

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS
ALIMENTOS

Franciele Pozzebon Pivetta

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REQUEIJÃO
FUNCIONAL**

Santa Maria, RS

2019.

Franciele Pozzebon Pivetta

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REQUEIJÃO FUNCIONAL

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards

Santa Maria, RS

2019

Pivetta, Franciele Pozzebon
Desenvolvimento e Caracterização de Requeijão
Funcional / Franciele Pozzebon Pivetta.- 2019.
75 p.; 30 cm

Orientadora: Neila Silvia Pereira dos Santos Richards
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, RS, 2019

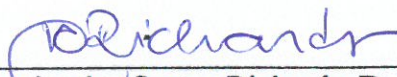
1. Produto lácteo 2. Teor reduzido de gordura 3.
Probiótico 4. Biomassa de banana verde I. Richards, Neila
Silvia Pereira dos Santos II. Título.

Franciele Pozzebon Pivetta

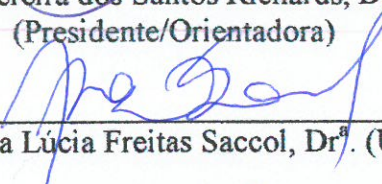
**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REQUEIJÃO
FUNCIONAL**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**.

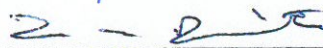
Aprovado em 09 de setembro de 2019.



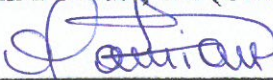
Neila Silvia Pereira dos Santos Richards, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Ana Lúcia Freitas Saccol, Dr.^a. (UFN)



Ivo Mottin Demiate, Dr. (UEPG)



Osmar Damian Prestes, Dr. (UFSM)



Vandré Barbosa Brião, Dr. (UPF)

Santa Maria, RS, 2019.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para sua realização, em especial, a minha amiga e colega Maritiele Naissinger da Silva que sempre me apoiou e motivou ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de uma maneira especial:

- a minha orientadora Neila pela oportunidade concedida, compreensão e pela confiança em mim depositada, grata pela orientação;

- aos meus pais, Janice e Vicente, e minha irmã, Aruana, por todo amor verdadeiro, apoio e por acreditarem na minha capacidade. Tudo que conquistei até aqui foi graças a base e ao apoio recebido de vocês;

- às colegas e amigas, Maritiele e Bruna, por toda ajuda, apoio, companheirismo e troca de conhecimento durante este período, sem vocês não conseguiria finalizar esta etapa com êxito.

- ao Fernando pelas incansáveis caronas e por ser esta pessoa tão especial em minha vida.

- aos meus colegas do grupo de pesquisa pela convivência e ajuda prestada.

- aos meus colegas de trabalho do Instituto Federal de Santa Catarina – Câmpus Xanxerê pelo apoio e compreensão.

- aos servidores do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos por contribuírem pela conquista desse título;

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste estudo.

Muito Obrigada!

EPÍGRAFE

A intermitência do sonho é que nos permite suportar dias de trabalho.

(Pablo Neruda)

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE REQUEIJÃO FUNCIONAL

AUTORA: FRANCIELE POZZEBON PIVETTA

ORIENTADORA: NEILA S. P. S. RICHARDS

Data e local da defesa: Santa Maria/RS, 09 de setembro de 2019.

O Requeijão é um queijo obtido da fusão da massa coalhada, a qual pode ser obtida por coagulação ácida ou enzimática do leite, opcionalmente adicionada de nata de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil* e poderá ser adicionada de condimentos, especiarias e outras substâncias alimentícias. Devido a vasta gama de possibilidades de adições no requeijão e o aumento da procura pelos consumidores por produtos lácteos que tragam benefícios à saúde além de suas funções nutricionais básicas, cada vez mais se procura substituir componentes não desejáveis como a gordura por outros que tragam benefícios como a biomassa de banana verde (fonte de amido resistente) e também a adição de substâncias funcionais como culturas probióticas. Portanto, de maneira geral, este estudo teve como objetivo desenvolver requeijões funcionais com adição de probióticos e teor reduzido de gordura, bem como estudar a influência da adição desses ingredientes/substâncias sobre as características tecnológicas, físico-químicas, microbiológicas, funcionais e sensoriais dos requeijões. Os requeijões elaborados incluíram adição de *Lactobacillus acidophilus* encapsulado como fonte probiótica e biomassa de banana verde como substituto parcial de gordura, totalizando quatro tratamentos e um controle. Foram realizadas análises para avaliar a viabilidade probiótica, condições microbiológicas, composição centesimal, atividade de água, amido resistente, cor, perfil de textura, perfil lipídico e aceitabilidade sensorial. As formulações apresentaram contagem de probióticos satisfatória (8 a $10 \log \text{ UFC.g}^{-1}$) durante os 45 dias de armazenamento e na simulação gastrointestinal. A adição da biomassa de banana verde e a redução da gordura proporcionaram alterações na composição centesimal dos requeijões, sendo que tiveram seus teores de umidade aumentados e proteína diminuídos, sendo que apenas uma formulação pode ser considerada como baixo teor de gordura. A coloração branca amarelada das formulações foi alterada em função da composição bem como os parâmetros de textura, sendo que os tratamentos com maior percentual de biomassa de banana verde foram os que apresentaram maiores alterações. Por fim, os resultados indicam que a biomassa de banana verde e *Lactobacillus acidophilus* encapsulado podem ser uma opção potencial como ingredientes a serem utilizados na formulação de requeijão cremoso pelas indústrias de laticínios, pois os mesmos apresentaram comportamento satisfatório como substituto parcial de gordura e de viabilidade probiótica, respectivamente, conferindo um valor nutricional e funcional diferenciado a este produto.

Palavras-chave: Derivado lácteo. Biomassa de banana verde. *Lactobacillus acidophilus*.

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Post Graduate Program in Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF FUNCTIONAL REQUEIJÃO PROCESSED CHEESE

AUTHOR: FRANCIELE POZZEBON PIVETTA

ADVISER: NEILA S. P. S. RICHARDS

Place and Date of Defense: Santa Maria/RS, September 09th, 2019.

Requeijão processed cheese is a product obtained from melting the curd, which can be obtained by acid or enzymatic coagulation of milk, optionally added with cream and/or butter and/or anhydrous milk fat or butter oil and may be added with condiments, spices and other food substances. Due to the wide range of possibilities for adding requeijão and increased consumer demand for dairy products that have health benefits beyond their basic nutritional functions, it is increasingly looking to replace undesirable components such as fat with others that bring benefits such as green banana biomass (source of resistant starch) and also the addition of functional substances such as probiotic crops. Therefore, in general, this study aimed to develop functional requeijão with probiotic addition and reduced fat content, as well as to study the influence of the addition of these ingredients / substances on the technological, physicochemical, microbiological, functional and sensory characteristics of requeijão. The elaborated requeijão included the addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* as a probiotic source and green banana biomass as a partial fat substitute, totaling four treatments and one control. Analyzes were performed to evaluate probiotic viability, microbiological conditions, centesimal composition, water activity, resistant starch, color, texture profile, lipid profile and sensory acceptability. The formulations presented satisfactory probiotic count (8 to 10 log CFU.g⁻¹) during the 45 days of storage and gastrointestinal simulation. The addition of green banana biomass and the reduction in fat resulted in changes in the centesimal composition of the requeijão, and their moisture and protein content decreased, and only one formulation can be considered as low fat. The yellowish white color of the formulations was altered according to the composition as well as the texture parameters, and the treatments with the highest percentage of green banana biomass presented the greatest alterations. Finally, the results indicate that green banana biomass and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* may be a potential option as ingredients to be used in the formulation of requeijão cremoso by the dairy industry, as they showed satisfactory behavior as a partial fat substitute and viability probiotics, respectively, conferring a different nutritional and functional value to this product.

Keywords: Dairy derivative. Green Banana biomass. *Lactobacillus acidophilus*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 REQUEIJÃO.....	12
2.2 SUBSTITUTOS DE GORDURA	13
2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS	14
2.3.1 PROBIÓTICOS	15
2.3.2 PREBIÓTICOS	18
3 DESENVOLVIMENTO	22
3.1 MANUSCRITO 1.....	22
3.2 MANUSCRITO 2.....	45
4 DISCUSSÃO GERAL	63
5 CONCLUSÃO	68
5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS	68
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1 INTRODUÇÃO

O conceito de qualidade de vida está relacionado à autoestima e ao bem-estar pessoal e abrange uma série de aspectos dentre eles o estado de saúde, o estilo de vida, incluindo os cuidados com a alimentação e o equilíbrio nutricional (MALTA et al., 2013).

Assim, os consumidores estão à procura de alimentos que, além de satisfazer a suas necessidades em calorias e fornecer os nutrientes necessários, sejam capazes de reduzir o risco do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis e que promovam o bem-estar físico e mental (NOBRE et al., 2014).

Alguns estudos demonstram que a relação entre os hábitos alimentares e a saúde tem levado as indústrias alimentícias a desenvolverem produtos mais saudáveis e que apresentem nutrientes básicos à saúde humana (FARIAS et al., 2016). Por isso, a tendência de uso de ingredientes que proporcionam sabor e que forneçam base para uma alimentação saudável, olhando para além do equilíbrio da dieta, sabores que apoiam a saúde do intestino (MINTEL, 2019).

Os lácteos funcionais são os produtos que totalizam uma considerável porcentagem de vendas desse setor e emergem como representantes desse movimento de inovação (MERCÊS et al., 2013). Como os adicionados de microrganismos probióticos, que apresentam elevado valor comercial, e muitos estabelecimentos industriais desenvolvem produtos tendo a promoção da saúde como estratégia de propaganda (ALVES et al., 2011).

Outra fonte de estudos é a banana (*Musa spp.*) verde que está entre a grande variedade de alimentos que possui benefícios comprovados à saúde humana (ZANDONADI, 2009). A adição de amido resistente proveniente de banana verde apresenta-se como alternativa à interação entre probiótico e prebiótico, promovendo uma vantagem competitiva para o probiótico se este for consumido juntamente com o prebiótico (CHONG; NOOR, 2010).

Com a intenção de atender essa nova tendência de produtos, esse estudo, de maneira geral, teve como objetivo desenvolver requeijões funcionais com cultura probiótica (*Lactobacillus acidophilus*) encapsulada e utilizar biomassa de banana verde como substituto parcial de gordura, bem como estudar a influência da adição desses ingredientes/substâncias sobre as características tecnológicas, físico-químicas, microbiológicas, funcionais e sensoriais dos requeijões.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 REQUEIJÃO

O leite é um produto largamente consumido no Brasil e no mundo devido a sua rica composição em nutrientes e sua extensa escala de derivados, dentre eles destaca-se o requeijão, um produto genuinamente brasileiro que vem ganhando força no mercado consumidor (DAL CASTEL et al., 2017).

O requeijão é um produto que pertence à classe de queijos processados ou fundidos. É amplamente consumido por diversas classes sociais e por pessoas de todas as idades. O início da tecnologia dos queijos processados deu-se no começo do século XX, com a necessidade de deter os processos microbianos e enzimáticos nos queijos suíços e alemães, de modo a facilitar as exportações para países de clima quente (GARRUTI et al., 2003).

O requeijão é originário de fabricações caseiras provenientes da época em que a manteiga era o derivado mais valorizado do leite. O requeijão surgiu como um subproduto elaborado a partir de leite desnatado, na época considerado descarte, das regiões produtoras de nata para a fabricação de manteiga (VAN DENDER, 2014).

De origem nacional, o requeijão é fabricado em diferentes partes do Brasil, e popularizou-se a partir da década de 80. Sendo usado para passar em pães, torradas e biscoitos e também utilizado pelas redes de *fast-food*, restaurante, cozinhas industriais, indústrias de alimentos congelados e semi-prontos (GOMES; PENNA, 2010). Com relação às variedades já existentes de requeijões no mercado brasileiro, destacam-se os requeijões tradicionais, cujo teor de gordura varia entre 20% e 25%; requeijões light, com teores de gordura entre 10% e 14%; requeijões light com adição de fibras; requeijões sem adição de gordura; e requeijões diferenciados, com frutas, ervas finas e com sabores de azeitona, peito de peru, salmão, parmesão, provolone, gorgonzola, cheddar, entre outros (VIEIRA et al., 2014). O produto também é encontrado no mercado com diversos teores de umidade, do cremoso até o firme, possível de ser cortado em fatias (GAINO et al., 2012).

Segundo a legislação brasileira “Requeijão é o produto obtido da fusão da massa coalhada, cozida ou não, dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimática do leite opcionalmente adicionada de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite ou *butter oil*. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e outras substâncias alimentícias” (BRASIL, 1997).

Como a maioria dos queijos processados, contém altos níveis de gorduras e sódio (FOULADKHAH; BERLIN; BRUNTZ, 2015). Cada vez mais, os programas de conscientização à saúde informam os consumidores dos efeitos negativos de vários ingredientes, incluindo gordura, sal e açúcar (BRITTON et al., 2013).

Numerosas questões estão associadas à redução destes ingredientes no queijo, incluindo alteração da composição, glicólise, proteólise primária, textura, atributos sensoriais e de qualidade (MC CARTHY et al., 2016).

Portanto, recentemente, pesquisas têm se preocupado com produtos a base de queijo com baixo teor de gordura, com a inclusão de diferentes substitutos de gordura para obter um produto com textura, sabor e propriedades funcionais (FERRÃO et al., 2016).

2.2 SUBSTITUTOS DE GORDURA

A ingestão excessiva de gordura na dieta pode contribuir para a incidência de algumas doenças, como doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes (NAGAI; UYAMA; KAJI, 2013). Devido a estes motivos de saúde e aos padrões estéticos, muitos grupos internacionais de especialistas recomendam uma redução na ingestão de gordura nas dietas e, conseqüentemente, os consumidores aumentam sua busca por queijos com pouca e/ou baixa gordura (O`CONNOR; O`BRIEN, 2011).

A gordura atua de diferentes formas nos alimentos, contribuindo no sabor, aroma, suculência, maciez e cremosidade (DIAMANTINO; PENNA, 2011). No entanto a retirada da gordura nas preparações acarreta perdas na qualidade tecnológica e sensorial, o que leva a indústria a aperfeiçoar os estudos nesta área, a fim de utilizar ingredientes com características semelhantes aos da gordura e aumentar a aceitabilidade do produto modificado (O`SULLIVAN, 2015).

As principais estratégias utilizadas são modificações tecnológicas do processo de fabricação, o uso de culturas adjuntas, de enzimas e de substitutos de gordura (JOHNSON et al., 2009). Os substitutos de gordura são tecnicamente divididos em carboidratos, incluindo produtos a base de fibra, proteínas modificadas, que possuam boas propriedades emulsificantes ou gelificantes, aliadas ao baixo valor energético, e também são usadas gorduras naturais, menos calóricas e as sintéticas (DIAMANTINO; PENNA, 2011).

Embora existam substitutos de gordura produzidos industrialmente, os naturais estão ganhando força, tornando-se tendência em virtude de o consumidor estar preocupado com a

saúde, como é o caso dos aditivos alimentares, onde os consumidores preferem produtos com aditivos naturais ao invés dos sintéticos (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2015).

Neste sentido, a incorporação de microrganismos probióticos e ingredientes prebióticos como adjuntos dietéticos em diferentes produtos lácteos têm reforçado suas propriedades funcionais, resultando em aumento no consumo, além de excelentes características sensoriais (CARDOSO; LIVERA, 2011).

Dessa forma, os consumidores buscam adquirir produtos com teor reduzido de gordura, com ingredientes funcionais (prebióticos e probióticos), tanto para a perda de peso quanto para a assistência à saúde (FERRÃO et al., 2016).

2.3 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Os alimentos funcionais fazem parte de uma nova concepção de alimentos, e foram lançados pelo Japão na década de 80 através de um programa de governo. O objetivo deste programa era desenvolver alimentos saudáveis para uma população que envelhecia e apresentava uma grande expectativa de vida (COLLI, 1998).

O aumento da incidência de doenças crônicas degenerativas tem tornado a população mais consciente da relação entre alimentação e saúde. Em decorrência disso, cresce a demanda por produtos funcionais, capazes de promover melhoria na qualidade de vida pela diminuição da incidência de alguns quadros clínicos (ZAKIR; FREITAS, 2015).

Os alimentos funcionais são definidos como “alimentos naturais ou processados que contêm compostos biologicamente ativos conhecidos que, quando dosados qualitativamente e quantitativamente, fornecem benefícios à saúde, clinicamente comprovados e documentados, sendo assim, uma importante fonte na prevenção, gestão e tratamento de doenças crônicas não transmissíveis da era moderna” (DI BARTOLOMEO et al., 2013).

Em linhas gerais, os alimentos funcionais podem ser definidos como alimentos que fornecem benefícios à saúde além de seus benefícios nutricionais (RAMCHANDRAN; SHAH, 2010).

É estimado que 60% a 70% do mercado de alimentos funcionais seja dominado pelos produtos probióticos. O sucesso desses produtos é significativo e pode ser observado pela grande variedade existente, dentre eles leites fermentados, sorvetes, vários tipos de queijos, alimentos para bebês, leite em pó, creme de leite e soro de leite coalhado. Pode-se observar o

predomínio dos produtos de base láctea disponíveis contendo microrganismos probióticos (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Os laticínios merecem destaque, dentre os alimentos funcionais, visto que os consumidores já estão familiarizados com o fato de que essas formulações apresentam bactérias benéficas à saúde, facilitando o consumo de probióticos. Além disso, possuem ingredientes inovadores e sistemas tecnológicos aplicados na indústria láctea já adaptados e otimizados à sobrevivência dos probióticos (VIDIGAL et al., 2012).

2.3.1 Probióticos

A Organização Mundial de Saúde define probióticos como “microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/OMS, 2006).

De maneira geral, os benefícios atribuídos aos probióticos são o reestabelecimento e balanço da microbiota intestinal após antibioticoterapia, aumento da concentração de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato), produção de ácido linoleico conjugado (CLA), ação bactericida contra microrganismos patogênicos, modulação do sistema imune, maior digestibilidade da lactose em indivíduos intolerantes, redução do risco de distúrbios intestinais, aumento da biodisponibilidade de nutrientes, atividade anti-carcinogênica, controle da pressão arterial, diminuição do risco de doenças atópicas e alérgicas, redução da atividade ulcerativa de *Helicobacter pylori* e controle da colite induzida por rotavírus e por *Clostridium difficile* (SAAD et al., 2013).

Para uma bactéria probiótica fornecer benefícios à saúde humana, deve cumprir alguns critérios. O microrganismo deve ser adequado para a produção industrial, deve possuir capacidade de sobrevivência e conservar sua funcionalidade durante o processamento e estocagem do produto, até o término do seu prazo de validade, sem promover o desenvolvimento de textura e sabores desagradáveis (GRANATO et al, 2010). Deve também sobreviver à passagem do trato gastrintestinal superior, chegando viável ao seu local de atuação, sendo capaz de exercer suas funções neste ambiente (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Para que os probióticos cheguem viáveis e em quantidade satisfatória ao intestino, inicialmente, os microrganismos devem resistir às condições adversas do estômago. O suco gástrico é geralmente a mais forte barreira para os microrganismos probióticos, visto que,

possui pepsina, enzima proteolítica com atividade antimicrobiana, e possui pH ácido (SCHELL; BEERMANN, 2014).

Como as condições normais de pH e o tempo de residência em sucos gástricos não estão totalmente elucidados, são relevantes estudos sobre a resistência dos probióticos à soluções ácidas com valores de pH variando de 2,0 até 4,0, durante tempo de 20 a 180 minutos. A sobrevivência durante as condições gástricas simuladas depende da extensão da neutralização do ácido clorídrico pelo alimento, conferindo uma proteção física às bactérias. Portanto, é importante a simulação das condições gástricas para que ocorra a seleção de uma matriz alimentar adequada, que contribua para a sobrevivência de quantidades adequadas do probiótico no trato intestinal humano, promovendo benefícios ao hospedeiro (XIE et al., 2012).

A ingestão diária deve ser próxima de $8 \log \text{UFC.g}^{-1}$, com o objetivo de compensar a possível redução no número de microrganismos probióticos durante a passagem através do intestino a qual deve chegar a um nível mínimo de $\log 6 \text{UFC.g}^{-1}$ (GRANATO et al., 2010). Outro estudo recomenda que alimentos contendo bactéria probióticas devem possuir pelo menos $6 \log \text{UFC.g}^{-1}$ na data final de validade para ter efeitos terapêuticos (MANOJLOVIC et al., 2010). Os dois gêneros mais populares que geralmente são adicionados a produtos alimentícios são *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (CORONA-HERNANDEZ et al., 2013).

No Brasil, o uso de probióticos em alimentos requer prévia avaliação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Segundo requisitos da Resolução RDC Anvisa nº 241, de 27 de julho de 2018, a avaliação contempla três elementos principais, comprovação inequívoca da identidade da linhagem do microrganismo, de sua segurança e de seu efeito benéfico (ANVISA, 2019).

Oito linhagens de microrganismos probióticos atenderam aos critérios e foram avaliadas para fim de inclusão na lista de probióticos autorizados para uso em suplementos alimentares, são eles: *Bacillus coagulans* GBI-30, *Bifidobacterium lactis* HN019, *Bifidobacterium lactis* BL-04, *Lactobacillus acidophilus* LA-14, *Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus casei* LC-11, *Lactobacillus paracasei* LPC-37 e *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 (ANVISA, 2017).

Os *Lactobacillus*, gênero ao qual pertence a maior parte dos microrganismos considerados probióticos, têm como característica serem gram-positivos, não esporulados, desprovidos de citocromos e catalase negativa (TEIXEIRA, 2012). São anaeróbios facultativos ou microaerófilos, encontrados nas formas de bastonetes ou coco bacilos em

ambientes onde há carboidratos disponíveis para seu metabolismo fermentativo, como alimentos e mucosas de animais (COUSIN et al., 2015).

O *Lactobacillus acidophilus* tem sido amplamente relatado como um importante componente benéfico da microbiota no trato humano e é amplamente utilizado como probiótico (SHAO et al., 2017). Possuem temperatura ótima para o crescimento de 40 - 42 °C, e uma grande perda de viabilidade ocorre quando a temperatura é superior a 45 °C (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Segundo Ferreira (2012) para o emprego de bactérias probióticas em produtos lácteos ou não lácteos, é necessário saber qual é a melhor estirpe a ser utilizada e o processamento desses produtos, para isso, alguns fatores podem ser citados para o direcionamento da escolha da estirpe, são eles: adequação da cultura levando em conta o público-alvo: criança/adulto/idoso; funcionalidade esperada, nicho ecológico da espécie, relacionada ao intestino grosso/delgado; sobrevivência na matriz alimentar; produção de ácido na taxa esperada, ou ser carregada na forma concentrada; ausência de alteração do sabor e textura característicos do produto; tolerância à acidez do produto e às rápidas alterações de pH após a ingestão; tolerância às concentrações de bile e à presença de outras secreções intestinais.

Para melhorar a estabilidade de microrganismos probióticos em um produto, como também aumentar a sobrevivência destes durante a passagem pelo trato gastrintestinal, tem sido utilizadas técnicas de encapsulação (PINTO et al, 2015).

2.3.1.1 Encapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia de micro empacotamento que usa revestimentos de polímero fino para envolver gotículas de material líquido, sólido ou gasoso, sendo usada principalmente para proteger o material encapsulado de condições adversas (SHOJI et al.,2013).

As tecnologias de microencapsulação foram desenvolvidas e aplicadas de forma eficaz para proteger as bactérias probióticas de danos causados pelo meio externo em situações como processamento (altas temperaturas), armazenamento (matriz alimentícia, tempo de vida de prateleira), embalagem (temperatura, oxigênio, umidade) e degradação na região gastrointestinal (o baixo pH no estômago e o sal biliar no intestino delgado) (MOROEANU et al., 2015).

A seleção de materiais de cápsula, bem como as tecnologias adotadas na fabricação de microcápsulas probióticas adaptadas, é de suma importância, pois reflete estritamente a morfologia final e as propriedades funcionais das cápsulas (PRISCO; MAURIELLO, 2015).

Existem muitas técnicas de microencapsulação que têm sido utilizadas com probióticos, tais como emulsão, extrusão, secagem por pulverização, liofilização, coacervação, revestimento em leito fluidizado e separação de fases (RAJAM et al., 2012).

Na técnica de extrusão, as cápsulas com microrganismos são formadas quando uma solução de hidrocolóide, alginato de sódio, é gotejada sobre uma solução de endurecimento, cloreto de cálcio (MARTIN et al., 2015). Geralmente este processo produz cápsulas com tamanho variando entre 500 µm a 3 mm (BUREY et al., 2008).

A microencapsulação via alginato de cálcio tem sido amplamente utilizada para a imobilização de bactérias ácido lácticas devido à sua simplicidade de manuseio, sua natureza não tóxica e seu baixo custo (MIRZAEI et al., 2012).

O alginato de sódio é um dos polímeros mais utilizados como material encapsulante, pois forma uma matriz altamente versátil, biocompatível e não tóxica para a proteção de princípios ativos, especialmente microrganismos probióticos e células sensíveis ao calor, pH, oxigênio dissolvido, entre outros fatores em que os alimentos são expostos durante o processamento e armazenamento (PASIN et al., 2012).

Em comparação com a cultura livre tradicional, as vantagens da cultura encapsulada foram extensivamente relatadas, tais como proteção de células contra ambientes hostis e, aumento da viabilidade e estabilidade das células enquanto são cultivadas ou armazenadas (DAFE et al, 2017). E também melhora a taxa de sobrevivência no ambiente gastrointestinal (GUL; DERVISOGLU, 2016).

2.3.2 Prebióticos

A adição de prebióticos aos produtos lácteos pode resultar em um produto com benefícios para os consumidores, por propiciar o estímulo a bactérias benéficas presentes no intestino. Outros benefícios advêm da possibilidade de resultarem em produtos com baixo valor calórico, com a opção de substituição parcial ou total da gordura ou do açúcar presente (OLIVEIRA et al., 2009).

Prebiótico foi definido pela primeira vez em 1995 como “ingrediente alimentar não digerível que afeta o hospedeiro benéficamente, estimulando seletivamente o crescimento

e/ou atividade de um número limitado de bactérias no cólon, e assim, melhorando a saúde do hospedeiro” (GIBSON; ROBERFROID, 1995).

Esta definição foi atualizada e prebiótico é definido como “um ingrediente fermentado seletivamente que permite alterações específicas, na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal que confere benefícios sobre o bem-estar e saúde do hospedeiro” (SAAD et al., 2013).

Para um ingrediente alimentar ser classificado como prebiótico deve atender os seguintes critérios: resistir à acidez gástrica, a hidrólise por enzimas e absorção no trato gastrointestinal; ser fermentado pela microbiota intestinal; estimular o crescimento e/ou atividade de bactérias intestinais potencialmente associadas à saúde e bem estar (SLAVIN, 2013).

A modulação da microbiota intestinal pelos prebióticos ocorre em função da presença de ligações do tipo β (2-1), incapazes de serem quebradas por enzimas digestivas humanas. Desta forma, os prebióticos chegam intactos ao cólon e são fermentados por microrganismos intestinais, produzindo dentre outros metabólitos, lactato, piruvato, e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), especialmente o acético, propiônico e o butírico. O decréscimo do pH ocasionado pela produção desses metabólitos leva a inibição de bactérias patogênicas e ao estímulo do crescimento de espécies de gêneros benéficos como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (SCHEID, 2013).

Além disso, a produção de AGCC pela fermentação desses ingredientes prebióticos acarreta a redução da prevalência de agentes infecciosos associados a inflamações e síndrome do intestino irritado; proteção contra o câncer de cólon; aumento da biodisponibilidade de minerais, principalmente cálcio, magnésio e o ferro; redução do risco de doenças cardiovasculares e seu papel na sensação de saciedade e controle de peso também está sendo investigado (MORAIS et al., 2014).

São exemplos de ingredientes prebióticos o lactitol, lactulose, polissacarídeos, amido resistente e os oligossacarídeos, dentre os quais se destacam os frutanos do tipo FOS (fruto-oligossacarídeos) e inulina (MAGALHÃES et al., 2011).

O consumo do amido resistente (AR) varia de um país para outro, na China o consumo diário chega até 18 g/dia, na União Européia de 3 a 6 g/dia. A SCIRO (Organização de Pesquisa Científica e Industrial da Austrália) recomenda o consumo de aproximadamente de 20 g/dia de AR (ORMENESE et al., 2010).

A biomassa de banana verde é obtida a partir da cocção da banana verde (CARMO, 2015). Entre os principais componentes está o amido resistente (AR), podendo corresponder de 55% a 93% do teor de sólidos totais, e as fibras (cerca de 14,5%) (OVANDO-MARTINEZ et al., 2009). A banana verde é utilizada para enriquecer várias formulações devido a estes componentes prebióticos (VERNAZA et al., 2011).

Amido resistente é um tipo de amido com baixo índice glicêmico sendo definido como amido digerível no final do trato intestinal humano, com função fisiológica semelhante à da fibra alimentar, o que auxilia no trânsito gastrointestinal, diminui a absorção de glicose pós-prandial e aumenta a saciedade em função do retardo do esvaziamento gástrico (SOUZA, 2017). Além disso, o amido resistente é fermentado por bactérias do intestino grosso e produzem ácidos graxos de cadeia curta que previnem o desenvolvimento de câncer intestinal (SILVA et al., 2016).

Por contribuir para a redução do índice glicêmico, proporciona uma melhor resposta glicêmica e, conseqüentemente, uma menor liberação de insulina, auxiliando na prevenção e tratamento do diabetes tipo 2 (MOREIRA et al., 2011). Outros estudos relatam que o amido resistente da biomassa de banana verde tem sido utilizado em humanos para tratamento de diarreia aguda e crônica tanto em hospitais como em tratamento domiciliar e tem apresentado bons resultados e mais rápidos que o tratamento convencional (RABBANI, 2010).

As características da biomassa de banana verde, de aroma característico e sabor suave, permite sua utilização em preparações sem interferir no sabor do produto, ainda possui característica umectante e espessante, as quais proporcionam seu uso como substituto de gordura, bem como um agente de substituição de carboidrato, possibilitando assim o desenvolvimento de produtos com baixo valor calórico e de características sensoriais aceitáveis (SOUZA, 2017).

A banana é produzida globalmente, sendo um dos oito alimentos mais importantes do mundo (SEYDOU et al., 2017). A produção brasileira de banana é quase inteiramente voltada para o mercado interno, o qual representa consumo entre 65% a 70% da produção, as perdas pós-colheita são de aproximadamente 30% e apenas 2% a 5% são exportadas (COLTRO; KARASKI, 2019).

Uma das formas de minimizar as perdas da banana seria consumir o fruto ainda verde na forma de biomassa ou farinha, as quais permitem seu emprego em vários tipos de alimentos, melhorando a qualidade nutricional e proporcionando efeitos fisiológicos ao organismo (RANIERI; DELANI, 2014).

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 MANUSCRITO 1

Este artigo foi aceito no periódico Food Science and Technology em 23/07/2019.

ADDITION OF GREEN BANANA BIOMASS AS PARTIAL SUBSTITUTE FOR FAT AND ENCAPSULATED *Lactobacillus acidophilus* IN REQUEIJÃO CREMOSO PROCESSED CHEESE”

Franciele Pozzebon Pivetta¹

Maritiele Naissinger da Silva²

Bruna Lago Tagliapietra³

Neila Silvia dos Santos Richards⁴

¹Autor correspondente. M^a. Franciele Pozzebon Pivetta; Nome abreviado (Pivetta, FP). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Av. Roraima, nº 1000, Prédio 42, sala 3135A, Cidade Universitária, bairro Camobi, CEP: 97119-900, Santa Maria – RS, Brasil. E-mail: fra.pp@hotmail.com. Telefone: 55 981156449/ 49 991420884.

²M^a. Maritiele Naissinger da Silva; Nome abreviado (Silva, MN). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS, Brasil.

³Bela. Bruna Lago Tagliapietra; Nome abreviado (Tagliapietra, BL). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS, Brasil.

⁴Dr^a, Prof^a. Neila Silvia Pereira dos Santos Richards; Nome abreviado (Richards, NSPS) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS, Brasil.

Food Science and Technology

Decision Letter (CTA-2019-0039.R1)

From: scslan@gmail.com

To: fra.pp@hotmail.com

CC:

Subject: Food Science and Technology - Decision on Manuscript ID CTA-2019-0039.R1

Body: 23-Jul-2019

Dear Dr. Pivetta:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "ADDITION OF GREEN BANANA BIOMASS AS PARTIAL SUBSTITUTE FOR FAT AND ENCAPSULATED *Lactobacillus acidophilus* IN REQUEIJÃO CREMOSO PROCESSED CHEESE" in its current form for publication in the Food Science and Technology. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Food Science and Technology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Suzana Lannes
Editor-in-Chief, Food Science and Technology
scslan@gmail.com, scslan@gmail.com

Topic Relevance: This study is relevant because it demonstrates that green banana biomass and encapsulated probiotic microorganisms, may be a potential option as ingredients to be used in the formulation of requeijão cremoso processed cheese for dairies, contributing to fat reduction and adding a functional value to this product, respectively.

**BANANA ADDITION OF GREEN BIOMASS AS PARTIAL SUBSTITUTE FOR FAT
AND ENCAPSULATED *Lactobacillus acidophilus* IN REQUEIJÃO CREMOSO
PROCESSED CHEESE**

Abstract

This study evaluated the effects of the addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and green banana biomass on the characteristics of requeijão cremoso processed cheese during the storage period of 45 days under refrigeration. The elaborated requeijões cremosos processed cheeses included addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* as probiotic source, and green banana biomass as partial fat substitute, in a total of five treatments. Analyses were performed to evaluate probiotic viability, microbiological conditions, centesimal composition (moisture, fat, fat in dry extract, protein, ashes, carbohydrates), water activity, resistant starch, colour, texture, lipid profile and sensory acceptability. The addition of green banana biomass and fat reduction resulted in changes in the centesimal composition of the cheeses, with their moisture indexes increased and protein decreased, the F1 formulation was the only one that can be considered as low fat content and was also the one that presented higher moisture. The yellowish white coloration of the formulations was altered as a function of the composition as well as the texture parameters, F1 and F3 treatments presented the greatest changes. Probiotic viability did not differ between formulations, it only changed over time.

Practical application: New ingredients/ functional alternative for application in dairy product.

Keywords: functional foods, fat reduction, dairy derivative.

1 Introduction

The recent decade has witnessed a huge increase in consumer demand for food products with functional properties, in addition to being a source of essential nutrients and energy, food products are nowadays fortified with additives to improve human health (Colín-Cruz et al., 2019).

Various foods have made considerable progress in the market, and in the area of dairy products, cheese is one of the most versatile, produced throughout the world, it has a diversity of flavors, textures and shapes, is pleasing to the palate of many people and suitable for any age group (Weschenfelder et al., 2018).

According to the Technical Regulation for Identification and Quality of Requeijão, "requeijão cremoso processed cheese is the product obtained from the fusion of curd mass, cooked or uncooked, desorbed and washed, obtained by acid and/or enzymatic coagulation of the milk, optionally added of milk cream and/or butter and/or anhydrous milk fat or butter oil. The product may be added with condiments, spices and other food substances" (Brazil, 1997). Due to its versatility, the Requeijão Cremoso processed cheese has become one of the focus in researches on the production of functional and differentiated products (Vieira et al., 2014).

Consumption of green banana products is growing because it's nutritional and physiological benefits to human health (Riquette et al., 2019). Green banana is rich in starch

resistant which is recognized for having positive effects on colon health (Moongngarm et al., 2014).

Consequently, many studies are being developed to evaluate its technological properties as a functional ingredient (Bezerra et al., 2013). In addition, it would also be a way to reduce the waste impacts of the fruits that are suitable for consumption, but are out of commercial standards.

Green banana biomass, cooked and processed green bananas, are tasteless and odourless, appear as an option to be used as thickeners, improving nutritional value and assuming the flavour and aroma of foods prepared with this substance (Oi, Tambourgi and Moraes Jr, 2012). It can be used in the elaboration of products with reduced lipid and sugar contents (Freitas and Tavares, 2012).

However, incorporation of probiotic bacteria is being increasingly explored in various product (Ningtyas et al., 2019). Probiotics are incorporated in food products for supplementing the activity of natural biotic population in the gastrointestinal tract (Cólin-Cruz et al., 2019).

Due to these trends in food products, this study, in general, aims to develop functional requeijão cremoso processed cheese with reduced fat content by partially replacing them with green banana biomass and with addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Moreover, we also aim at studying the influence of the addition of these components on the technological, physical-chemical, microbiological, functional and sensory characteristics of the cheese.

2 Material and methods

Encapsulation probiotic microorganism

The encapsulation of the probiotic microorganism *Lactobacillus acidophilus* was performed using the extrusion technique, following the methodology described by Krasaekoop et al. (2004).

Production of the requeijão cremoso processed cheese

For the elaboration of the requeijão cremoso processed cheese, first, the process of obtaining the base mass (curd) was carried out using the enzymatic milk coagulation method, according to the methodology described by Rodrigues (2006). Subsequently, the ingredients were weighed according to the five formulations described in Table 1, which were defined by preliminary tests performed with the product. The cheese was then processed according to Van Dender (2014).

Table 1 – Composition of requeijão cremoso processed cheese formulations.

Ingredients (%)	Treatments/Formulations				
	F1	F2	F3	F4	F5
Mass (curd)	60	60	60	60	60
Pasteurized cream	10	10	5	5	20
Green banana biomass *	10	5	10	5	
Salt	1	1	1	1	1
Molten salt	2	2	2	2	2
Water	20	20	20	20	20
Encapsulated <i>Lactobacillus acidophilus</i>	10	10	10	10	10

* for each gram of green banana biomass, 1 mL of water was added to each formulation. The salt and molten salt were calculated on the amount of curd mass and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* were calculated on the final weight of the ready product.

The formulations were cooled until 40 °C under aseptic conditions for the addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus*. The products were then packed in plastic pots with a lid and stored under refrigeration at a temperature of 5 ± 1 °C.

Physicochemical analyses

The analyses of the requeijão cremoso processed cheese were performed at 01, 15, 30 and 45 days. For the physicochemical composition of the product, it was evaluated the moisture, fat, fat content in dry extract, protein, ash and acidity, according to Normative Instruction 68/2006 (Brazil, 2006), and carbohydrates and resistant starch, according to Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2002). AquaLab series 4TE equipment was used to evaluate the water activity.

The determination of the fatty acid profile of the requeijão cremoso processed cheese occurred through extraction, methylation and chromatographic analysis. The extraction of the lipids from the samples was performed according to the methodology proposed by Hara and Radin (1978). Methylation was performed according to the methodology proposed by Christie (1982) and the chromatographic analysis of the samples was performed using an Agilent Technologies 6890N gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (FID), Split injector and capillary column of fused silica, with the dimensions of 60 m in length, 0.25 mm internal diameter and 0.2 μm film thickness. Nitrogen was used as the entrainment gas. The volume of sample injected was 1 μL . Fatty acids were identified by comparison to retention times of reference standards. The quantification of fatty acids was determined according to Visentainer (2012).

Technological analyses

The technological analyses carried out were instrumental texture (hardness, cohesiveness, adhesiveness and elasticity) through a texture analyser (TA-XT plus: stable micro systems, Surrey, UK, 10°C) according to the methodology described by Buriti et al. (2008). Moreover, a Minolta® portable colorimeter (model CM-700d, Konica Minolta, Osaca, Japan) was used for evaluation of the colour of the requeijão cremoso processed cheese and the operating conditions were according to Okpala et al. (2010).

Microbiological analyses

The enumeration of viable *Lactobacillus acidophilus* cells were performed at 0 and 45 days, which was done according to the methodology described by Vinderola and Reinheimer (2000), through the use of MRS agar. The samples were also submitted to hygienic-sanitary microbiological analyses of total coliforms, thermotolerant coliforms, coagulase positive *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and molds and yeasts according to Normative Instruction 62/2003 (Brazil, 2003).

Sensory analyses

For the sensory analysis, 50 untrained tasters, consumers of requeijão cremoso processed cheese participated. Acceptance test was performed for the attributes of colour, aroma, flavour, texture and global acceptance, using a structured hedonic scale of 7 points according to Lawless and Heymann (2010). The test of purchase intention was performed with a scale of 5 points. The research was approved by the Ethics and Research Committee of the Federal University of Santa Maria, under protocol no. 56769116.9.0000.5346.

Statistical analyses

A completely randomized experimental design with factorial 2^2 was used to evaluate the effect of the different components used to prepare the requeijão cremoso processed cheese on the characteristics of the same, with two independent variables and control treatment, totalling five treatments and three replicates. The independent variables were the amount pasteurized cream (fat) and green banana biomass.

The results were analysed through analysis of variance (ANOVA), Kruskal-Wallis and test for differentiation at the 5% level of significance using BioEstat 5.0 software.

3 Results and Discussion

Microbiological analyses of hygienic-sanitary quality of the requeijão cremoso processed cheese presented satisfactory results, with total coliforms, thermotolerant coliforms, Coagulase positive *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and molds and yeasts were within the limits established by current legislation (Brazil, 2001) during the 45 days of storage, which shows that the cheese was made in adequate hygienic-sanitary conditions, thus being safe for human consumption during this period.

The *Lactobacillus acidophilus* count during the storage period under refrigeration is shown in table 2.

Table 2 –Viability of *L. acidophilus* (log CFU.g⁻¹) in requeijão cremoso processed cheese formulations stored for 45 days under refrigeration.

Treatments					Time (days)	
F1	F2	F3	F4	F5	T0	T45
8.97±1.26 ^a	8.81±0.89 ^a	8.96±1.03 ^a	8.96±1.02 ^a	8.87±1.04 ^a	9.65±0.20 ^A	8.15±0.08 ^B

Means followed by the same lowercase letter and the same capital letter in the row do not differ statistically at the 5% probability level by the Kruskal-Wallis test.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control). T0 (0 day shelf life); T45 (45 day shelf life).

During this period there was a small reduction in the probiotic viability, approximately 1 log CFU.g⁻¹. This is due to the microorganisms being encapsulated, since the capsule provides protection to the microorganisms of the intrinsic and extrinsic agents.

Therefore, the count was adequate for the product to be called probiotic. The International Dairy Federation advises that the minimum concentration of probiotic cells should be 6-7 log CFU.g⁻¹ at the end of shelf life of the product (Tripathi and Giri, 2014).

It is also possible to observe that the different compositions of the requeijão cremoso processed cheese did not interfere in the probiotic viability, since the formulations did not present significant difference of viability among themselves, this may have occurred because

the microorganisms were encapsulated and therefore were not in direct contact with the food matrix.

The mean values of the centesimal composition (moisture, fat, fat in dry extract, protein, ashes and carbohydrates), lactic acid and water activity of requeijão cremoso processed cheese containing or not green banana biomass and with different fat percentages are presented in table 3.

Table 3 –Average levels of moisture, fat, fat in DE, protein, ashes, carbohydrate, lactic acid and water activity content of each formulation/treatment of the requeijão cremoso processed cheese during 45 days of storage under refrigeration and average time.

Parameters	Average formulations		Average storage times (T1, T15, T30 and T45 days)	
Moisture (%)	F1	67.97±0.34 ^{ab}	T1	65.64±3.75 ^a
	F2	65.97±0.24 ^{bc}	T15	65.69±2.86 ^a
	F3	69.42±0.63 ^a	T30	65.60±3.04 ^a
	F4	64.29±0.32 ^{cd}	T45	65.49±3.68 ^a
	F5	60.37±0.92 ^d		
Fat (%)	F1	11.79±0.45 ^d	T1	16.01±4.36 ^a
	F2	14.89±0.62 ^{bc}	T15	15.96±4.38 ^a
	F3	12.55±0.91 ^{cd}	T30	16.01±4.44 ^a
	F4	17.53±0.24 ^{ab}	T45	16.04±4.46 ^a
	F5	23.26±0.68 ^a		
Fat in dry extract (%)	F1	36.81±1.20 ^d	T1	45.95±7.49 ^a
	F2	43.63±1.65 ^{bc}	T15	45.91±8.70 ^a
	F3	41.03±2.65 ^c	T30	45.90±8.60 ^a
	F4	49.11±0.81 ^{ab}	T45	45.66±7.80 ^a
	F5	58.71±2.12 ^a		
Protein (%)	F1	9.13±0.73 ^c	T1	9.75±0.99 ^a
	F2	9.57±0.48 ^{bc}	T15	9.51±0.75 ^a

	F3	9.32±0.92 ^c	T30	10.39±0.97 ^a
	F4	10.47±0.99 ^{ab}	T45	9.57±0.82 ^a
	F5	10.52±0.43 ^a		
Ashes (%)	F1	2.62±0.54 ^c	T1	2.88±0.57 ^a
	F2	2.86±0.12 ^b	T15	2.97±0.17 ^a
	F3	2.85±0.11 ^b	T30	2.84±0.13 ^a
	F4	3.20±0.12 ^a	T45	2.92±0.23 ^a
	F5	2.99±0.13 ^{ab}		
Carbohydrates (%)	F1	8.50±1.10 ^a	T1	5.72±2.33 ^a
	F2	6.71±0.86 ^{ab}	T15	5.87±2.43 ^a
	F3	5.86±1.12 ^{bc}	T30	5.16±2.15 ^a
	F4	4.51±0.71 ^{cd}	T45	5.99±1.96 ^a
	F5	2.87±1.18 ^d		
Lactic acid (g/100g)	F1	0.27±0.08 ^a	T1	0.16±0.01 ^b
	F2	0.26±0.09 ^a	T15	0.21±0.01 ^b
	F3	0.25±0.07 ^a	T30	0.30±0.03 ^a
	F4	0.30±0.12 ^a	T45	0.38±0.05 ^a
	F5	0.25±0.08 ^a		
Water activity	F1	0.991±0.000 ^{ab}	T1	0.989±0.00 ^c
	F2	0.990±0.002 ^{cb}	T15	0.990±0.001 ^{bc}
	F3	0.992±0.000 ^a	T30	0.991±0.001 ^{ab}
	F4	0.989±0.001 ^c	T45	0.992±0.001 ^a
	F5	0.989±0.001 ^c		

Means followed by the same letter in the column do not differ statistically from each other at the 5% level of significance by the Kruskal-Wallis test.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control). T1 (1 day shelf life); T15 (15 days shelf life); T30 (30 days shelf life); T45 (45 days shelf life).

A maximum content of 65% moisture and minimum of 55% fat in the dry extract (FDE) is recommended by the official legislation in force for requeijão cremoso processed cheese (Brazil, 1997). According to table 2, the samples F4 and F5 (control) are within the moisture limit and only the F5 within the limit of FDE.

Treatments that received a higher amount of green banana biomass have a lower fat and protein content and higher moisture content. This is due to the fact that green banana biomass was used as a partial substitute of fat, requiring an increase of water in the formulations due to its water retention capacity, and consequently the addition of these provided a dilution of the total protein content. The moisture content of the cheese is directly related to its fat content, so that the lower the fat content, the higher the moisture content of the product should be (Silva et al., 2012). The moisture content of the requeijão cremoso processed cheese is economically important because it increases the yield of the product and directly influences the texture (Van Dender, 2014).

For this requeijão cremoso processed cheese to be considered light or with low fat content, the fat content must be reduced by at least 25%, according to the classification established by the Technical Regulation regarding complementary nutritional information of the Ministry of Health (Brazil, 1998). Regarding fat in the dry extract, the lowest value obtained for this variable was the formulation F1, the only one with a 25% reduction, and therefore the only one that can be denominated with reduced fat content.

In relation to acidity, there was no significant difference between the treatments, but there was a significant difference ($p \leq 0.05$) with respect to the times. The highest values obtained for the lactic acid/100g were in 30 and 45 days, that is, as time passed, the acidity increased. The increase in acidity over the storage period can be attributed to the progressive conversion of lactose to lactic acid by lactic acid bacteria activity (Ahmad et al., 2014).

The addition of green banana biomass provided an increase in water activity, since the formulations that received a higher percentage of green banana biomass presented higher water activity, and an increase in water activity was also observed over storage time.

The average amount of resistant starch during the 45 days of storage was 0.670g/100g in F1, 0.385g/100g in F2, 0.665g/100g in F3, 0.400g/100g in F4 and 0g/100g in F5 (control),

whereas the formulations that received 10% of green banana biomass (F1 and F3) had the highest ($p \leq 0.05$) resistant starch contents. These results are superior to the study proposed by Costa et al. (2017), where green banana biomass was used in yoghurt and the estimated concentrations of resistant starch obtained in the formulations that used 3%, 5% and 10% of green banana biomass was 0.13%, 0.21% and 0.43%, respectively.

According to table 4, in general, the studied requeijão cremoso processed cheese presented high values of luminosity (L^*), with the predominance of yellow (b^*) in relation to the red component (a^*), suggesting that the yellowish white contributed to the characteristics of the products. This is in accordance with Cunha et al. (2010) who affirm that requeijão cremoso processed cheese is usually characterized by a slightly yellowish white colour.

There was a significant difference between the treatments, and the F5 treatment had the highest value obtained for the variable L^* and b^* and the lowest value for the variable a^* . It can be inferred that the fat decrease and addition of the green banana biomass contributed to colour change by decreasing yellowish white intensity (L^* ; b^*) and increased red intensity (a^*).

Table 4 – Average colour results of the requeijão cremoso processed cheese during the 45 days of storage under refrigeration.

Parameter	Average treatments		Average times	
(Colour)				
L^*	F1	83.12 ± 1.02^c	T1	86.08 ± 2.05^a
	F2	86.05 ± 0.73^{ab}	T15	85.73 ± 2.21^a
	F3	83.96 ± 0.21^c	T30	85.25 ± 2.16^a
	F4	85.57 ± 0.26^b	T45	84.94 ± 2.14^a
	F5	88.88 ± 0.63^a		

a*	F1	1.96±0.04 ^a	T1	1.50±0.35 ^a
	F2	1.45±0.04 ^{cd}	T15	1.51±0.37 ^a
	F3	1.80±0.04 ^{ab}	T30	1.53±0.40 ^a
	F4	1.51±0.03 ^{bc}	T45	1.54±0.43 ^a
	F5	0.88±0.05 ^d		
b*	F1	12.03±0.23 ^{cd}	T1	13.31±2.20 ^a
	F2	12.23±0.27 ^{bc}	T15	13.24±2.03 ^a
	F3	11.77±0.06 ^d	T30	13.15±1.86 ^a
	F4	13.21±0.19 ^{ab}	T45	13.11±1.72 ^a
	F5	16.76±0.41 ^a		

Means followed by the same letter in the column do not differ statistically at the 5% level of significance by the Kruskal-Wallis test.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control). T1 (1 day shelf life); T15 (15 days shelf life); T30 (30 days shelf life); T45 (45 days shelf life).

Table 5 shows the texture parameters. Firmness and elasticity were lower in the recipes with higher percentage of green banana biomass and lower fat content (F1 and F3), showing that this ingredient and fat reduction contributed to the decrease of these parameters. These results corroborate with research conducted by Brighenti et al. (2008), who analysed samples of commercial requeijão cremoso processed cheese, and noticed that the firmness is directly proportional to the fat content. This is also in accordance with a study by Costa et al. (2017), who evaluated the effect of green banana addition on probiotic yogurt and observed that green banana biomass caused a significant increase ($p < 0.05$) in firmness.

On the other hand, as for the adhesiveness and gumminess parameters, the treatments that received a higher percentage of green banana biomass resulted in a higher index of these parameters, so it can be inferred that this ingredient contributed to the increase of the adhesiveness and gumminess.

Table 5 – Average texture results of the requeijão cremoso processed cheese during 45 days of storage under refrigeration.

Parameter (texture)	Average treatments		Average times	
Firmness	F1	125.88±27.68 ^{cd}	T1	282.90±345.88 ^a
	F2	287.00±381.11 ^{bc}	T15	198.40±113.90 ^a
	F3	102.84±21.48 ^d	T30	244.40±138.93 ^a
	F4	344.66±72.22 ^{ab}	T45	285.83±173.76 ^a
	F5	404.03±91.60 ^a		
Adhesiveness	F1	-250.51±38.19 ^a	T1	-11.77±129.83 ^a
	F2	-404.21±8.92 ^b	T15	-47.16±124.20 ^a
	F3	-208.42±60.31 ^a	T30	-83.81±108.93 ^a
	F4	-448.04±36.78 ^{bc}	T45	-03.49±115.32 ^a
	F5	-496.60±45.00 ^c		
Elasticity	F1	0.56±0.02 ^{cd}	T1	0.68±0.17 ^a
	F2	0.65±0.03 ^{bc}	T15	0.66±0.14 ^a
	F3	0.50±0.03 ^d	T30	0.63±0.09 ^a
	F4	0.75±0.07 ^{ab}	T45	0.63±0.07 ^a
	F5	0.78±0.08 ^a		
Cohesiveness	F1	0.94±0.00 ^a	T1	0.84±0.07 ^a
	F2	0.80±0.01 ^{cd}	T15	0.85±0.07 ^a
	F3	0.91±0.91 ^{ab}	T30	0.85±0.07 ^a
	F4	0.78±0.01 ^d	T45	0.86±0.06 ^a
	F5	0.81±0.02 ^{bc}		

Means followed by the same letter in the column do not differ statistically at the 5% level of significance by the Kruskal-Wallis test.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control). T1 (1 day shelf life); T15 (15 days shelf life); T30 (30 days shelf life); T45 (45 days shelf life).

The relations among saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids of the elaborated requeijão cremoso processed cheese containing encapsulated *L. acidophilus* and

green banana biomass or not, at the 1st and 45th days of refrigerated storage, are shown in table 6.

Table 6 – Relation among saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in requeijão cremoso processed cheese on day 1 and 45 of storage under refrigeration.

Fatty acids	Requeijão cremoso					Time (days)	
	F1	F2	F3	F4	F5	T1	T45
% SFA	69.14±0.03 ^a	69.03±0.16 ^a	68.77±0.12 ^a	68.87±0.12 ^a	69.12±0.07 ^a	69.04±0.14 ^A	68.94±0.20 ^A
% MFA	28.67±0.02 ^a	28.77±0.23 ^{ab}	29.10±0.08 ^a	29.03±0.08 ^a	28.68±0.08 ^a	28.82±0.18 ^A	28.87±0.25 ^A
%PUFA	2.19±0.02 ^a	2.19±0.10 ^a	2.13±0.04 ^a	2.10±0.04 ^a	2.21±0.01 ^a	2.14±0.05 ^A	2.19±0.06 ^A

Means followed by the same lowercase letter and the same capital letter in the row do not differ statistically at the 5% probability level by the Kruskal-Wallis test.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control). SFA (saturated fatty acids); MFA (monounsaturated fatty acids); PUFA (polyunsaturated fatty acids). T1 (1 day shelf life); T45 (45 days shelf life).

The fatty acids that contributed the most to the SFA index were myristic, palmitic and stearic acid, the MFA index was the oleic acid and for the PUFA index were linoleic acids and conjugated linoleic acid (CLA).

The cheeses are recognized as having a high concentration of long chain saturated fatty acids; however, they also have unsaturated fatty acids that are important for health, such as oleic acid and CLA. The composition of fatty acids varies according to race, season, animal diet and species, as well as cheese manufacturing processes (Matera et al., 2018).

The mean values for sensory analysis of the elaborated requeijão cremoso processed cheese are presented in table 7.

The points attributed to the global appearance, colour, aroma, flavour and texture varied from 4.12 (indifferent) to 5.98 (liked), with the lowest and highest value being verified in the colour attribute. In this sense, the elaborated requeijão cremoso processed cheeses were

considered accepted, since the grades were outside the rejection region, from 1 to 3 points. Colour is the first characteristic perceived by consumers and therefore often influences consumer preference (Mani-Lopez et al., 2014). It can be observed, in general, that the different concentrations of green banana biomass and fat did not provide great in the acceptance of the product when compared to the control. Speranza et al. (2018) in their study developed fresh functional cream cheese and also observed that the addition of a probiotic microorganism and prebiotic ingredient did not negatively affect the product's sensory acceptability.

Table 7 - Average results of the sensory evaluation regarding the acceptance test of the elaborated requeijão cremoso processed cheese.

Sample	Colour	Aroma	Flavour	Texture	Global appearance
F1	4.62 ^b	4.98 ^a	5.24 ^{ab}	5.22 ^a	5.28 ^{ab}
F2	5.1 ^b	4.68 ^a	4.66 ^b	4.12 ^b	4.56 ^c
F3	4.92 ^b	4.88 ^a	5.14 ^{ab}	5.34 ^a	5.04 ^{bc}
F4	5.12 ^b	4.96 ^a	4.9 ^b	4.74 ^{ab}	4.94 ^{bc}
F5	5.98 ^a	5.12 ^a	5.64 ^a	5.42 ^a	5.84 ^a

Means in the same column with the same overwriten did not differ significantly ($p < 0.05$) by Tukey test (ANOVA). 1: I disliked very much, 2: I disliked much, 3: disliked, 4: indifferent, 5: I liked it, 6: I liked it much and 7: I liked it very much.

F1 (10% pasteurized cream and 10% green banana biomass); F2 (10% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F3 (5% pasteurized cream and 10% green banana biomass) F4 (5% pasteurized cream and 5% green banana biomass); F5 (control).

In relation to the purchase intention it can be affirmed that the cheeses had a good acceptance of purchase, because the greater percentages correspond to the term "would probably buy" in the majority of the formulations. The best purchase intention indices were observed in the formulations F2, F4 and F5.

4 Conclusion

The addition of encapsulated probiotic microorganisms in the different elaborated requeijão cremoso processed cheese provided functionality during the 45 days of storage. Green banana biomass used as a partial fat substitute resulted in a decrease in fat and protein content and an increase in moisture and water activity. The texture was influenced by fat and green banana biomass contents. The sensory analysis showed that the F1 formulation was better accepted, equating to the control. The best purchase intention indices were observed in the formulations F2, F4 and F5.

Therefore, our findings indicate that green banana biomass and encapsulated probiotic microorganisms may be a potential option as ingredients to be used in the formulation of requeijão cremoso processed cheese for dairies, adding a functional value to this product.

Acknowledgment

The present work was carried out with the support of the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Financing Code 001.

5 References

- Ahmad, SR, Pathat, V, Bhat, ZF, Bukhari, SAA (2014). Effect of sorbic acid on the storage quality of Kaladhi-an acid coagulated milk product. *Journal of Food Science and Technology*, 51 (12), 4040–4046. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4252449>
- AOAC. Association Of Official Analytical Chemists. (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th edn. AOAC, Gaithersburg, MD, USA.
- Bezerra, CV, Amante, ER, Oliveira, DC, Rodrigues, AMC, Silva, LHM (2013). Green banana (*Musa cavendishii*) flour obtained in spouted bed: effect of drying on physicochemical,

functional and morphological characteristics of the starch. *Industrial Crops and Products*, 41, 241-249. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012002257>

Brazil, National Health Surveillance Agency. (2001). *Technical Regulation on microbiological standards for food* (Resolution nº. 12 of January 2, 2001). Official Gazette of the Federative Republic of Brazil.

Brazil, National Health Surveillance Agency. (1998). *Technical Regulation of Nutritional Supplementary* (Information Ordinance nº. 27, of January 13, 1998). Official Gazette of the Federative Republic of Brazil.

Brazil, Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. (1997). *Technical Regulation for Identity and Quality of Requeijão or Requesón* (Ordinance nº 359 of September 4, 1997). Official Gazette of the Federative Republic of Brazil.

Brazil. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. (2003). *Official Analytical Methods for microbiological analysis for the control of animal products and water* (Normative Instruction nº62 of August 26, 2003). Official Gazette of the Federative Republic of Brazil.

Brazil. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. (2006). *Official Physical-Chemical Analytical Methods for Control of Milk and Dairy Products* (Normative Instruction No. 68, of December 12, 2006). Official Gazette of the Federative Republic of Brazil.

Brighenti, M, Govindasamy-Lucey, S, Lim, K, Nelson, K, Lukey, JA, (2008). Characterization of the rheological, textural, and sensory properties of samples of commercial US cream cheese with different fat contents. *Journal of Dairy Science*, 91 (12), 4501-4517. [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(08\)70916-0/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(08)70916-0/fulltext)

Buriti, FCA, Cardarelli, HR, Saad, SMI (2008). Influence of *Lactobacillus paracasei* and inulin on instrumental texture and sensory evaluation of frees cream cheese. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44 (1), 75–84.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322008000100009

Christie, WW (1982). A simple procedure for rapid transmethylation of glicerolipids and cholesterol esters. *Journal of Lipid Research*, 23 (7), 1072-1075.

<http://www.jlr.org/content/23/7/1072.full.pdf>

Colín-Cruz, MA, Pimentel-González, DJ, Carrillo-Navas, H, Alvarez-Ramírez, J, Guadarrama-Lezama, AY (2019). Co-encapsulation of bioactive compounds from blackberry juice and probiotic bacteria in biopolymeric matrices. *LWT-Food Science and Technology*, 110, 94-101. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819303767>

Costa, EL, Alencar, NMM, Rullo, BGS, Taralo, RL (2017). Effect of green banana pulp on physicochemical and sensory properties of probiotic yoghurt. *Journal of Food Science and Technology*, 37 (3), 363-368. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612017005007101&script=sci_abstract

Cunha, CR, Dias, AI, Viotto, WH (2010). Microstructure texture, color and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. *Food Research International*, 43 (3), 723-729.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996909003500>

Freitas, MCJ, Tavares, DQ (2005). Characterization of starch granules from bananas Musa AAA-Nanicão and Musa AAB-Terra. *Food Science and Technology*, 25 (02), 217-222. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010120612005000200005&lng=en&nrm=iso&tlng=pt

Hara, A, Radin, NS (1978). Lipid extraction of tissues of low toxicity solvent. *Analytical biochemistry*, 90 (1), 420-426.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269778900465?via%3Dihub>

Krasaekoopt, W, Bhandari, B, Deeth, H (2004). The influence of coating material on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14(8), 737-743.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694604000172>

Lawless, HT, Heymann, H (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices* (2nd ed), XXIII, 596 p.

Mani-López, E, Palou, E, López-Malo, A (2014). Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2578-2590.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203021400>

Matera, J, Luna, AS, Batista, DB, Pimentel, TC, Moraes, J, Kamimura, BA, Ferreira, MVS, Silva, HLA, Mathias, SP, Esmerino, EA, Freitas, MQ, Raices, RSL, Quitério, SL, SantAna, AS, Silva, MC, Cruz, AG (2018). Brazilian cheeses: A survey covering physicochemical characteristics, mineral content, fatty acid profile and volatile compounds. *Food Research International*, 108, 18-26.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996918301819>

Moongngarm, A, Tiboobun, W, Sanpong, M, Sriwong, P, Phiewtong, L, Prakitrum, R, Huychan, N (2014). Resistant starch and bioactive contents of unripe banana flour as influenced by harvesting periods and its application. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 9, 457-465. <https://thescipub.com/pdf/10.3844/ajabssp.2014.457.465>

Ningtyas, DW, Bhandari, B, Bansal, N, Prakash, S (2019). The viability of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* (non-encapsuled and encapsuled) in functional reduced-fat cream cheese and its textural properties during storage. *Food Control*, 100, 8-16.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713518306480>

Oi, RK, Tambourgi, EB, Moraes Jr, DM (2012). Study of the drying of green banana biomass in spray dryer. *Engevista*, 14(2), 165-171.

<http://periodicos.uff.br/engevista/article/view/8906/6376>

Okpala, C, Piggott, J, Schaschke, C (2010). Influence of highpressure processing (HPP) on physico-chemical properties of fresh cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11 (1), 61-67.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856409001180>

Riquette, RFR, Ginani, VC, Leandro, ES, Alencar, ER, Maldonade, IR, Aguiar, LA, Acácio, GMS, Mariano, DRH, Zandonadi, RP (2019). Do production and storage affect the quality of green banana biomass?. *LWT-Food Science and Technology*.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819304062#bbib60>

Rodrigues, F. (2006). *Requeijão, Fondue, Specialty, Processed Cheese*. Templo Graphic and Publishing, Juiz de Fora, Brazil, 2006. 172p.

Silva, RCSN, Minim, VPR, Simiqueli, AA, Minim, LA (2012) Optimization of the sensorial acceptability of creamy light curd. *Rural Science*, 42 (2), 360-366.

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-4782012000200027&script=sci_abstract&tlng=pt

Speranza, B, Campaniello, D, Monacis, N, Bevilacqua, A, Sinigaglia, M, Corbo, MR (2018) Funtional cream cheese supplemented with *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* DSM 10140 and *Lactobacillus reuteri* DSM 20016 and prebiotics. *Food Microbiology*, 72, 16-22.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0740002017307244>

Tripathi, MK, Giri, SK (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225–241.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614001716>

Van Dender, A. G. F. (2014). *Requeijão cremoso and other processed cheeses: manufacturing technology, process control and market aspects*. São Paulo: Setembro Publishing company, 448p.

Vieira, MC, Cavichiolo, JR, Van Dender, M, Spadoti, LM, Zacarchenco, PB, Gomes, RAR, Van Dender, AGF (2014). Analysis of the economic viability of the production of requeijão

cremoso formulations without addition of fat and with reduced sodium content. *Economic information*, 44 (3), 36-40. <http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/publicacoes/ie/2014/tec3-0614.pdf>

Vinderola, CG, Reinheimer, JA (2000). Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, *Bifidobacteria* and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 10 (4), 271-275.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694600000455>

Visentainer, V (2012). Analytical aspects of the flame ionization detector response for fatty acid esters in biodiesel and food. *New Chemistry*, 35 (2), 274-279.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422012000200008

Weschenfelder, S, Paim, MP, Gerhardt, C, Carvalho, HHC, Wiest, M (2018). Antibacterial activity of different formulations of cheese and whey produced with kefir grains. *Agronomic Science Journal* , 49 (3), 443-449.

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1806-66902018000300443

3.2 MANUSCRITO 2

Pretende-se submeter este artigo ao periódico Brazilian Journal of Microbiology.

PROBIOTIC VIABILITY OF REQUEIJÃO CREMOSO PROCESSED CHEESE FORMULATIONS

Franciele Pozzebon Pivetta
Maritiele Naissinger da Silva
Bruna Lago Tagliapietra
Vinicius do Amaral Flores
Neila Silvia dos Santos Richards

Abstract

The increase in consumers demand for foods that provide both nutritional and health benefits boosted the researches with probiotic microorganisms applied to dairy products. Probiotics are affected by several factors, decreasing their action on the gastrointestinal system, so it is necessary to protect them using encapsulation techniques to incorporate into various food products. The objective of this study was to evaluate, through probiotic viability, the best way to add (free or encapsulated) *Lactobacillus acidophilus* to Requeijão Cremoso processed cheese. After which, apply in different curd formulations with addition of green banana biomass as partial fat substitute, evaluating the pH, probiotic viability during the shelf-life and in the simulated gastrointestinal conditions of the formulations and characterizing the probiotic capsule produced. The application of free *Lactobacillus acidophilus* in Requeijão Cremoso processed cheese presented an unsatisfactory result to be considered functional, and the other formulations that were added in the encapsulated form presented satisfactory probiotic counts in all treatments (8 to 10 log CFU.g⁻¹) during 45 days of storage and gastrointestinal simulation.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, encapsulation, milk derivative.

1. Introduction

The changes driven by modern society reflect on the eating habits and choices of consumers. Food is characterized by the modern lifestyle, marked by the shortage of time for preparation and consumption of food, leading to the consumption of fast and convenient foods, rich in sugars, fats and sodium, causing earlier health damage (Pereira, Pereira and Angelis-Pereira, 2017). In contrast, a large part of the population is awakening to health aspects.

With this trend, interest in food research has increased with claims and functional properties in recent years (Simeoni et al., 2014).

Functional foods are defined as “natural or processed foods containing known biologically active compounds which, when dosed in quantitatively and qualitatively defined quantities, provide clinically proven and documented health benefits and thus are an important source of prevention, management and treatment of chronic diseases of the modern age” (Di Bartolomeo, Startek and Van den Ende, 2013). Currently, the most studied functional components are antioxidants, unsaturated fatty acids, prebiotics and probiotics (Yasmin et al., 2015).

The World Health Organization defines probiotics as “living microorganisms which, when given in adequate amounts, confer benefits to host health” (FAO/WHO, 2006). The main probiotic species belong to the genus *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, which are part of the human intestinal microbiota, promote beneficial effects on human health and improve the properties of the native microbiota (Cook, Tzortis and Charalampopoulos, 2012).

Numerous beneficial effects of probiotics include: relief of symptoms caused by lactose intolerance, treatment of diarrhea, reduction of serum cholesterol, modulation of the immune response and prevention of infectious diseases (Kale-Pradham, Jassal and Wilhelm, 2010).

The incorporation of probiotic cells into food matrices is challenged by the preservation of their viability during the stages of processing, storage and passage through the gastrointestinal tract, where food is often subjected to variations in temperature, pH, oxygen uptake, contact with bile salts, antibacterial agents, among other conditions (López-Rubio et al., 2009). To improve the stability of probiotic microorganisms in a product, as well as to increase their survival during passage through the gastrointestinal tract, it has been used in the microencapsulation technique (Pinto et al, 2015).

The methods of microencapsulation of probiotics follow three main methodologies, which are atomization or spray drying, emulsification and extrusion (Cook, Tzortis and Charalampopoulos, 2012). The technique of microencapsulation by extrusion is the most popular one, since it presents low cost and simplicity, besides not involving high temperatures (Fávaro-Trindade, Heinemann and Pedroso, 2011). The physical method is based on the external gelation of the alginate and consists of incorporating the material to be encapsulated in a solution of sodium alginate, then the mixture is extruded dropwise through a reduced gauge pipette or syringe into a solution of calcium chloride (Smrdel et al., 2008).

The addition of prebiotics to dairy products may result in a product with benefits for consumers by providing the stimulus to beneficial bacteria present in the intestine. Other benefits come from the possibility of resulting in products with low caloric value, with the option of partial or total replacement of fat or sugar present (Oliveira et al., 2009). A major highlight for the incorporation of probiotics are the cheeses stored at refrigeration

temperatures, product classification in which the Requeijão Cremoso is found (Buriti, Cardarelli and Saad, 2008).

Green banana biomass is a component that can be applied in a wide variety of industrialized foods because it does not interfere in the sensory attributes of other ingredients and presents prebiotic functional properties, mainly due to the presence of resistant starch (Oi, De Moraes Junior and Tambourgi, 2012).

Given the sweeping changes of dietary habits of the population, and the important overview of functional products, this study aimed to develop Requeijão Cremoso processed cheese with *Lactobacillus acidophilus* and with addition of green banana biomass as a partial substitute for fat, assessing the pH, viability probiotic during shelf-life and in the simulated gastrointestinal conditions of the formulations and to characterize the probiotic capsule produced.

2. Material and methods

The research was developed at the Department of Technology and Food Science, Federal University of Santa Maria.

This research consisted of two steps. The first, preliminary test, consisted of evaluating the probiotic viability of the shelf-life of Requeijão Cremoso processed cheese with the addition of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* (C1/F5) and Requeijão Cremoso processed cheese with addition of free *Lactobacillus acidophilus* (C2). The second step consisted of applying *Lactobacillus acidophilus* encapsulated in different Requeijão Cremoso processed cheese formulations with the addition of green banana biomass as partial fat substitute (F1, F2, F3, F4), evaluating pH and probiotic viability throughout the shelf-life and gastrointestinal simulation.

2.1 Elaboration of capsules

The probiotic microorganism was encapsulated, which consisted of two stages: preparation of the inoculum and elaboration of the capsules. In order to prepare the inoculum, the microorganism *Lactobacillus acidophilus* (La-14) of the Danisco® brand was activated, in MRS broth, in the proportion of 1 g of *Lactobacillus acidophilus* culture to 100 mL of MRS broth, incubated in an oven at 37 °C for 15 hours. After, the sediment was centrifuged in a refrigerated centrifuge at 4670 x g for 15 minutes and washed with 0.85% sterile saline solution. The obtained microorganism suspension was encapsulated according to the methodology described by Kanmani et al. (2011), with adaptations.

The preparation of the probiotic capsules by the extrusion method was done by the addition of the suspension of 1% of microorganisms in 1% solution of sodium alginate and dripped in 0.1 mol. L⁻¹ of calcium chloride solution, under stirring, until the end of the encapsulation, and for another 30 minutes. Afterwards, the capsules were separated from the calcium chloride solution, washed with distilled and filtered water, according to the methodology described by Boscarioli (2010), with adaptations.

2.2 Elaboration of Requeijão Cremoso processed cheese

The inputs for the preparation of the curd were purchased locally: Cisne® salt, Há-la® enzymatic coagulant, R9 Rica Nata® molten salt, La Pianezza® green banana biomass, Piá® cream and the milk was gently donated by rural producer who suffered slow pasteurization (63 °C / 30') in the laboratory.

The elaboration of the Requeijão Cremoso processed cheese was made up of two stages. Firstly, the process of obtaining the base mass (curd) was carried out using the method of enzymatic coagulation of the milk according to the methodology described by Rodrigues (2006).

Subsequently, the ingredients were weighed according to the six formulations described in Table 1, which were defined by preliminary tests performed with the product.

Table 1 – Composition of Requeijão Cremoso formulations

Ingredients (%)	Treatments/formulations					
	F1	F2	F3	F4	C1/F5	C2
Curd dough	60	60	60	60	60	60
Cream	10	10	5	5	20	20
Green banana biomass *	10	5	10	5	-	-
Salt	1	1	1	1	1	1
Molten salt	2	2	2	2	2	2
Water	20	20	20	20	20	20
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (encapsuled)	10	10	10	10	10	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i> free (actives)	-	-	-	-	-	1

* For each gram of green banana biomass was added 1mL of water.

Then, the processing of the Requeijão Cremoso processed cheese was done according to Van Dender (2014). After finishing the Requeijão Cremoso processed cheese, the formulations were cooled to 40 °C under aseptic conditions for the addition of encapsulated or free *Lactobacillus acidophilus*. Subsequently the formulations were packed in aseptic plastic containers and stored under refrigeration (5 ± 1 °C).

2.3 Analysis of the probiotics capsules

The composition of the elaborated probiotic capsules was evaluated for moisture content, protein, ashes, lipids, carbohydrates and pH according to the methodology proposed by the Adolfo Lutz Institute (2008). The water activity was measured directly by means of the AquaLab water activity analyzer model 4TEV at constant temperature (25 °C).

Capsule's size was measured using the Mastersizer® 3000E equipment (Malvern Instruments, UK).

The encapsulation efficiency (EE) was used to evaluate the survival rate of the encapsulated bacteria. It was calculated by the method proposed by Annan, Borza; Hansen (2008), which uses the number of viable cells ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) released from the microcapsules and the number of viable cells ($\log \text{UFC.g}^{-1}$) in the cell concentrate prior to microencapsulation.

2.4 Analysis of the Requeijões Cremosos processed cheeses

The pH analysis of the Requeijões Cremosos processed cheeses was performed at the times 1, 15, 30, 45 days, according to the methodology described by Normative Instruction 68/2006 (Brazil, 2006).

The viable cell count of *Lactobacillus acidophilus* was performed over the storage period at 0, 15, 30 and 45 days, and gastrointestinal simulation of the samples, probiotic viability counts were performed according to the methodology described by Vinderola and Reinheimer (2000), through the use of MRS agar.

The simulated gastrointestinal conditions were performed according to Madureira et al. (2011), with some adaptations. The simulation included the esophagus/stomach, duodenum, and ileum sections. Aliquots of 1 g of product were used. In the esophagus-stomach stage 25 mg.mL^{-1} of pepsin were used (Sigma Aldrich), prepared in 0.1 N HCl; this solution was added, in equal aliquots, throughout the gastric phase, at a concentration of 0.05 mL.mL^{-1} for 90 min; being the pH adjusted to 2.0 using 1 mol L^{-1} HCl. In the duodenum

stage, at a concentration of $0.25 \text{ mL}\cdot\text{mL}^{-1}$, a solution containing 2 gL^{-1} of pancreatin (Sigma Aldrich) and 12 gL^{-1} of bovine bile salts (Sigma Aldrich) was prepared at NaHCO_3 $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. The ileum step was performed by raising the pH to 6.5 using a solution of $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of NaHCO_3 . All solutions were prepared at the time of use and sterilized with $0.20 \text{ }\mu\text{m}$ pore membrane (Minisart, Sartorius Stedim Biotech, Germany).

The analysis was conducted in a refrigerated Shaker incubator (TE-421, Tecnal, Brazil) maintained at $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in order to simulate human body temperature and mechanical agitation was used in parallel to simulate intestinal peristaltic movements, with intensities similar to those reached in the section of the digestive tract. At the end of each step, aliquots were taken for counting viable probiotic cells.

2.5 Statistical analysis

The results were analyzed through analysis of variance (ANOVA), and the means were compared by Tukey test at a significance level of 5% using statistical software SAS version9.

3. Results and discussion

The probiotic capsules developed showed 0.41% of protein, 96.82% of humidity, 0.25% of ashes, 0% of fat, 2.52 of carbohydrates, water activity (A_w) of 0.98 and pH of 4.47.

The probiotic capsules reached diameters with a mean of $1738 \text{ }\mu\text{m}$. The extrusion capsule forming method produces particles which normally have diameters ranging from $500 \text{ }\mu\text{m}$ to 3 mm (Krasaekoopt, Bhandari and Deeth, 2003). Studies report that capsule size may be influenced by needle diameter, syringe pressure, calcium chloride concentration, stirring rate in the solution where alginate is discarded, concentration of alginate or other compounds

used for encapsulation and by the presence of insoluble calcium carbonate particles suspended in the alginate (Valero-Cases and Frutos, 2015).

The mean encapsulation efficiency (EE) of *Lactobacillus acidophilus* capsules was 98.34%, showing that encapsulation was satisfactory.

Preliminary tests were performed to verify the viability of *Lactobacillus acidophilus* under different manipulation conditions (free and encapsulated) as well as to evaluate its viability over time (Table 2).

Table 2 – Results of viability of *Lactobacillus acidophilus* (free and encapsulated) in Requeijão Cremoso. Results expressed in log CFU.g⁻¹.

Sample	Storage Days			
	0	15	30	45
Requeijão Cremoso with encapsulated <i>L. acidophilus</i> (C1/F5)	10.83±0.07 ^{aA}	9.69±0.09 ^{bA}	8.74±0.10 ^{cA}	8.38±0.09 ^{cA}
Requeijão Cremoso with free <i>L. acidophilus</i> (C2)	9.23±0.07 ^{aB}	5.78±0.03 ^{bB}	4.10±0.23 ^{cB}	1.39±0.03 ^{dB}

Means followed by the same capital letter in the column and lowercase in the row do not differ statistically from each other by the Tukey test at 5% significance.

The encapsulated *L. acidophilus* maintained optimal viability over 45 days showing that encapsulation is a good way to preserve viability. When *L. acidophilus* was added in the free form in the Requeijão Cremoso processed cheese, it was observed that the viability was drastically reduced over time, presenting an unsatisfactory count. Microencapsulation can promote a more anaerobic environment, favoring the survival and multiplication of bacteria within the spheres, and encapsulation and coating serve as a physical barrier against adverse conditions (De Prisco et al., 2015).

Thus, it is evident the need to use a microorganism encapsulated in Requeijão Cremoso processed cheese, since the free additives did not provide a good viability over time.

According to Castro et.al (2015) probiotics should contain minimum $6-7 \log \text{CFU.g}^{-1}$ of viable cells at the time of consumption.

Due to this viability of the encapsulated *L. acidophilus*, it was tested in innovative Requeijão Cremoso processed cheese formulations with the addition of green banana biomass.

The pH results of the Requeijão Cremoso processed cheese formulations during the storage period of 45 days at 5 °C are shown in Table 3.

All the Requeijão Cremoso processed cheese formulations presented values in the range of pH 6. These values are superior to those proposed by Van Dender (2014), who states that pH of processed cheeses range from 5.0 – 6.5 and the molten salt composition interferes with the pH of the final product.

Table 3 – Mean values of pH of treatments over the storage period for Requeijões Cremosos formulations.

Time (days)	Treatments				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	6.65±0.018 ^{cA}	6.73±0.18 ^{aA}	6.71±0.1 ^{bA}	6.62±0.14 ^{dA}	6.64±0.12 ^{cA}
15	6.50±0.09 ^{aB}	6.58±0.03 ^{aB}	6.57±0.05 ^{aB}	6.52±0.02 ^{aAB}	6.56±0.04 ^{aB}
30	6.44±0.17 ^{bC}	6.44±0.12 ^{bC}	6.47±0.13 ^{abC}	6.45±0.18 ^{bB}	6.51±0.16 ^{aB}
45	6.39±0.1 ^{aC}	6.40±0.09 ^{aC}	6.40±0.09 ^{aC}	6.20±0.13 ^{bC}	6.20±0.15 ^{bC}

Means followed by the same lowercase letter in the row and averages followed by the same uppercase letter in the column do not differ statistically by the Tukey test at 5% probability.

F1 (10% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass); F2 (10% of pasteurized cream 5% of green banana biomass); F3 (5% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass); F4 (5% of pasteurized cream e 5% of green banana biomass); F5-Control (20% of pasteurized cream).

In all formulations there was a significant decline in pH over time, a factor that can be considered normal by the reactions in the food itself. Several factors can occur during pH-

lowering storage, such as the reduction of moisture, the hydrolysis of polyphosphates and the interactions between proteins that influence ionic equilibrium (Van Dender, 2014).

It can be observed that there was a decrease in the count of *Lactobacillus acidophilus* over the shelf-life in the formulations (Table 4). This fact can be explained by the fact that microorganisms are metabolically active within the capsules, producing metabolic acids and bacteriocins and/or the loss of substrates (Pedroso et al., 2012).

The decrease was approximately $1 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in the probiotic counts, being lower than that found by Ramírez et al. (2007) in their research, where they developed a Requeijão Cremoso processed cheese with addition of free *Lactobacillus casei* and obtained a decrease of $3 \log \text{CFU.g}^{-1}$ in 15 days. Gaino et al. (2012) developed Requeijão Cremoso processed cheese with free probiotics and obtained a count of $7,2 \log \text{CFU.g}^{-1}$ 1 day after processing. In this way it can be inferred that the encapsulation provides a greater longevity of the probiotic count in Requeijão Cremoso processed cheese.

Considering 45 days as the end of the shelf-life, all the Requeijão Cremoso processed cheeses had values around $8 \log \text{CFU.g}^{-1}$ and could be considered as probiotics. The International Dairy Federation recommends that the minimum concentration of probiotic cells should be $6-7 \log \text{CFU.g}^{-1}$ at the end of shelf-life of the product (Tripathi and Giri, 2014).

It can also be said that the shelf-life of 45 days is suitable for this type of product. According to Trabulsi and Sampaio (2000), for food containing probiotics, the final product should have a half-life of 15 to 30 days, remaining with the number of viable cells greater than $6 \log \text{CFU.g}^{-1}$.

There was no significant difference between the viability of the microorganisms of the treatments, and it can be inferred that the different formulations of the Requeijão Cremoso processed cheese did not interfere in the probiotic activity of *Lactobacillus acidophilus*. Different results were found by Buriti, Castro and Saad (2010) in their research with mousses

containing free probiotics, where they reported that the different composition positively altered the probiotic viability throughout the shelf-life. It is suggested that the difference between the studies is due to the fact that in Requeijões Cremosos processed cheeses, the microorganisms were encapsulated and in the mousses they were in free form and could interact positively with the food matrix.

Table 4 – Viability of *Lactobacillus acidophilus* (log CFU.g⁻¹) in Requeijões Cremosos formulations stored for 45 days under refrigeration.

Time (days)	Treatments				
	F1	F2	F3	F4	F5
0	9.86±0.02 ^{aA}	9.44±0.28 ^{aA}	9.69±0.06 ^{aA}	9.71±0.08 ^{aA}	9.61±0.09 ^{aA}
15	9.25±0.11 ^{aB}	9.36±0.22 ^{aA}	9.54±0.08 ^{aA}	9.55±0.11 ^{aA}	9.43±0.02 ^{aA}
30	8.90±0.02 ^{aC}	8.96±0.05 ^{aA}	8.95±0.03 ^{aB}	8.97±0.03 ^{aB}	8.91±0.03 ^{aB}
45	8.08±0.06 ^{aD}	8.18±0.04 ^{aB}	8.24±0.09 ^{aC}	8.20±0.01 ^{aC}	8.14±0.04 ^{aC}

Means followed by the same lowercase letter in the row and averages followed by the same uppercase letter in the column do not differ statistically by the Tukey test at 5% probability.

F1 (10% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass); F2 (10% of pasteurized cream 5% of green banana biomass); F3 (5% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass); F4 (5% of pasteurized cream e 5% of green banana biomass); F5-Control (20% of pasteurized cream).

Although the viability of probiotic cultures is extremely important throughout the viability of the products that carry them, resistance to passage to the gastrointestinal tract is essential, since to provide benefits to hosts, they must be able to proliferate and colonize the treatment (Saad et al., 2013).

Therefore, through the gastrointestinal simulation (Table 5), it can be seen that the capsules protected the microorganisms during the passage of the esophagus and stomach, with rupture only in the duodenum and ileum. The treatments showed a significant difference in the *Lactobacillus acidophilus* count at each stage, showing that their different composition

interfered in the gastrointestinal simulation and both presented satisfactory results in the probiotic counts, which was approximately $8 \log \text{CFU.g}^{-1}$ at the end of the simulation. Similar results were found by Oliveira et al. (2014) when evaluating the gastrointestinal simulation of goat cheese with addition of *L. acidophilus*, where they observed a reduction of approximately 1 cycle logarithm in the probiotic count at the end of the digestion process, compared to the initial count. Verruck et al. (2015) developed frescal cheese from buffalo probiotic and subjected to gastrointestinal conditions and observed a decrease of approximately 2 logarithmic cycles in the probiotic count at the end of the simulation.

However, the encapsulation technique seems to be able to offer protection against adverse conditions encountered in the gastrointestinal tract by creating a microenvironment for probiotic cells in a matrix (Heidebach et al., 2009).

Table 5 – Mean results of the gastrointestinal simulation test of the elaborated Requeijões Cremosos at one storage time. Results expressed in ($\log \text{CFU.g}^{-1}$).

Condition	Treatments				
	F1	F2	F3	F4	F5
Initial	9.49 ± 0.04^{bcA}	9.37 ± 0.02^{cA}	9.8 ± 0.01^{aA}	9.35 ± 0.03^{cA}	9.71 ± 0.13^{abA}
Stomach	3.17 ± 0.04^{aC}	3.07 ± 0.04^{aD}	3.23 ± 0.02^{aD}	3.06 ± 0.08^{aD}	3.18 ± 0.05^{aC}
Duodenum	7.92 ± 0.01^{abB}	8.01 ± 0.02^{aC}	7.83 ± 0.07^{bC}	7.92 ± 0.03^{abC}	7.99 ± 0.06^{abB}
Ileus	8.05 ± 0.01^{bB}	8.12 ± 0.03^{abB}	8.23 ± 0.02^{abB}	8.26 ± 0.05^{aB}	8.25 ± 0.07^{aB}

Means followed by the same lowercase letter in the row and averages followed by the same uppercase letter in the column do not differ statistically by the Tukey test at 5% probability.

F1 (10% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass); F2 (10% of pasteurized cream 5% of green banana biomass); F3 (5% of pasteurized cream e 10% of green banana biomass) F4 (5% of pasteurized cream e 5% of green banana biomass), F5-control (20% pasteurized cream).

4. Conclusion

The present study showed that the encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* by the extrusion method produced capsules that provided protection of the microorganism during shelf-life. The proposed innovative formulations resulted in Requeijões Cremosos processed cheeses with probiotic viability during shelf-life with a range from 9.86 log CFU.g⁻¹ to 8.08 log CFU.g⁻¹ and the counts of microorganisms in the gastrointestinal simulation ranged from 9.8 log CFU.g⁻¹ (initial) at 8.05 log CFU.g⁻¹ (final-ileus), proving to be satisfactory and conferring functionality to the product, also, it is observed that the difference in the composition of the Requeijões Cremosos processed cheeses interfered in the probiotic viability.

Finally, it is suggested that further studies in this area have to be developed exploring the application of other microorganisms classified as probiotics, since this study showed that the Requeijões Cremosos processed cheeses formulations were a good food matrix for the application of encapsulated *Lactobacillus acidophilus*.

ACKNOWLEDGMENT

The present work was carried out with the support of the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES) - Financing Code 001.

The company Fermentech for the donation of *Lactobacillus acidophilus*, fundamental for the execution of the research.

5. References

Annan NT, Borza AD, Hansen LT (2008) Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. Food Res Int 41: 184-193.

- Boscarioli MPM (2010) Influence of prebiotics on the encapsulation of probiotics added in ice cream. São Paulo, Brazil, 73p. (Master Thesis, School of Engineering Mauá, CEUNEEM).
- Brazil (2006) Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Normative Instruction N°. 68, of December 12, 2006. Official Physical-Chemical Analytical Methods for Control of Milk and Dairy Products.
- Buriti FCA, Cardarelli HR, Saad SMI (2008) Instrumental texture and sensory evaluation of fresh cheese Symbiotic cream: implications of the addition of *Lactobacillus paracasei* and inulin. Rev. Bras. Cien. Farm. 44: 75-84.
- Buriti FCA, Castro IA, Saad SMI (2010). Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. Int J Food Microbiol 137: 121-129.
- Castro JM, Tornadijo ME, Fresno JM, Sandival H (2015) Biocheese: A food probiotic carrier. BioMed Research International 1: 723-756.
- Cook MT, Tzortzis G, Charalampopoulos D (2012) Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. J Control Release 162: 56-67.
- De Prisco A, Maresca D, Ongeng D, Mauriello G (2015) Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. LWT- Food Sci. Technol. 61:542-562.
- Di Bartolomeo F, Startek JB, Van den Ende W (2013) Prebiotics to fight diseases: Reality or fiction? Phytother Res 27: 1457 – 1473.
- Favaro-Trindade CS, Heinemann RJB, Pedroso DL (2011) Developments in probiotic encapsulation. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 6: 1-8.
- FAO/OMS (2006) Probiotics in Food. Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation. In: FAO Food and Nutrition Paper 85, Roma.

- Gaino VO, Voltarelli VP, Rensis CMVB, Vianna PCB (2012) Probiotic Requeijão Cremoso: assessment of the viability of *Lactobacillus casei*, physico-chemical composition and sensorial acceptance. *Semina: Ciên. Agrár.* 33:3133-3142.
- Heidebach T (2009) Microencapsulation of probiotics cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocoll* 23: 1670-1677.
- IAL, Instituto Adolfo Lutz (2008) Physicochemical methods for food analysis. 1st digital edition. Sao Paulo. 1020 p.
- Kale-Pradhan PB, Jassal HK, Wilhelm SM (2010) Role of *Lactobacillus* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis. *Pharmacotherapy* 30: 119- 126.
- Kanmani P, Kumar RS, Yuvaraj N, Paari K, Pattukumar V, Arul V (2011) Effect of cryopreservation and microencapsulation of lactic acid bacterium *Enterococcus faecium* MC13 for long-term storage. *Biochem Eng J* 58: 140-147.
- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H (2003) The influence of coating materials by spray drying. *Food Res Int* 27: 400-408.
- López-Rubio A, Sánchez E, Sanz Y, Lagaron JM (2009) Encapsulamentode bifidobactérias vivas em fibras electrospun de PVOH ultrathin. *Biomacromoléculas* 10: 2823-2829.
- Madureira AR, Amorim M, Gomes AM, Pintado ME, Malcata FX (2011) Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int* 44: 465–470.
- Oi RK, De Moraes Junior D, Tambourgi EB (2012) Feasibility study for the production of green banana flour in spray dryer. *Rev Bras Prod Agroind* 14: 317-322.
- Oliveira MEG, Garcia EF, Oliveira CEV, Gomes AMP, Pintado MME, Madureira ARMF, Da Conceição ML, Queiroga RCRE, De Souza EL (2014) Addition of probiotic bactéria in a semi-hard goat cheese (coalho): Survival to simulated gastrointestinal conditions and inhibitory effect against pathogenic bactéria. *Food Res Int* 64: 241-247.

Oliveira RPS, Perego P, Converti A, Oliveira MN (2009) Effect of inulin on growth and acidification performance of different prebiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. J Food Eng 91: 133-138.

Pedroso DL, Thomazini M, Heinemann RJB, Favaro-Trindade CS (2012) Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. Int Dairy J 26: 127-132.

Pereira TS, Pereira RC, Angelis-Pereira MC (2017) Influence of educational interventions on the knowledge about feeding and nutrition of adolescents of a public school. Cien Saude Colet 22: 427-435.

Pinto SS, Fritzen-Freire C, Benedetti S, Murakami FS, Pe JCC, Prudêncio ES, Amboni RDMC (2015) Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying.. Food Res Int 27: 400 -408.

Ramírez LAG, Ospina AJG, Jamarillo LMA, Patino BT (2007) Evaluation of the viability of a native probiotic strain of *Lactobacillus casei* in cream cheese. Rev Lasallista Investig 4: 37-42.

Rodrigues F (2006) Requeijão, Fondue, Specialty, Processed cheese. Do Autor, Juiz de Fora, MG.

Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter JM, Bressollier P (2013) An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. LWT- Food Sci Technol 50: 1-16.

Simeoni CP, Etchepare MA, Menezes CR, Fries LM, Menezes MFC, Stefanello FS (2014) Probiotic microencapsulation: technological innovation in the food industry. Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental – REGET 18: 66-75.

Smrdel P, Bogataj M, Zega A, Planinsek O, Mrhar A (2008) Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. J Microencapsul 25: 90-105.

- Trabulsi LR, Sampaio MMSC (2000) Probiotics and Child Health. Nestlé, São Paulo.
- Tripathi MK, Giri SK (2014) Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J Funct Foods* 9: 225 – 241.
- Valero-Cases E, Frutos MJ (2015) Effect of different encapsulation types on the survival of *Lactobacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. *LWT-Food Sci Technol* 64: 824-828.
- Van Dender AGF (2014) Requeijão Cremoso and other processed cheeses: Manufacturing technology, process control and market aspects. Setembro publishing company, São Paulo.
- Verruck S, Prudêncio ES, Vieira CRW, Amante ER, Amboni, RDMC (2015) The buffalo Minas Frescal cheese as a protective matrix of Bifidobacterium BB-12 under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT_Food Sci Technol* 63: 1179-1183.
- Vinderola CG, Reinheimer JA (2000) Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, *Bifidobacteria* and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *Int Dairy J* 10: 271-275.
- Yasmin A, Butt MS, Afzaal M, Van Baak M, Nadeem MT, Shahid MS (2015) Prebiotics, gut microbiota and metabolic risks: Unveiling the relationship. *J Funct Foods* 17: 189-201.

4 DISCUSSÃO GERAL

Neste estudo foram desenvolvidas formulações de requeijões cremosos com adição de biomassa de banana verde como substituto parcial de gordura e com *Lactobacillus acidophilus* (La-14) encapsulados avaliando suas características físico-químicas, tecnológicas, microbiológicas, viabilidade probiótica durante a vida de prateleira e na simulação gastrointestinal e sua aceitabilidade sensorial.

Inicialmente foi testado a aplicação de *Lactobacillus acidophilus* encapsulado (C1/F5) e livre (C2) em formulação de requeijão cremoso tradicional, onde pode-se perceber que C1 apresentou viabilidade probiótica no final da vida de prateleira, 45 dias, de 8,41 log UFC.g⁻¹ e C2 aos 15 dias já apresentou contagem insatisfatória de 5,78 log UFC.g⁻¹, demonstrando que a forma mais apropriada de adição do microrganismo em requeijão cremoso é a encapsulada. Estes resultados comprovam o relatado por Chávarri et al. (2010) que estudaram o encapsulamento de bactérias probióticas no alginato de sódio e verificaram que poderia melhorar a estabilidade de armazenamento das células bacterianas quando comparadas as células livres.

Os requeijões elaborados e avaliados incluíram adição de microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* encapsulado e biomassa de banana verde como substituto parcial de gordura, consistindo nos seguintes tratamentos: F1 (10% nata pasteurizada, 10% biomassa de banana verde, 10% de cápsulas); F2 (10% nata pasteurizada, 10% de cápsulas, 5% biomassa de banana verde); F3 (10% biomassa de banana verde, 10% de cápsulas, 5% de nata pasteurizada); F4 (10% de cápsulas, 5% biomassa de banana verde, 5% de nata pasteurizada); F5-controle (10% de cápsulas, 20% de nata pasteurizada).

As análises microbiológicas dos requeijões armazenados sob refrigeração ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) durante o período de 45 dias mostraram que os requeijões estiveram aptos ao consumo, pois os resultados encontraram-se dentro dos padrões propostos pela Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001 (Brasil, 2001) para coliformes totais, coliformes termotolerantes, estafilococos coagulase positiva, bolores e leveduras e salmonela.

A viabilidade probiótica dos requeijões durante a vida de prateleira variou de 9,86 log UFC.g⁻¹ à 8,08 log UFC.g⁻¹ e a contagem dos microrganismos na simulação gastrointestinal variaram de 9,8 log UFC.g⁻¹ (inicial) a 8,05 log UFC.g⁻¹ (final-íleo), demonstrando-se satisfatórias e conferindo funcionalidade ao produto. Através destes resultados observa-se que a diferença de composição dos requeijões não interferiu na viabilidade probiótica ao longo da vida de prateleira, mas sim na simulação gastrointestinal. Estando estes resultados de acordo

com o proposto por Nazzaro et al. (2009), os quais recomendam uma contagem na faixa de 8-9 log UFC.g⁻¹ em alimentos contendo bactérias probióticas antes da ingestão para assegurar que um mínimo terapêutico suficiente de 6-7 log UFC.g⁻¹ possa atingir o cólon.

A biomassa de banana verde utilizada como substituto parcial de gordura proporcionou uma diminuição do teor de gordura e proteína e um aumento de umidade e atividade de água nos requeijões cremosos testados.

Os únicos requisitos físico-químicos preconizados pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Requeijão ou Requesón são umidade e gordura no extrato seco, onde o requeijão cremoso deve conter no mínimo 55% de matéria gorda no extrato seco e máximo de 65% de umidade (BRASIL, 1997).

A formulação controle (F5) está de acordo com a legislação para os parâmetros de umidade (60,37±0,92%) e gordura no extrato seco (58,71±2,12%), caracterizando-a como requeijão cremoso. A formulação F4 está de acordo para o teor de umidade (64,29±0,32%), já as formulações F1, F2 e F3 obtiveram índices de umidade superiores, 67,97±0,34%, 65,97±0,24% e 69,42±0,63%, respectivamente, o que pode ser explicado pela diferente composição das formulações, uma vez que ambas possuem quantidade inferior de gordura em relação ao controle e possuem adição da biomassa de banana verde, e conseqüentemente maior adição de água. Estes resultados corroboram com Silva et al. (2012) que desenvolveram e avaliaram requeijões light, sendo a gordura substituída pelo concentrado proteico de soro e água, os quais apresentaram teor de umidade máximo de 71% e mínimo de 64%. Baroni et al. (1999) no desenvolvimento de requeijão com teor reduzido de gordura também obtiveram requeijões com cerca de 70% de umidade e 10% de gordura. Segundo Silva e Alves et al. (2015) aumentando-se o conteúdo de umidade pode-se obter, além da textura típica, um pouco da lubrificação ou sensação de cremosidade na boca e da maciez proporcionadas pela gordura.

Em relação à gordura no extrato seco, observa-se que os tratamentos F1, F2, F3 e F4 possuíram valores de gordura no extrato seco inferiores a legislação para requeijão cremoso, 36,81±1,20%, 43,63±1,65%, 41,03±2,65%, 49,11±0,81%, respectivamente. No entanto apenas o F1 pode-se classificar como requeijão cremoso com teor reduzido de gordura em virtude da redução de mais de 25% deste componente conforme regulamento técnico referente à informação nutricional complementar (BRASIL, 1998).

Embora as diferentes composições das formulações tenham proporcionado uma diminuição do teor de proteína, as quais variaram de 9,13±0,73% a 10,52±0,43%, ainda estão dentro da faixa admitida por Ramos et al. (2012) para requeijão cremoso que é de 9% a 11%

de teor de proteína. Os valores de proteínas corroboram com os teores encontrados por Gomes e Penna (2010), de 7,29% a 10,04%, no estudo de caracterização de requeijão cremoso potencialmente prebiótico.

A atividade da água é um parâmetro importante dentro de um alimento, pois descreve o nível da água no estado ligado e é dependente da interação da água com outros componentes (DUGGAN et al., 2008). A atividade de água variou de $0,989 \pm 0,001$ a $0,992 \pm 0,000$, sendo que as formulações F1 e F3 apresentaram maiores índices e a mesma foi aumentando ao longo do tempo. Este resultado vai ao encontro do estudo desenvolvido por Shuhong et al. (2018), que elaboraram queijo muçarela com baixo teor de gordura e desnatado com adição de um polissacarídeo, e observaram uma maior atividade de água nos queijos com adição do polissacarídeo e um aumento da atividade de água com o tempo.

O teor de cinzas apresentou diferença significativa entre as formulações que variaram $2,62 \pm 0,54\%$ a $3,20 \pm 0,12\%$, acredita-se que esta diferença seja em virtude das diferentes composições.

Os requeijões também apresentaram diferenças significativas no teor de carboidratos, variando de $2,87 \pm 1,18\%$ a $8,50 \pm 1,10\%$. O ingrediente que mais contribui para esta diferença possivelmente foi a biomassa de banana verde devido a presença destes em sua composição.

A quantidade média de amido resistente durante os 45 dias de armazenamento foi de 0,670g/100g em F1, 0,385g/100g em F2, 0,665g/100g em F3, 0,400g/100g em F4 e 0g/100g em F5 (controle), sendo que as formulações que receberam 10% de biomassa de banana verde (F1 e F3) apresentaram os maiores ($p \leq 0,05$) teores de amido resistente. Segundo Slavin (2013) a ingestão diária mínima sugerida para prebióticos para obter efeitos benéficos à saúde em humanos é de 3 g. Sugerindo o consumo diário de 30 g das formulações de requeijões cremosos F1 e F3, as quais possuem maior quantidade de amido resistente, proporcionaria aproximadamente 6% do consumo indicado de prebióticos.

Observa-se que em todas as formulações houve um declínio significativo do pH ($6,71 \pm 0,1$ - $6,20 \pm 0,13$) ao longo do tempo, fator este que pode ser considerado normal pelas interações entre os componentes do próprio alimento. Segundo Van Dender (2014) o pH dos queijos processados varia na faixa de 5,0 a 6,5. O elevado valor de pH dos requeijões pode ser devido ao sal fundente utilizado. A composição do sal fundente interfere na fusão da massa, na qualidade e no pH do produto (VAN DENDER, 2014).

De maneira geral, analisando o percentual de ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e ácidos graxos poli-insaturados (AGPI), não houve

diferença significativa entre os tratamentos e entre os tempos, onde apresentaram valores aproximados a 69%, 29% e 2%, respectivamente. Sendo que o resultado da quantificação de AGS desta pesquisa foram superiores e de AGM inferiores aos achados no estudo realizado por Mattana et al. (2012), no qual desenvolveram requeijões cremosos com baixo teor de lactose produzidos por dois diferentes processos e obtiveram no perfil lipídico AGS que variaram de 62,76% a 64,70%, AGM que variaram de 29,90% a 31,56% e AGPI que variaram de 4,36% a 5,36%. Vale ressaltar que os resultados dos ácidos graxos estão expressos em mg de ácidos graxos/grama de gordura, no entanto a quantidade de ácidos graxos é proporcional a quantidade de gordura dos requeijões, ou seja, requeijões que possuem menos gordura terão consequentemente uma menor quantidade no total de ácido graxos.

Em relação à cor, a redução da gordura e adição da biomassa de banana verde, contribuíram para diminuição da intensidade de branco amarelado (L^* ; b^*) e aumento da intensidade do vermelho (a^*), sugerindo que o branco amarelado contribuiu para a característica de cor dos produtos.

A textura foi influenciada pelos teores de gordura e biomassa de banana verde, sendo que a firmeza ($125,88 \pm 27,68$ - $404,03 \pm 91,60$) e elasticidade ($0,78 \pm 0,08$ - $0,56 \pm 0,02$) foram menores nos requeijões com maior percentual de biomassa de banana verde e menor teor de gordura (F1 e F3), para os parâmetros de adesividade ($-250,51 \pm 38,19$ - $-496,60 \pm 45,00$) e coesividade ($0,78 \pm 0,01$ - $0,94 \pm 0,00$), os tratamentos que receberam um maior percentual de biomassa de banana verde resultaram em maior índice dos mesmos. Com a redução da gordura, a matriz protéica se torna mais compacta, conferindo aumento da firmeza e adesividade do requeijão (VAN DENDER, 2014). Numa tentativa de recuperação das propriedades conferidas pela gordura fez-se a combinação entre diferentes teores de gordura e biomassa de banana verde/água o que permitiu a obtenção de produtos com diferentes perfis de textura.

A análise sensorial mostrou que as diferentes concentrações de biomassa de banana verde e gordura não proporcionaram grandes diferenças de aceitação do produto quando comparadas com o controle, sendo que todos os tratamentos obtiveram notas para serem considerados como aceitos. As notas atribuídas aos atributos de aparência global, cor, aroma, sabor e textura variaram de 4,12 (indiferente) a 5,98 (gostei), sendo que o menor e maior valor foi verificado no atributo cor. Em relação à intenção de compra pode-se afirmar que os requeijões tiveram uma boa aceitação de compra, pois os maiores percentuais correspondem

ao termo "provavelmente comprariam" na maioria das formulações. Os melhores índices de intenção de compra foram observados nas formulações F2, F4 e F5.

Por fim, conforme as condições experimentais, as formulações de requeijões inovadores desenvolvidos apresentaram funcionalidade devido ao satisfatório número de células viáveis de *Lactobacillus acidophilus* e diminuição do teor de gordura em virtude da substituição parcial da nata pasteurizada (fonte de gordura) pela biomassa de banana verde, porém a F1 foi a única que pôde ser classificada como teor de gordura reduzido.

5 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a biomassa de banana verde utilizada como substituto parcial de gordura nas formulações de requeijões cremosos inovadores proporcionou alterações nas características físico-químicas e tecnológicas e manteve a aceitação sensorial.

A aplicação de microcápsulas de *Lactobacillus acidophilus* nas formulações concederam viabilidade probiótica durante 45 dias de armazenamento do produto sob refrigeração e proteção contra as condições gastrointestinais simuladas, sendo que ambas as contagens finais foram superiores a $8 \log \text{UFC.g}^{-1}$.

Portanto, os resultados indicam que a biomassa de banana verde e *Lactobacillus acidophilus* microencapsulados podem ser uma alternativa potencial de ingredientes a serem utilizados na formulação de requeijão cremoso pelas indústrias de laticínios, pois os mesmos apresentaram comportamento satisfatório como substituto parcial de gordura e de viabilidade probiótica, respectivamente, conferindo valor nutricional e funcional diferenciado a este produto.

5.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Sugere-se que sejam desenvolvidos mais estudos nesta área explorando a aplicação de outros microrganismos classificados como probióticos, uma vez que este estudo mostrou que diferentes formulações de requeijões foram uma boa matriz alimentícia para a aplicação de *Lactobacillus acidophilus* encapsulados e também explorar a biomassa de banana verde como prebiótico. Além de um estudo clínico (considerando modelo animal ou humano) que poderá ser útil para avaliar o impacto da ingestão do referido produto na saúde do consumidor.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Minuta de guia para Instrução Processual de Petição de Avaliação de Probióticos para Uso em Alimentos**. 2019.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Probióticos: Construção da Lista de Linhagens Probióticas**. 2017.
- ALVES, C. C. C. et al. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo minas frescal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n.6, 2011.
- BARONI, A. F. et al., Caracterização reológica de requeijão cremoso tradicional e com teor reduzido de gordura: viscosidade extensional e em cisalhamento. **Brazil Journal Food Technology**, 2: 9-21, 1999.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998**. Regulamento Técnico de Informação Nutricional complementar. Brasília; 1998.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 359, de 04 de Setembro de 1997**. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão ou Requesõn. Diário Oficial da União de 09 de setembro de 1997.
- BRITTON, K. A. et al. Body fat distribution, incident cardiovascular disease, cancer: and all-cause mortality. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 62, p. 921-925, 2013.
- BUREY, P. et al. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization and application. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 361-377, 2008.
- CARDOSO, A. F. C.; LIVERA, A. V. S. Qualidade e viabilidade de requeijão cremoso caseiro probiótico. In: CONIC, 19., 2011, Pernambuco. **Anais**. Pernambuco: UFPE, 2011.
- CARMO, A. F. S. **Propriedades funcionais da biomassa e farinha de banana verde**. 2015. 58p. Monografia (Especialização do Curso de Engenharia Bioquímica) – Universidade de São Paulo, Lorena, SP, 2015.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Natural food additives: Quo vadis?. **Trens in Food Science & Technology**, v. 45, p. 284-295, 2015.
- CHÁVARRI, M. et al. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 142, p. 185-189, 2010.

CHONG, L. C.; NOOR, A. A. Effects of banana flour and b-glucan on the nutritional and sensory evaluation of models. **Food Chemistry**, v.19, p. 34-40, 2010.

COLLI, C. **Nutracêutico é uma nova concepção de alimento**. Notícias SBAN, v.1, p.1-2, 1998.

COLTRO, L.; KARASKI, T.U. Environmental indicators of banana production in Brazil: *Cavendish* and *Prata* varieties. **Journal of Cleaner Production**, v. 207, p. 363-378, 2019.

CORONA-HERNANDEZ, R. et al. Structural stability and viability of microencapsulated probiotic bacteria: a review. **Reviews in Food Science and Food Safety**, v.12, p. 614-628, 2013.

COUSIN, F. J.; LYNCH, S. M.; HARRIS, H. M. Detection and genomic characterization of motility in *Lactobacillus curvatus*: confirmation of motility in a species outside the *Lactobacillus salivarius* clade. **Applied Environmental Microbiology**, v.81, p. 1297-1308, 2015.

DAFE, A. et al. Development of novel carboxymethyl cellulose/k-carrageenan blends as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. **International Journal Biology Macromolecules**, v.97, p. 299-307, 2017.

DAL CASTEL, A. P. et al. Desenvolvimento de requeijão cremoso sem lactose. **Revista Instituto Cândido Tostes**, v.72, p. 58-66, 2017.

DIAMANTINO, I. M.; PENNA, A. L. B. Efeito da adição da utilização de substitutos de gordura em queijos *light*. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.70, p. 258-267, 2011.

DI BARTOLOMEO, F. et al. Prebiotics to fight diseases: Reality or fiction? **Phytotherapy Research**, v. 27, p. 1457 – 1473, 2013.

DUGGAN, E. et al. Effect of resistant starch on the water binding properties of imitation cheese. **Journal of Food Engineering**, v.84, p.108–115, 2008.

FAO/OMS. Probiotics in Food. Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation. **In: FAO Food and Nutrition Paper 85**, Roma, 2006.

FARIAS, P. K. S. Desenvolvimento e análise sensorial de diferentes tipos de hambúrgueres funcionais utilizando o reaproveitamento de alimentos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v.8, p. 07-14, 2016.

FERRÃO, L. L. et al. Strategies to develop healthier processed cheeses: Reduction of sodium and fat contents and use of prebiotics. **Food Research International**, v.86, p. 93-102, 2016.

FERREIRA, C. L. L. F. **Prebióticos e Probióticos: atualização e prospecção**. Editora Rubio, Rio de Janeiro, 2012. 248p.

FOULADKHAH, A.; BERLIN, D.; BRUNTZ, D. High-sodium processed foods: Public health burden and sodium reduction strategies for industry practitioners. **Food Reviews International**, v. 31, p. 341-354, 2015.

GAINO, V. de O. et al. Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-química e aceitação sensorial. **Ciências Agrárias**, n.33, v.2, p.3133-3142, 2012.

GARRUTI, D. S. et al. Desenvolvimento do perfil sensorial e aceitação de requeijão cremoso. **Ciencia Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.434-440, 2003.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Jornal Nutrition**, v.125, p.1401-1412, 1995.

GOMES, R. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de requeijão cremoso potencialmente prebiótico pela adição de inulina e proteína de soja. **B.CEPPA**, Curitiba, n.28, 289-302, 2010.

GRANATO, D. et al. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, n. 5, p. 455-470, 2010.

GUL, O.; DERVISOGLU, M. Application of multicriteria decision technique to determine optimum sodium alginate concentration for microencapsulation of *Lactobacillus casei* Shirota by extrusion and emulsification. **Journal of Food Process Engineering**, v. 40, p. 1-10, 2016.

JOHNSON, M. E. et al. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed cheeses: scientific and technological aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, p. 252-268, 2009.

MAGALHÃES, M. S. et al. **Terminology: Functional foods, probiotics, prebiotics, synbiotics, health claims, sensory evaluation of food, molecular gastronomy Functional**. Food Forum (ed), Turku, 2011; 122p.

MALTA, M. B. et al. Avaliação da alimentação de idosos de município paulista – aplicação do Índice de Alimentação Saudável. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.18, p.377-384, 2013.

MANOJLOVIC, V. et al. Encapsulation of prebiotics for use in food products. **Encapsulation technologies for Active Food Ingredients and Food Processing**, p. 269-302, 2010.

MARTIN, J. M. et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.27, p. 20-25, 2015.

MATTANA, P. et al. Parâmetros tecnológicos e sensoriais de requeijões cremosos com baixo teor de lactose. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.387, p.30-37, 2012.

MC CARTHY, C. M. et al. Effect of salt and fat reduction on proteolysis, rheology: and cooking properties of cheddar cheese. **International Dairy Journal**, v. 56, p. 74-86, 2016.

MERCÊS, E. et al. Percepção dos consumidores de Juiz de Fora-MG quanto à possível oferta de leite funcional com elevado teor de ácido linoleico conjugado (CLA). In: CONGRESSO INTERNACIONAL DO LEITE, 12.; WORKSHOP DE POLÍTICAS PÚBLICAS, 12.; SIMPÓSIO DE SUSTENTABILIDADE DA ATIVIDADE LEITEIRA, 13., 2013, Porto Velho. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2013.

MINTEL. **Us flavor and ingredient trends**. 19p., 2019.

MIRZAEI, H.; POURJAFAR, H.; HOMAYOUNI, A. Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La 5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1966-1970, 2012.

MORAIS, E. C. et al. Development of chocolate dairy dessert with addition of prebiotics and replacement of sucrose with different high-intensity sweeteners. **Journal of Dairy Science**, n.5, p.2600 – 2609, 2014.

MOREIRA, A. P. B. et al. Efeito do processamento e armazenamento de alimentos ricos em amido sobre o índice glicêmico e resposta glicêmica. **B. CEPPA**, v. 29, p. 281-292, 2011.

MOROEANU, V. I. et al. Probiotic strains influence on infant microbiota in the in vitro colonic fermentation model GIS1. **Indian Journal Microbiology**, v. 55, p. 423-429, 2015.

NAGAI, N.; UYAMA, O.; KAJI, H. Dietary habits prone to lifestyle-related disease. **Health Education Journal**, v. 72, p. 172-179, 2013.

NAZZARO, F. et al. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. **Journal Functional Foods**, v. 1, p. 319-323, 2009.

NOBRE, C. et al. Evaluation of commercial resins for fructo-oligosaccharide separation. **New Biotechnology**, v. 31, p. 55 – 63, 2014.

O'CONNOR, T.P.; O'BRIEN, N.M. Butter and other milk fat products-fat replacers. **Encyclopedia of dairy science** (2nd ed.). 2011. 523p.

OLIVEIRA, R. S. et al. Effect of inulin on growth and acidification performance of different prebiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. **Journal of Food Engineering**, v.91, p.133-138, 2009.

ORMENESE, R. C. S. et al. **Obtenção da farinha da banana verde por diferentes processos de secagem e aplicação em produtos alimentícios**. Tese de doutorado apresentado a Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas, 2010.

O'SULLIVAN, M. G. Low-Fat Foods: Types and Manufacture. **Encyclopedia of Food and Health**. 2015. 430p.

OVANDO-MARTINEZ, M. et al. Unripe banana flour as an ingredient to increase the undigestible carbohydrates of pasta, **Food Chemistry**. v.113, p.121 -126, 2009.

PASIN, B. L.; AZÓN, G. C.; GARRIGA, A. M. Microencapsulación de alginato en alimentos. Técnicas y Aplicaciones. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, v.3, p. 131-151, 2012.

PINTO, S. S. et al. Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect Bifidobacterium-BB-12 microencapsulated by spray drying. **Food Research International**, v.27, p. 400-408, 2015.

PRISCO, A. D.; MAURIELLO, G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. **Trends in Food Science and Technology**, v.48, p.27-39, 2015.

RABBANI, G. H. Green banana-supplemented diet in the home management of acute and prolonged diarrhea in children a community-based trial in rural Bangladesh. **T M & I H**, v.15, p. 1132-1139, 2010.

RAJAM, R. et al. Effect of whey protein-alginate wale systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. **Journal of Funtional Foods**, v.4, p.891-898, 2012.

RAMCHANDRAN, L.; SHAH, N. P. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. **LWT-Food Science and Technology**, v.43, p. 819-827, 2010.

RAMOS, F. M. et al. Adequacy of creamy Requeijão cheese to the standards of identity and quality and the labeling standards. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 389, p.5-14, 2012.

RANIERI, L. M.; DELANI, T. C. O. Banana verde (*Musa spp*): obtenção da biomassa e ações fisiológicas do amido resistente. **Revista Uningá Review**, v. 20, p. 43-49, 2014.

SAAD, N. et al. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic. **LWT – Food Science and Technology**, v. 50, p. 1-16, 2013

SCHEID, M. M. A. **Avaliação dos Efeitos do Yacon Liofilizado em Idosos**, 2013, 122p. Tese de Doutorado em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2013

SCHELL, D.; BEERMANN, C. Fluidized bed microencapsulation of *Lactobacillus reuteri* with sweet whey and shellac for improved acid resistance and in-vitro gastro-intestinal survival. **Food Research International**, v.62, p.308 – 314, 2014.

SEYLOUD, T. et al. Agronomic performance of plantain cultivars (*Musa spp.*) in efficient mixing situation for the control of black sigatoka in southern coted`ivoire. **Asian journal of Plant Pathology**, v. 11, p. 1-9, 2017.

SHAO, D. et al. Simulated microgravity affects somebiological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, p. 3439-3449, 2017.

SHOJI, A. S. et al., Viability of *L. acidophilus* microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 83-88, 2013.

- SHUHONG, D. et al. Physicochemical and textural properties of mozzarella cheese made with konjac glucomannan as a fat replacer. **Food Research International**, v.107, p.691-699, 2018.
- SILVA, A. R. et al. Green banana pasta diet prevents oxidative damage in liver and kidney and improves biochemical parameters in type 1 diabetic rats. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, v. 23, p. 1-12, 2016.
- SILVA E ALVES, A. T. Desenvolvimento de tecnologia de fabricação de requeijão cremoso com teor reduzido de gordura. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.70, p.64-77, 2015.
- SILVA, R. C. S. N. et al. Otimização da aceitabilidade sensorial de requeijão cremoso light. **Ciência Rural**, v.42, p.360-366, 2012.
- SLAVIN, J. Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. **Nutrients**, v.5, p.1417-1435, 2013.
- SOUZA, N. C. O. **Efeito da biomassa de banana verde em substituição à gordura e redução de açúcar na qualidade de bolo**. 2017. 119p. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2017.
- TEIXEIRA, G. L. S. B. **Qualidade e viabilidade de requeijão cremoso adicionado de *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum***. 2012. 64p. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade de Pernambuco, Recife, PE, 2012.
- TRIPATHI, M. K.; GIRI, S. K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. **Journal of Functional Foods**, v. 9, p. 225 – 241, 2014.
- VAN DENDER, A. G. F. **Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado**. São Paulo: setembro editora; 2014.448p.
- VERNAZA, M. G.; GULARTE, M. A.; CHANG, Y. K. Addition of green banana flour to instant noodles: rheological and technological properties. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1157-1165, 2011.
- VIDIGAL, M.C.T.R. et al. Concentrado proteico do soro melhora a qualidade sensorial de sobremesa láctea diet. **Ciência Rural**, v. 42, n. 12, p. 2272-2279, 2012.
- VIEIRA, M.C. et al. Análise de viabilidade econômica da produção de formulações de requeijão cremoso sem adição de gordura e com teor reduzido de sódio. **Informações econômicas**, n.44, p.36-40, 2014.
- XIE, N. et al. Kefir yeasts enhance probiotic potentials of *Lactobacillus paracasei* H9: The positive effects of coaggregation between the two strains. **Food Research International**, v. 45, n.1, p. 395 – 401, 2012.

ZAKIR, M.M.; FREITAS, I.R.; Benefícios do consumo de isoflavonas presentes em produtos derivados de soja, **Journal of Bioenergy and Food Science**, v.2, 2015.

ZANDONADI, R. P. **Massa de banana verde: uma alternativa para exclusão do glúten.** 2009. 74p. Tese (Doutorado em Ciência da Saúde). Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2009.