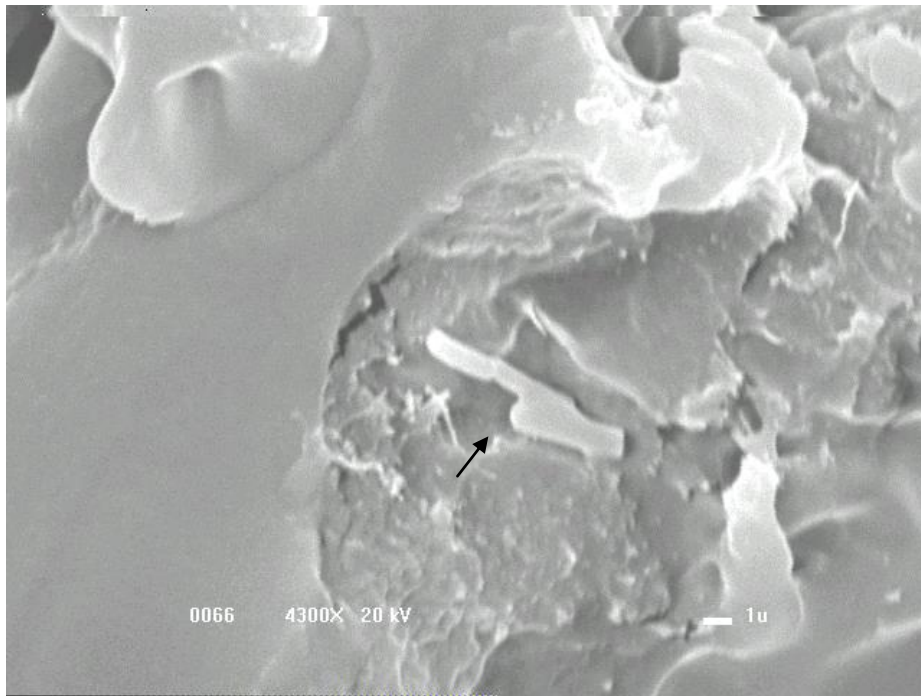


Figura 9: Imagem da estrutura do suco de banana em pó e de *L. acidophilus*.

6. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que:

- A aplicação de *L. acidophilus* em suco em pó de banana é viável, se o produto for armazenado a 5° C, sendo esta a temperatura a que mais favorece a sobrevivência do probiótico;
- Apenas o suco de banana em pó armazenado a 5° C apresentou durante toda vida de prateleira a concentração mínima (10^6 UFC.mL⁻¹) de *L. acidophilus* estipulada pela legislação em vigor para ser considerado como alimento probiótico;
- A atividade de água foi à característica física do suco em pó probiótico de banana que teve grande influência na manutenção da viabilidade do *L. acidophilus*, assim como a temperatura de armazenamento;
- *L. acidophilus* apresentou resistência frente à simulação gastro-intestinal mesmo após 90 dias de armazenamento do suco de banana em pó a 5° C;
- A resistência do *L. acidophilus* à bile diminui com o tempo de armazenamento;
- Os resultados relativos à caracterização do suco de banana probiótico em pó atestam a qualidade do produto, se o mesmo for armazenado em baixas temperaturas e em embalagens adequadas, com boa barreira ao vapor de água, oxigênio e à luz.

7. Referências Bibliográficas

ABADIO, F. D. B. Physical properties of powder pineapple (*Ananás comosus*) juice-effect of maltedextrin concentration and atomization speed. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 64, n.3, p. 285-287, 2004.

ABIR - Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e de Bebidas Não Alcolólicas. **Consumos de sucos 2002 a 2009**. Disponível em: <<http://abir.org.br/2010/12/29/consumo-de-sucos-de-2002-a-2009/>>. Acesso em: Agosto, 2011.

ABIR- Associação Brasileira das Indústrias de Refrigerantes e Bebidas não Alcolólicas. **Dados de mercado 2011**. Consumo de todas as bebidas comerciais 2005-2010. Disponível em: <http://abir.org.br/tags/dados-de-mercado/>. Acesso em: 10/12/2012.

AGRIANUAL - **Anuário da agricultura brasileira**. FNP Consultoria e comercio, São Paulo, 521 p., 2003.

AMPATZOGLOU, A.; SCHURR, B.; DEEPIKA, G.; BAIPONG, S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Influence of fermentation on the acid tolerance and freeze drying survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Biochemical Engineering Journal**, v. 52, p. 65–70, 2010.

Aditivos e ingredientes na indústria de bebidas. **Especial bebidas**, 2010.

Praticidade e preço garantem o sucesso das bebidas em pó. **Engarrafador Moderno**, São Paulo, v.2, p.14-23, 2002.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde**. Resolução – RDC nº 02, de 7 de janeiro de 2002. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br>> Acesso: 04/2011.

AXELSSON, L. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: SALMINEN, S.; WRIGHT, A. OUWEHAND, A. **Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects**, 3 ed, p.1-66, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**, (method 942.15 A). Washington, D. C., v.2, p.10-18, chapter 37, 1995.

BERNARDEAU, M.; VERNOUX, J.P.; GUEGUEN, M. Probiotic properties of two *Lactobacillus* strains in vitro. **Milchwissenschaft**, v. 56, n. 12, p. 663-667, 2001.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de biologia e tecnologia**, v. 31, n.4, p.507-513, 1988.

BHANDARI, B. R.; DATA, N.; HOWES, T. Problems associated with spray drying sugar-rich foods. **Drying Technology**, v. 15, n.2, p.671-684, 1997.

BIRCHAL, V. S. Modelagem e simulação da secagem de leite em secadores spray. Tese de doutorado. 209 p. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

BORGES, A. L. **O cultivo da banana**. Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, 1997. 109p. (EMBRAPA – CNPMF. Circular Técnica, 27).

BORGES, A. L.; CORDEIRO, Z. J. M.; FRANCELLI, M.; SOUZA, L. da S.; SILVA, S. de O.; COELHO, E. F.; LIMA, M. B.; MEDINA, V. M.; RITZINGER, C. H. S. P.; FOLEGATTI, M. I. da S.; SOUZA, A. da S.; MESQUITA, A. L. M.; CARVALHO, J. E. B. de; TRINDADE, A. V.; ALMEIDA, C. O. de; MATOS, A. P. de; MEISSNER FILHO, P. E.; FREIRE, F. das C. O.; BARROS, L. de M.; CRISÓSTOMO, L. A.; MOSCA, J. L.; CARVALHO, A. C. P. P. de. **Cultivo da banana para o Agropólo Jaguaribe-Apodi, Ceará**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003.

BUAINAIN, A. M.; BATALHA, M. O. Cadeia Produtiva de Frutas. v.7, Série Agronegócios. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA**, Secretaria de Política Agrícola – SPA, Instituto Interamericano de Cooperação para a Agricultura. Brasília: IICA, Jan. 2007. 102 p.

BRASIL - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria n. 544, de 16 de novembro de 1998, que aprova os Padrões de identidade e Qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para o consumo**. Diário Oficial da União, Brasília, p. 23-30, 1998.

CABRAL, A. C. D.; ALVIM, D. D. Alimentos desidratados- conceitos básicos para sua embalagem e conservação. **Bol. ITAL**, v. 18, n. 1, p. 1-65, Campinas, 1981.

CALEGUER, V. F. **Busca de informação: Avaliação sensorial de preparados sólidos para refresco sabor laranja: análise descritiva, aceitabilidade e impactos da embalagem na intenção de compra**. 159 p. Dissertação de mestrado – Universidade Estadual de Londrina, 2005.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional

characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p.420–428, 2005.

CARDOSO, M. H.; MENEZES, H. C.; JACKIX, M. N. H.; GONÇALVES, E. B. efeito dos complexos enzimáticos clarificantes clarex e CEC1-CTAA sobre a qualidade do suco de banana. **Pesq. agropec. bras.**, v.34, n.5, p.849-854,1999.

Cargill beverage concepts will address consumer demands for health, taste and texture at IFT 2008, 2009. Disponível em: <<http://www.cargill.com/news-center/news-releases/2008/NA3007612.jsp>>. Acesso em: 05/2011.

CARVALHO, A. S.; SILVA, J.; HO, P.; TEIXEIRA, P.; MALCATA, F. X.; GIBBS, P. Relevant factors for the preparation of freeze–dried lactic acid bacteria. **International Dairy Journal**, v.14, p. 835–847, 2004.

CASTRO, H. P.; TEIXEIRA, P. M.; KIRBY, R. Changes in the membrane of *Lactobacillus bulgaricus* during storage following freeze-drying. **Biotechnology Letters**, 18 p., 99–104, 1996.

CASTRO, H. P.; TEIXEIRA, P. M.; KIRBY, R. Storage of lyophilized cultures of *Lactobacillus bulgaricus* upon different temperatures and atmospheres. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 44, pp. 172–176, 1995.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J. Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. **Food Research International**, p. 539–543. 2008.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J.; ROY, D. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.45, p.61-84, 2005.

CHENG, G.; FENG, A. N.; MEI-JUAN, Z.; XIU-HUA HAO, S, J.; YUN-XIA, H. E. Time- and pH-dependent colon-specific drug delivery for orally administered diclofenac sodium and 5-aminosalicylic acid. **World. J Gastroenterol.** v.. 10, n.12, p.1769-1774, 2004.

CHARTERIS, W. P.; KELLY, P. M.; MORELLI, L.; COLLINS, J. K. Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 759–768, 1998.

DANTAS, T. N. P.; SOUZA, J. S.; DE SOUZA JÚNIOR, F. E. MEDEIROS, M. F. D. Propriedades físicas e físico-químicas de pós de misturas de polpas de frutas com diferentes fontes lipídicas. **VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2009.

DEL PIANO, M.; MORELLI, L.; STROZZI, G. P.; ALLESINA, S.; BARBA, M.; DEIDDA, F. Probiotics: From research to consumer. **Digestive and Liver Diseases**, v. 38, p.248–255, 2006.

DING, W. K.; SHAH, N. P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **International Food Research Journal**, v. 15, p. 219 – 232, 2008.

EASTMAN, J. E.; MOORE, C. O. Cold water soluble granular starch for gelled food composition. **U.S. Patent 4.465.702**, 1984.

FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. **Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**, 34 p, Córdoba, 2001.

FELLOWS, P. J. **Tecnologia do processamento de alimentos: Princípios e práticas**. p.453, 2ª ed, Artmed, 2006.

FUJII, F. O plus do sabor : a adição de polpa revigora a disputa dos fabricantes de refrescos em pó. **Revista Doce**, v.13, n.82, p.32-50, 1999, São Paulo.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, p. 365-378, 1989.

FRUTISÉRIES 6. Banana, 8 p. 2006. Disponível em: <www.integração.gov.br>. Acesso em: 10/ 2012.

GEORGE, J. P.; DATTA, A.K. Development and validation of heat and mass transfer models for freeze-drying of vegetables slices. **Journal of food and engineering**, v. 52, p.89-93, 2002.

GOMES, A.M.P.; MALCATA, F.X. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 139-157, 1999.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in humidified air: Powder properties. **Drying Technology**, v. 26, p. 726-737, 2008.

GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; NAZZARO, F.; CRUZ, A.G.; FARIA, J. A. F. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 9 p. 292-302, 2010.

HELLER, K.J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, p. 374-379, 2001.

HOLZAPFEL, W. H.; HABERER, P.; GEISEN, R.; BJÖRKROTH, J.; SCHILLINGER, U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. **Am J Clin Nutr.**, v.73, n.2, p. 365-373, 2001.

ISOLAURI, E. Probiotics in preterm infants: a controversial issue. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, 45, p.188-189. 2007.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**, 6^a ed., 711p., 2005.

KACHAN, G. C.; CHIAPPETA, E. Desidratação da pasta de tomate em um secador de leito de jorro. **Anais VIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ**, v. 2, p. 510-523, 1988.

KURTMANN, L., CARLSEN, C. U., RISBO, J., & SKIBSTED, L. H. Storage stability of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* (La-5) in relation to water activity and presence of oxygen and ascorbate. **Cryobiology**, v. 58, p. 175–180, 2009.

LICHTEMBERG, L. A. Colheita e pós-colheita da banana. **Inf. Agropec.**, Belo Horizonte, v. 20, n. 196, p. 73-90. 1999.

LIAPIS, A. I.; PIKAL, M. J.; BRUTINI, R. Research and development needs and opportunities in freeze drying. **Drying technology**, v. 14, n.6, p. 1265-1300, 1996.

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

Lactobacillus delbrueckii subsp *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. **Food Science and Technology**, v.42, p. 491–495, 2009.

LOURENS-HATTINGH, A.; VILJOEN, B. C. Yoghurt as probiotic carrier food. **Int Dairy**, v. 11, p.1–17, 2001.

LORETO, R. L. **Estudos sobre a desidratção osmótica de bananas nanicas**. Dissertação (Doutorado em Engenharia de alimentos). Universidade de São Paulo. São Paulo, 1996, 178 p.

LUCAS, P. Influência do congelamento no processo de liofilização do sangue bovino. Dissertação de mestrado. UFSCAR, São Carlos – SP, 114p., 1998.

LUCKLOW, T.; DELAHUNTY, C. Consumer acceptance of Orange juice containing functional ingredients. **Food Research International**, v.37, n. 8, p. 805-814, 2004.

LUCKOW, T.; SHEEHAN, V.; DELAHUNTY, C.; FITZGERALD, G. Determining the Odor and Flavor Characteristics of Probiotic, Health-promoting Ingredients and the Effects of Repeated Exposure on Consumer Acceptance. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 53-59, 2005.

MAIA, A. B. R.; GOLGHER, M. Parâmetros para avaliação da qualidade de reconstituição do leite em pó desidratado em secador por aspersão (*spray dryer*). **Boletim SBCTA**, v. 17, n. 3, p. 235-254, Campinas, 1983.

MAIA, G. A.; SOUZA, P. H.M.; SANTOS, G. M. Effect of the processing on some components of acerola juice. **Ciência e tecnologia de alimentos**, v. 27, p. 130-134, 2007.

MARSHALL, B. J.; COOTE, G. G.; SCOTT, W. J. Effects of various gases on the survival of dried bacteria during storage. **Applied Microbiology**, v. 26, p. 206–210, 1973.

MARQUES, L. G. **Liofilização de Frutas Tropicais**. Tese de Doutorado. Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos, Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR). São Carlos, 293 p., 2008.

MARQUES, L.G.; SILVEIRA, A. M.; FREIRE, J. T. Freeze drying characteristics of tropical fruits. *Drying technology*, v. 24, p. 457- 463, 2006.

MARTEAU, P.; POCHART, P.; BOUHNİK, Y.; RAMBAUD, J. C. The fate and effects of transiting, nonpathogenic micro-organisms in the human intestine. In: SIMOPOULOS, A.P.; CORRING, T.; RÉRAT, A, (Ed). Intestinal flora, immunity, nutrition and health. **World Rev. Nutr. Diet**, v.74, p.1–21,1993.

MATTILA-SANDHOLM, T.; MYLLÄRINEN, P.; CRITTENDEN, R.; MOGENSEN, G.; FONDÉN, R.; SAARELA, M. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 173-182, 2002.

MARTINS, P. C. Estudo da influência de uma fase lipídica na aglomeração de pós alimentícios. Tese de doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2006.

MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; RIBEIRO, D. E. Qualidade sensorial de frutos de híbridos de bananeira cultivar Pacovan. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.1, p.263-266, 2002.

MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; RIBEIRO, D. E.; SILVA, S. O. Avaliação sensorial dos frutos de híbridos de bananeira da cultivar Prata Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.21, p. 29-31, 1999.

MEDINA, J. C., BLEINROTH, E. W., MARTI, Z. J. D., TRAVAGLINI, D. A., OKADA, M., QUAST, D. G., HASHIZUME, T., MORETTI, V. A., BICURDO NETO, L. C., ALMEIDA, L. A. S. B., RENESTO, O. V. **Banana**. Campinas, ITAL, Frutas Tropicais, 2ed, 1995, 302p.

MESQUITA, K. S.; MARTINS, G. A. S.; CALHEIROS, C. A.; BORGES, S. V.; CARNEIRO, J. D. S.; FERRUA, F. Q. Elaboração, caracterização química e avaliação sensorial de néctares de bananas das variedades prata, nanica e marmelo. **Alim. Nutr.** v. 20, n. 3, p. 451-455, 2009.

MÖLLER, C.; DE VRESE, M. Review: probiotic effects of selected acid bacteria. **Milchwissenschaft**, v. 59, n. 11-12, p. 597-601, 2004.

MOREIRA, G. E. G. Obtenção e caracterização do extrato microencapsulado de resíduo agroindustrial de acerola. Dissertação de mestrado. 67 p. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2007.

MOTA, R. V.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Composição em carboidratos de alguns cultivares de banana (*Musa spp.*) durante o amadurecimento. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.17, n.2, 1997.

MORTAZAVIAN, A.M.; EHSANI, M.R.; SOHRABVANDI, S.; REIHEIMER, J.A. MRS-Bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic in cultured dairy products. **Milchwissenschaft**, v. 62, p. 270-272, 2007.

MOZZI, F.; GERBINO, E.; FONT DE VALDEZ, G.; TORINO M. I. Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria in an in vitro gastric system. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, p. 56–64, 2009.

NATH, S.; SAPATHY, G. R. A systematic approach for investigation of spray drying processes. **Drying Technology**, v. 16, n.6, p. 1173-1193, 1998.

NAWAR, W. W. Lipids. In: Principles of Food Science, Owen R. **Fennema**, ed. Part I. Food Chemistry, 1976.

NEVES, M. F.; MILAN, P.; TROMBIN, V. G.; PEREIRA, F. G. Market drivers of the global beverage consumption in 2010: Oportunities for a new positioning to the juice category. **IFAMA 2011, Forum & Symposium**, 2011.

NUALKAEKUL, S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, p. 111–117, 2011.

NUALKAEKUL, N.; DEEPIKA, G.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. **Food Research International**, v. 48, p. 627 – 633, 2012.

OLIVEIRA, D. A. G. **Avaliação química, nutricional e sensorial de uma mistura a base de farinhas de arroz, banana e mandioca enriquecida com outras fontes protéicas**. 79 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e tecnologia de alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, 1997.

OLIVEIRA, A. R. G.; BORGES, S. V.; FARIA, R. K.; ENDO, E.; GREGÓRIO, S. R. Influência das condições de secagem por atomização sobre as características

sensoriais de sucos maracujá (*passiflora edullis*) e abacaxi (*ananas comosus*) desidratados. **Rev. Ciên. Agron.**, v.38, p.251-256, 2007.

OLIVEIRA, M. A. Avaliação da influência de adjuvantes de secagem sobre as propriedades de suco de caju atomizado. Dissertação de mestrado UFC, 63 p., 2008.

ORNELLAS, L. H. **Técnica dietética: seleção e preparo de alimento**. 7^a ed, rev. e ampl. São Paulo: Atheneu, 2001.

O'SULLIVAN, D. J. Primary Sources of Probiotic Cultures. In: Ahmedna, M.; Goktepe, I.; Juneja, V.K. **Probiotics in food safety and human health**. Boca Raton: CRC Press, Cap. 4, p. 91-108, ISBN: 978-1-4200-2757-0, 2006.

PADULA, M.; OLIVEIRA, L. M. de. **Embalagem para alimentos desidratados**. Campinas: ITAL, 1986.

PARK, S. C.; HWANG, M. H. ; KIM, Y. H.; KIM, J. C.; SONG, J. C.; LEE, K. W.; JEONG, K. S.; RHEE, M. H.; KIM, K. S.; KIM, T. W. Comparison of pH and bile resistance of *Lactobacillus acidophilus* strains isolated from rat, pig, chicken, and human sources. **World J.I of Microbiol. Biotechnol.**, v. 22, p. 35–37, 2006.

PASSOS, O.; SOUZA, J. S. **Considerações sobre a fruticultura brasileira, com ênfase no Nordeste**. Cruz das Almas, BA: EMBRAPA – CNPMF, documentos, 54, 51 p., 1994.

PELEG, M. Physical characteristics of food powders. In: PELEG, M.; BACLEY, E. B. **Physical propertiers of foods**. Westport (USA): AVI – Publishing – Co. Inc., Cap 10, p. 293-323, 1983.

PERES, C. M.; PERES, C.; HERNÁNDEZ-MENDOZA, A.; MALCATA, F. X. Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria – With an emphasis on table olives. **Trends in Food Science & Technology**, 26, 31-42, 2012.

PORTNER, D. C.; LEUSCHNER, R. G. K.; , MURRAY, B. S. Optimising the viability during storage of freeze-dried cell preparations of *Campylobacter jejuni*. **Cryobiology**, v. 54, p. 265–270, 2007.

PICOT, A.; LACROIX, C. Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. **International Dairy Journal**, v.14, p.505–515, 2004.

RATTI, C. Hot air and freeze drying of high value foods: a review. **Journal of food engineering**, v. 49, p. 311-319, 2001.

RANZANI, R. T. C., STURION, G. L., BICUDO, M. H. Avaliação química e biológica de casca de banana madura. In: **SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE CIENCIA DE ALIMENTOS CAMPINAS PROGRAMA CIENTÍFICO**. Campinas, Unicamp, p.84. 1995

RÖßLE, C.; AUTY, M. A. E.; BRUNTON, N.; GORMLEY, R. T.; BUTLER, F. Evaluation of freshcut apple slices enriched with probiotic bacteria. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 11, 203-209, 2010.

RODRÍGUEZ-HERNANDEZ, G. R. Spray-drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted product. **Drying Technology**, v. 23, n. 4, p. 955-973, 2005.

RIVERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. Review: Non-dairy probiotic products. **Food Microbiology**. 27, p. 1–11, 2010.

RIUS, N.; SOLE, M.; FRANCIS, A.; LOREN, J.G. Buffering capacity and membrane H⁺ conductance of lactic acid bacteria. **FEMS Microbiol. Lett.**, v. 120, p. 291-296, 1994.

SAAD, S. N. I. Probióticos e Prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 1-16, 2006.

SAAD, S. M. I.; KOMATSU, T. R.; GRANATO, D.; BRANCO, G. F.; BURITI, F. C. A. Probióticos e prebióticos em alimentos: Aspectos tecnológicos, legislação e segurança no uso. IN: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas**. São Paulo: Editora Varela, 2011.p. 23.

SANTOS, C. N. P. **Elaboração de um estruturado de polpa de manga (*Mangifera indica* L. cv *Tommy Atkins*) parcialmente desidratada por osmose**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). 79 p. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2003.

SANTOS, J. S.; XAVIER, A. A. O.; BONEVENTI, P.; SOUZA, R. B.; GARCIA, S. Suco de uva suplementado com *Lactobacillus acidophilus* e oligofrutose. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 29, p. 839-844, 2008.

SAARELA, M.; VIRKAJARVI, I.; ALAKOMI, H.; SIGVART-MATTILA, P.; MATTO, J. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. **International Dairy Journal**, v. 16, p. 1477-1482, 2006.

SAARELA, M.; HALLAMAA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; & MATTO, J. The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. **International Dairy Journal**, v. 13, 291–302. 2003.

SCHREZENMEIR, J.; DE VERSE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p.361–364, 2001.

SCHMIDT, F. L.; PEREIRA, K. S. Potencial dos probióticos e prebióticos em bebidas de origem vegetal. IN: SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. **Probióticos e Prebióticos em Alimentos: Fundamentos e Aplicações Tecnológicas**. São Paulo: Editora Varela, 2011. p.565-582.

SILVA, C. A. B. Produção de banana passa. Brasília: Ministério da Agricultura, do abastecimento e da reforma agrária, secretaria do desenvolvimento rural. **Série perfis agroindustriais**, v. 5, 32p, 1995.

SILVA, C. I.; RODRIGUES, K.; CORDEIRO, I.; SILVA, P. **Processamento de doce de banana. Curso técnico em agroindústria**. Paraíso do Tocantins. Novembro, 2008.

SILVA, F. A. **Avaliação tecnológica e atividade antioxidante de produtos secos por spray-drying de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil.-aquifoliaceae (erva-mate)**. Tese de Doutorado. Porto Alegre, 2007.

SILVA, S. O.; FLORES, J. C.; LIMA NETO, F. P. Avaliação de cultivares e híbridos de bananeira em quatro ciclos de produção. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1.567-1.574, 2002.

SILVA, S. P.; TASSARA, H. Frutas no Brasil: Banana. **Dados internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)**, 4 ed. Câmara Brasileira do livro, São Paulo, p. 41- 43, 2001.

SHAH, N. P.; RAVULA, R. R. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. **The Aust. J. Dairy Technology**, p. 139-144, 2000.

SHEEHAN, V. M.; ROSS, P.; FITZGERALD, G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.8, p. 279-284, 2007.

SOARES, E. C.; OLIVEIRA, G. S. F.; MAIA, G. A.; MONTEIRO, J. C. S.; SILVA JR., A.; S. FILHO, M. S. S. Desidratação da polpa de acerola (*Malpighia emarginata D.C.*) pelo processo “foam-mat”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 164-170, 2001.

SOLÉ, P. Bananas (Processed). In: BARRET, D. M.; SOMOGYI, L. RAMASWAMY, H. **Processing Fruits – Science and Technology**. 2ª ed, Cap. 27, 2004.

SOUZA, J. S. Secagem de mistura de polpas de frutas tropicais em leite de jorro. Tese de doutorado. 178 p. UFRN. Rio Grande do Norte. 2009.

STILES, M. E.; HOLZAPFEL, W. H. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. **Int J Food Microbiol**, v. 36, n.1, p. 1-29, 1997.

SIATERLIS, A., DEEPIKA, G., & CHARALAMPOPOULOS, D. Effect of culture medium and cryoprotectants on the growth and survival of probiotic lactobacilli during freeze drying. **Letters in Applied Microbiology**, v. 48, p. 295–301, 2009.

TEIXEIRA, P. C.; CASTRO, M. H.; MALCATA, F.X.; KIRBY, R. M. Survival of *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* following spray-drying. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1025–1031, 1995.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 29, n. 2, p. 444-450, 2009.

TRACHOO, N.; PANONKORN, W.; MOONGNGARM, A.; SUTTAJIT, M. Stability of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* in Banana, Soybean and Pearl Barley Powders. *Journal of biological sciences*, v. 8, p. 119-124, 2008.

TSEN, J.; LIN, Y.; HUANG, H.; KING, V. A. Studies on the fermentation of tomato juice by using k-carrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. 178–189, 2008.

VALDEZ , G.F.; MARTOS, G.; TARANTO, M.P.; LORCA, GL.; OLIVER, G.; RUIZ HOLGADO, A. P. Influence of bile on b-galactosidase activity and viability of *Lactobacillus reuteri* when subjected to freeze-drying. **J.Dairy Sci.**, v. 80, p.1955-1958, 1996.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Fruit Juices. In: **Beverages – Technology, Chemistry and Microbiology**, Chapman & Hall, Cap.2, p.26-27,1994.

VEENEMAN, M. More than juice – segmentation brings new opportunities for the fruit-juice industry. **Fruit Processing**, v.6, p. 205-208, 1999.

WATSON, K.; BERTOLI, E.; GRIFFITHS, D. E. Phase transitions in yeast mitochondrial membranes. The effect of temperature on the energies of activation of the respiratory enzymes of *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, v. 30, p. 120-124, 1973.

YING, D. Y.; PHOON, M. C.; SANGUANSRI, L.; WEERAKKODY, R.; BURGAR, I., AUGUSTIN, M. A. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG powders: Relationship of powder physical properties to probiotic survival during storage. **Journal of Food Science**, v. 75, p. 588–595, 2010.

YOON, K. Y.; WOODAMS, E. E.; HANG, Y. D. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol**, p.73–75, 2004.

YOON, K. Y.; WOODAMS, E. E.; HANG, Y. D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. **Bioresource Technology**, p. 1427–1430, 2006.