

Avaliação da viabilidade celular de *Lactobacillus Casei* CSL3, aplicado em bananas liofilizadas.

KETNEN RIEFFEL DAS CHAGAS¹; GABRIELA DE QUADROS DA LUZ²;
EDIANE DEIJALY DOS SANTOS³; YASMIM DE MACEDO CORRÊA⁴;
MARCELO ROSADO FURTADO⁵ PATRICIA SILVA DIAZ⁶

¹Universidade federal de pelotas 1 – rieffelketnen@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – gabi.qluz@gmail.com

³Universidade federal de pelotas 3 – dejaly@hotmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – yasmimcorress2@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – marcelorosado2011@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – bilicadiaz@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

O aumento da busca por alimentos que promovam qualidade de vida e bem-estar tem impulsionado a popularidade dos alimentos funcionais, ricos em probióticos, prebióticos, peptídeos bioativos, compostos antioxidantes, além de nutrientes como vitaminas e minerais. Muitos desses alimentos se originam de produtos lácteos, dessa forma, esses produtos enfrentam restrições como necessidade de refrigeração e presença de alérgenos. Diante dessas limitações e da demanda por novidades gastronômicas, surgiu uma tendência na elaboração de produtos probióticos de origem não láctea (PEREIRA et al., 2020)

As pesquisas têm se dedicado à busca por matrizes não lácteas, e entre essas, as frutas têm se destacado como promissoras. Isso se deve às suas diversas vantagens, como a capacidade de proteger os microrganismos durante o processamento, armazenamento e a digestão gastrointestinal. Diante dessa perspectiva, a banana prata se revela como uma excelente candidata, graças ao seu elevado valor nutricional e funcional. Ela é uma fonte significativa de vitamina A e C, carboidratos, aminoácidos, fibras e minerais, além de ser uma das frutas mais amplamente consumidas globalmente. (COLTRO; KARASKI, 2019; ESTER et al., 2019)

Embora sejam alternativas viáveis, frutas possuem teor elevado de umidade e, conseqüentemente, sofrem rápida deterioração. Portanto, pesquisas têm focado em soluções para esse desafio, incluindo a utilização de alimentos desidratados. Essa abordagem não apenas facilita o preparo, mas também estende a vida útil dos alimentos, reduzindo os riscos de contaminação durante o armazenamento (PEREIRA et al., 2020).

Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo aplicar o *Lacticaseibacillus casei* CSL3 (*L. casei* CSL3), em bananas liofilizadas, buscando avaliar a viabilidade celular e a passagem pelo trato gastrointestinal simulado.

2. METODOLOGIA

2.1. Cultivo de *L. casei* CSL3

O método de cultivo do *L. casei* CSL3, baseado no procedimento de ROSOLEN et al. (2019), envolveu a reativação do microrganismo em meio MRS (Man, Rogosa e Sharpe). a 37 °C, a 150 rpm, por 24 horas, em um ambiente anaeróbico. O inóculo foi então introduzido em um biorreator de 2 litros contendo meio MRS, mantido a 37 °C e agitado a 100 rpm, também sob condições anaeróbicas, por 24 horas. As células foram subsequentemente colhidas por

centrifugação a 2370 x g, a 4 °C por 10 minutos, lavadas, ressuspendidas em solução de água peptonada 0,1% e refrigeradas a 4 °C para armazenamento.

2.3 Aplicação em matriz alimentar

Bananas frescas foram submetidas à liofilização e, posteriormente, imersas em suspensões contendo o microrganismo *L. casei* CSL3 livre. Foram constituídos três subgrupos com diferentes tempos de imersão (10, 15 e 30 minutos). Após a imersão, os subgrupos foram submetidos a uma segunda etapa de liofilização e acondicionados em embalagens metalizadas. A solução para impregnação das células livres de *L. casei* CSL3 foi obtida a partir do concentrado de células proveniente da fermentação.

As rodela de banana previamente liofilizadas foram imersas nessa solução, variando os tempos de imersão, e depois congeladas.

2.3 Teste de viabilidade gastrointestinais de *L. casei* CSL3 livre

No teste, amostras do sexto dia de armazenamento foram avaliadas para sobrevivência após exposição aos fluidos gástricos por 30, 60 e 120 minutos, e aos fluidos intestinais simulados por 240 minutos. Cada amostra, com células livres, foi preparada com 3g em 27 mL de água peptonada 0,1%. Uma mistura de 0,1 mL de amostra com 0,9 mL de suco gástrico ou suco intestinal simulado foi criada.

O suco gástrico simulado incluiu pepsina a 3,0 mg/mL, em solução salina 0,5% acidificada para pH 2,0, 2,5 e 3,0. O suco intestinal simulado teve pancreatina a 1,0 mg/mL, em solução salina 0,5%, pH ajustado para 8,0, com ou sem bile bovina a 0,5%. Ambas soluções foram esterilizadas por filtração com membranas de 0,22 µm. Após exposição, alíquotas foram coletadas e contagem de células viáveis feita por diluição seriada e cultivo em ágar MRS, a 37°C por 48 horas sob anaerobiose.

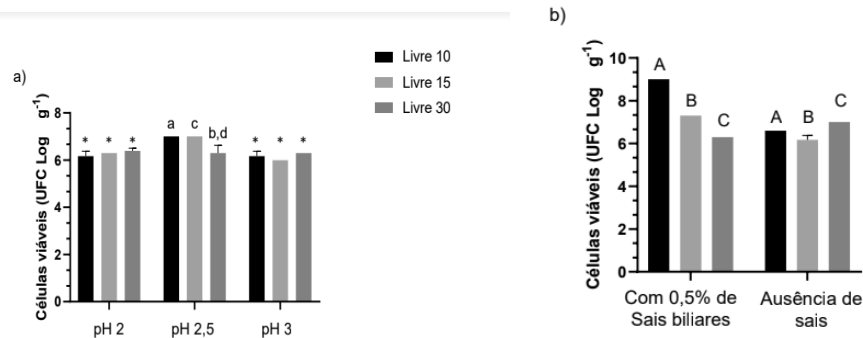
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da viabilidade celular está apresentado na tabela 1, após a aplicação da célula na forma livre, observou-se uma média de redução de concentração celular de $2.52 \pm 0.3 \text{ Log UFC.g}^{-1}$. Estes resultados indicam que todos os grupos analisados no estudo apresentaram níveis adequados de *L. casei* CSL3, garantindo assim seu efeito probiótico.

Tabela 1 - Concentração de células viáveis em cada solução de imersão e após a aplicação na banana liofilizada, log UFC.g⁻¹

Grupo	Solução antes da aplicação (expresso em células viáveis, log UFC.g ⁻¹)	Banana após aplicação (T0) (expresso em células viáveis, log UFC.g ⁻¹)
Livre 10	10,3 ± 0,20	8,02 ± 0,08
Livre 15	10,9 ± 0,60	8,47 ± 0,40
Livre 30	11,5 ± 0,10	8,65 ± 0,50

Figura 1 - Viabilidade de *L. casei* CSL3 livre e aplicado em banana liofilizada durante a exposição ao trato gastrointestinal simulado. (a) fluido gástrico pH 2, pH 2,5 e pH 3 por 60 minutos; (b) exposição aos fluidos intestinais com 0,5% de sais biliares e sem sais biliares durante 4 horas. a-d letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma solução de pH indicam uma diferença significativa ($p < 0,05$). A-C letras maiúsculas iguais sobrescritas no mesmo grupo em diferentes soluções intestinais indicam uma diferença significativa ($p < 0,001$). (*) indicam nenhuma diferença significativa entre os grupos na mesma solução de pH.



Para o teste de resistência gastrointestinal do grupo livre, os resultados são apresentados na figura 1, observa-se que não houve diferença significativa entre os três grupos, quando submetidas às soluções gastrointestinais. as bananas imersas por 30 minutos, obtiveram as concentrações celulares mais elevadas em soluções de pH 2 e 3, com contagens de 6.39 e 6.30 Log UFC.g⁻¹, respectivamente. No caso da solução com pH 2.5, o grupo manteve a concentração celular de 6.30 Log UFC.g⁻¹. Entretanto, os grupos de 10 e 15 minutos demonstraram diferenças significativas ($p < 0,05$) em relação ao grupo de 30 minutos na solução com pH 2.5, com concentração de células viáveis de 7 Log UFC.g⁻¹. Ao analisar a presença de 0.5% de sais biliares e ausência de sais os grupos imersos por 10 e 15 minutos obtiveram maior concentração celular e o livre teve comportamento oposto, com menor concentração de células na solução com sais biliares e maior na ausência de sais

Ao comparar os resultados com estudos anteriores, como o de Massoungbora et al. (2019), observou-se que, para o *Lactobacillus casei* livre e microencapsulado aplicado em banana em pó, os microrganismos livres não resistiram à acidez da solução, apresentando uma concentração de células viáveis de 4.69 e 5.64 Log UFC.g⁻¹, respectivamente. Em contrapartida, e em consonância com o presente estudo, Vitola et al. (2020) demonstraram uma viabilidade celular de 7.54 Log UFC.g⁻¹ para o *L. casei* CSL3 livre, após exposição à simulação do teste gastrointestinal.

O estudo demonstrou que a banana possui potencial para constituir uma matriz alimentar alternativa a produtos lácteos, pois apresentou viabilidade celular em concordância com estudos encontrados. Além disso, a banana prata apresenta como vantagem ser fonte de vitaminas, minerais, fibras e outros componentes antioxidantes, que podem ter protegido o *L. casei* CSL3 durante o teste gastrointestinal (COLTRO; KARASKI, 2019; ESTER et al., 2019).

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o *Lactobacillus casei* CSL3 durante os testes gastrointestinais evidenciam um claro potencial probiótico, com a capacidade de

resistir ao ambiente ácido e à presença de sais biliares ao ser aplicado na banana liofilizada.

Esses achados ressaltam o promissor potencial do microrganismo para aplicação em matrizes alimentares desse tipo, destacando sua resiliência à técnica de liofilização, e também às condições fisiológicas do trato gastrointestinal. Isso abre caminho para a exploração futura desse microrganismo como um componente benéfico em alimentos funcionais, enriquecendo as opções de produtos saudáveis e de alta qualidade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COLTRO, L.; KARASKI, T. U. Environmental indicators of banana production in Brazil: *Cavendish* and *Prata* varieties. **Journal of cleaner production**, [S.l.], v.207, p.363–378, 2019.
- DA LUZ, Gabriela Quadros. Aplicação de *Lactobacillus casei* CSL3 em banana liofilizada. 2022. **Dissertação (Mestrado em biotecnologia)** - Universidade Federal de Pelotas, [S. l.], 2022.
- ESTER, B. et al. Probiotic survival and in vitro digestion of *L. salivarius* spp. *salivarius* encapsulated by high homogenization pressures and incorporated into a fruit matrix. **LWT**, [S.l.], v.111, p.883–888, 2019.
- MASSOUNGA BORA, A. F.; LI, X.; ZHU, Y.; DU, L. Improved viability of microencapsulated probiotics in a freeze-dried banana powder during storage and under simulated gastrointestinal tract. **Probiotics and antimicrobial proteins**, [S.l.], v.11, n.4, p.1330–1339, 2019.
- PEREIRA, J. A. et al. Potentially symbiotic fermented milk: A preliminary approach using lactose-free milk. **LWT**, [S.l.], v.118, p.108847, 2020.
- ROSOLEN, M. D. et al. Symbiotic microencapsulation of *Lactococcus lactis* *subsp.lactis* R7 using whey and inulin by spray drying. **Lwt**, [S.l.], v.115, p.108411, 2019.
- VITOLA, H. R. S. et al. *Lactobacillus casei* CSL3: Evaluation of supports for cell immobilization, viability during storage in Petit Suisse cheese and passage through gastrointestinal transit in vitro. **LWT**, [S.l.], v.127, p.109381, 2020.