

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CAMPUS AVANÇADO DE GOVERNADOR VALADARES
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

Jessica Maria de Abreu Campos

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM
LEITES FERMENTADOS PRODUZIDOS COM ADIÇÃO DE
SPIRULINA PLATENSIS.**

Governador Valadares

2023

Jessica Maria de Abreu Campos

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM
LEITES FERMENTADOS PRODUZIDOS COM ADIÇÃO DE
SPIRULINA PLATENSIS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado,
em formato de artigo, ao Curso de Graduação
em Farmácia da Universidade Federal de Juiz
de Fora/MG, como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Profa. Dra. Priscila Lima Sequetto

Governador Valadares

2023

Jessica Maria de Abreu Campos

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM
LEITES FERMENTADOS PRODUZIDOS COM ADIÇÃO DE
SPIRULINA PLATENSIS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado,
em formato de artigo, ao Curso de Graduação
em Farmácia da Universidade Federal de Juiz
de Fora/MG, como requisito parcial para a
obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 19 de maio de 2023.

BANCA
EXAMINADORA

Profa. Dra. Priscila Lima Sequetto (Orientador)
Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares

Profa. Dra. Monique Ellen Torres da Silva
Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares

Profa. Dra. Ângela Giovana Batista
Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS EM LEITES FERMENTADOS PRODUZIDOS COM ADIÇÃO DE *SPIRULINA PLATENSIS*.

Resumo:

A *Spirulina platensis* é uma microalga que tem sido utilizada na produção de alguns alimentos, como os leites fermentados, com o objetivo de promover aumento da atividade probiótica.

O objetivo principal deste estudo é avaliar o crescimento microbiológico em leites fermentados produzidos com adição de Spirulina e compreender como essa adição pode influenciar na capacidade nutracêutica desses alimentos. Para tanto, foi realizada a avaliação do crescimento de *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Saccharomyces boulardii*, adicionados nas amostras de leite fermentado produzido com concentrações variadas de *S. platensis* e medição do pH nos dias 0, 1, 7 e 14 de armazenamento. A adição de *S. platensis* na concentração de 1% e 2% no leite fermentado aumentou o crescimento dos microrganismos em comparação com o controle quando comparadas às contagens realizadas 14 dias após a fermentação. As amostras contendo a *S. platensis*, a partir do primeiro dia de fermentação, apresentaram um pH menor em comparação às amostras de controle, demonstrando que a microalga de aumentou a acidez de leite fermentado. A *S. platensis* apresentou potencial para aumentar o crescimento microbiológico e melhorar as características físico-químicas do leite fermentado, entretanto, os resultados encontrados sugerem a necessidade de estudos adicionais para determinar seu impacto na saúde humana.

Palavras chave: Probiótico, leite fermentado, alimento funcional, viabilidade, microalga, *Spirulina platensis*.

Abstract

Spirulina platensis is a microalgae that has been used in the production of some foods, such as fermented milk, with the aim of promoting increased probiotic activity.

The main objective of this study is to evaluate the microbiological growth in fermented milk produced with the addition of *Spirulina* and to understand how this addition can influence the nutraceutical capacity of these foods. For this purpose, the growth of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* and *Saccharomyces boulardii* was evaluated, added to samples of fermented milk produced with varying concentrations of *S. platensis* and pH measurement on days 0, 1, 7 and 14 of storage. The addition of *S. platensis* at a concentration of 1% and 2% in the fermented milk increased the growth of microorganisms compared to the control when compared to the counts performed 14 days after fermentation. Samples containing *S. platensis*, from the first day of fermentation, showed a lower pH compared to control samples, demonstrating that the microalgae increased the acidity of fermented milk. *S. platensis* showed the potential to increase microbiological growth and improve the physicochemical characteristics of fermented milk, however, the results found suggest the need for further studies to determine its impact on human health.

Keywords: Probiotic, fermented milk, functional food, viability, microalgae, *Spirulina platensis*.

1. Introdução

A *Spirulina* vem da classe das cianobactérias filamentosas (*Cyanophyta* ou algas verdes azuladas), também conhecidas como microalgas. Além de ser uma fonte de

proteína, a presença de vários componentes bioativos nas microalgas proporciona um benefício adicional à saúde (Koyande et al., 2019).

O papel dos alimentos é de fundamental importância para uma boa qualidade de vida. A função inicial dos alimentos como fonte de energia e crescimento vem se transformando num perfil mais biológico, por meio de estudos da ação dos componentes presentes nos mesmos (Albuquerque et al., 2021).

A incorporação de espécies de microalgas está sendo amplamente utilizada na indústria, devido ao seu alto conteúdo proteico e valor nutricional, com destaque para as espécies dos gêneros *Chlorella* e *Spirulina* (Koyande et al., 2019). Além disso, alguns compostos presentes na microalga, como a ficocianina, demonstram ter um potencial anticâncer, antidiabético e ação anti-inflamatória. (Prabakaran et al, 2020).

Alimentos probióticos são alimentos funcionais que contêm microrganismos vivos, que quando ingeridos em determinado número apresentam efeito benéfico sobre a saúde e bem-estar do hospedeiro. (Hill et al.,2014)

Uma alegação de propriedade funcional é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano. (Brasil, 2011). Dentre os alimentos mais conhecidos que contêm probióticos estão os alimentos de origem láctea, como iogurte e leite fermentado. Leites Fermentados são produtos adicionados ou não de outras substâncias alimentícias, obtidos pela diminuição do pH do leite e coagulação devido a fermentação láctica que ocorre mediante ação de microrganismos específicos. (Brasil, 2007)

Pela legislação brasileira são considerados alimentos probióticos aqueles que apresentarem em sua composição concentrações mínimas de 10^8 e 10^9 UFC de microrganismos probióticos por porção do produto” (Brasil, 2011). Os gêneros mais

utilizados de culturas de probióticos são os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, provenientes do intestino humano ou animal. As bifidobactérias são bacilos gram-positivos não formadores de esporos, desprovidos de flagelos e anaeróbios.

As principais espécies de bifidobactérias associadas às atividades probióticas são: *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis* e *Bifidobacterium lactis*. Podem apresentar formas variadas que incluem bacilos curtos e curvados e bacilos bifurcados, que crescem em meios com pH de 4,5-8,5. As bifidobactérias têm efeitos benéficos no sistema digestivo, no sistema imunológico e no sistema nervoso do hospedeiro (Bao-Lin et al., 2022). Os lactobacilos são bacilos gram positivos, incapazes de formar esporos, desprovidos de flagelos, aero tolerantes ou mesmo anaeróbios. Eles desempenham papéis importantes na proteção e segurança dos produtos lácteos por meio da secreção de agentes antimicrobianos, por exemplo, ácido lático, diacetil, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas (Fesseha., 2019).

Apesar das leveduras não serem tão conhecidas pelas suas capacidades probióticas, a *Saccharomyces boulardii*, é amplamente utilizada em medicamentos probióticos, principalmente no tratamento de infecções intestinais. (Binxin Cui et al., 2022). Seus mecanismos gerais de ação probiótica em doenças gastrointestinais incluem: regulação imune, produção de substâncias antimicrobianas, eliminação competitiva de patógenos, manutenção da integridade da barreira intestinal, efeito trófico intestinal e potência antioxidante (Binxin Cui et al., 2022).

Segundo o estudo de Çelekli, 2019, a adição de *Spirulina* pode ser usada para melhorar a viabilidade de bactérias benéficas em iogurte. A fermentação geralmente quebra os polímeros em micromoléculas através do metabolismo microbiano e produção de enzimas, promovendo a disponibilidade de nutrientes e o valor funcional.

Porém é importante avaliar o efeito da adição de *Spirulina platensis* com o passar do tempo de fermentação e o tempo de vida de prateleira de um leite fermentado. A

interação das microalgas com as propriedades intrínsecas ou extrínsecas dos alimentos, como pH, gordura, proteína, teor de água e concentração de oxigênio, e sua preservação, ainda precisa de uma elucidação mais profunda. (Camacho et al., 2019).

O objetivo deste estudo foi avaliar a adição de *S. platensis* em leites fermentados preparados a partir de culturas de bactérias (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* NH 0-19) e levedura (*Saccharomyces boulardii*-17), como agente potencializador das capacidades probióticas e nutritivas.

2. Materiais e Métodos

2.1 Produção das amostras de leite fermentado:

O processo de fabricação do leite fermentado foi feito seguindo a técnica do estudo de Çelekli, 2019. O leite integral passou por um processo de pasteurização a 90°C por 15 minutos na autoclave, e em seguida passou por um processo de resfriamento até a temperatura de 43°C que foi medida com o auxílio de um termômetro digital infravermelho calibrado. Depois do resfriamento foi adicionado o fermento (YR03) para dar início ao processo de fermentação, as amostras de leite fermentado foram acondicionadas em volumes de 500 mL em frascos de vidro hermético previamente higienizado.

2.2 Inoculação de microrganismos e quantificação microbiológica:

Para inoculação das culturas microbianas isoladas, foram adquiridas cápsulas em drogaria dos suplementos probióticos Prolive (*Lactobacillus acidophilus* LA 14) da indústria farmacêutica Aché, ProHN (*Bifidobacterium lactis* HN019) da indústria farmacêutica Aché e Floratil (*Saccharomyces boulardii* CNCM I-745) da indústria

farmacêutica FQM e a *S. platensis* foi obtida em comércio local da cidade de Governador Valadares em Minas Gerais, Brasil.

Foi realizada a ativação dos microrganismos isolados nas cápsulas. A ativação foi adaptada com base na metodologia Schmitt (2014). O conteúdo de uma cápsula de cada microrganismo foi transferido individualmente para um béquer de xxxxxxxxxx mL contendo xxxxxxxxxxxxxx meio. Em seguida foi feita uma homogeneização e incubação pelo tempo de 24h em jarra de anaerobiose a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$. Depois da ativação dos microrganismos, eles foram inoculados nas amostras de leite fermentado.

Foram feitos cálculos da quantidade de microalga a 1% e 2% a ser adicionada para o volume de leite fermentado de 500 ml, depois a microalga foi pesada em balança analítica e por fim foi adicionada a *S. Platensis* no leite fermentado.

Todas as amostras foram nomeadas para ajudar na diferenciação. As amostras com *Lactobacillus acidophilus*, foram nomeadas de Lac, seguindo esse conceito as amostras de *Bifidobacterium lactis*, foram nomeadas de Bif e as amostras de *Saccharomyces boulardii*, foram nomeadas de Sac. Após a identificação da espécie foi especificado a quantidade de microalga adicionada de 1% e 2%, na identificação das amostras. As placas de Petri receberam a mesma nomenclatura das amostras de leite.

Após o tempo de fermentação foram separadas amostras do leite para diluição em diferentes concentrações em água peptonada estéril 0,1%, no processo de diluição seriada, a fim de se chegar à diluição escolhida para quantificação microbiológica com base na metodologia de Rabêlo et al, 2022. Os microrganismos foram inoculados em placas de Petri através da técnica de Spread Plate, foi inoculado 0,1 μL por Spread Plate na diluição em placas contendo Ágar De Man, Rogosa e Sharpe (MRS), em duplicata. O meio MRS foi escolhido por ser um meio seletivo, com o intuito de evitar o crescimento de outros microrganismos nas placas. Em seguida as placas de Petri foram

colocadas em ambiente anaeróbico em uma jarra de anaerobiose. As placas foram incubadas por 48h, à temperatura de 37°C.

A contagem de microrganismos foi feita de forma manual, com o auxílio de um contador de colônias, a fim de se obter o resultado da concentração em que as bactérias se encontravam no inóculo, sendo o resultado uma média das duplicatas, expresso em UFC mL⁻¹. No dia 0 a contagem de microrganismos foi realizada na diluição 10⁻³, e nos dias subsequentes na diluição 10⁻⁶. Isto porque, após as 24 horas de fermentação a quantidade de microrganismos aumentou significativamente, tornando inviável a quantificação de microrganismos de forma manual na diluição de 10⁻³, e a próxima diluição que permitia a contagem ser feita manualmente era a 10⁻⁶.

A contagem foi feita nos intervalos de tempo 0, 1, 7 e 14 dias após a fermentação do leite adicionado com os microrganismos e a microalga nas concentrações de 0%, 1% e a 2%.

2.3 Avaliação do pH do leite fermentado

A medida do pH dos leites fermentados adicionados de microalga foi feita em triplicata com o auxílio de um pH-metro digital, seguindo o trabalho de Carvalho et al, 2015. O volume de 50 mL foi retirado das amostras com o auxílio de uma proveta e em seguida foi adicionado a um Becker de vidro. O aparelho utilizado foi previamente calibrado antes de cada análise com soluções tampão de pH 4, 7 e 10, segundo normas do Instituto Adolfo Lutz. O eletrodo de vidro do aparelho foi inserido até o tempo de estabilização necessário de aproximadamente 3 minutos para garantir a estabilização do resultado apresentado. As análises foram realizadas após os dias 0, 1, 7 e 14 de fermentação. Para a exibição dos resultados foi feito uma média aritmética das triplicatas de cada amostra.

3. Resultados e Discussão

A tabela 1 apresenta os valores médios (UFC/mL) das contagens de microrganismos do leite fermentado com adição das concentrações de *Spirulina platensis*.

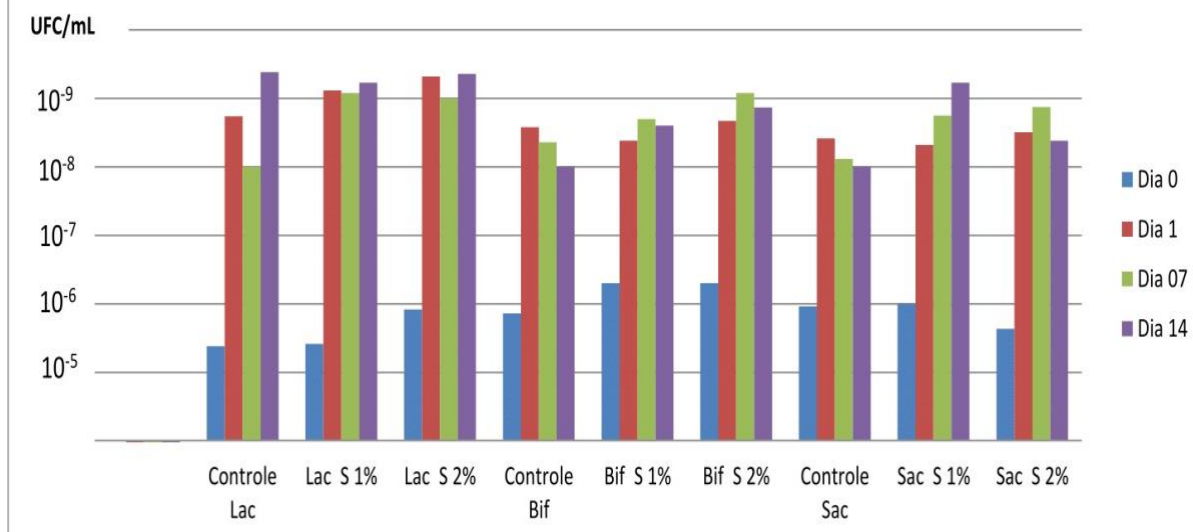
Tabela 1: Quantificação dos microrganismos *Lactobacillus acidophilus* (Lac), *Bifidobacterium lactis* (Bif) e *Saccharomyces boulardii* (Sac), nas amostras de leite fermentado controle e com adição de 1% e 2% de *Spirulina platensis* (S), através da técnica de Spread Plate.

Formulações	Dia 0	Dia 1	Dia 7	Dia 14
Controle Lac	2,4 x 10 ⁵ UFC/mL	5,5 x 10 ⁸ UFC/mL	1,0x 10 ⁸ UFC/mL	2,4 x 10 ⁹ UFC/mL
Lac + S 1%	2,6 x 10 ⁵ UFC/mL	1,3 x 10 ⁹ UFC/mL	1,2x 10 ⁹ UFC/mL	1,7 x 10 ⁹ UFC/mL
Lac + S 2%	8,2 x 10 ⁵ UFC/mL	2,1 x 10 ⁹ UFC/mL	1,0x 10 ⁹ UFC/mL	2,3 10 ⁹ UFC/mL
Controle Bif	7,2 x 10 ⁵ UFC/mL	3,8 x 10 ⁸ UFC/mL	2,3x 10 ⁸ UFC/mL	1,0 x 10 ⁸ UFC/mL
Bif + S 1%	2,0 x 10 ⁶ UFC/mL	2,4 x 10 ⁸ UFC/mL	5,0x 10 ⁸ UFC/mL	4,0 x 10 ⁸ UFC/mL
Bif + S 2%	2,0 x 10 ⁶ UFC/mL	4,7 x 10 ⁸ UFC/mL	1,2x 10 ⁹ UFC/mL	7,4 x 10 ⁸ UFC/mL
Controle Sac	9,5 x 10 ⁵ UFC/mL	2,6 x 10 ⁸ UFC/mL	1,3x 10 ⁸ UFC/mL	1,0 x 10 ⁸ UFC/mL
Sac + S 1%	1,0 x 10 ⁶ UFC/mL	2,1 x 10 ⁸ UFC/mL	5,6x 10 ⁸ UFC/mL	1,7 x 10 ⁹ UFC/mL
Sac + S 2%	4,3 x 10 ⁵ UFC/mL	3,2 x 10 ⁸ UFC/mL	7,5x 10 ⁸ UFC/mL	2,4 x 10 ⁸ UFC/mL

Antes da fermentação a quantidade de microrganismos presentes ainda não se caracterizava próxima a de um leite fermentado, visto que a legislação brasileira preconiza que a contagem total de bactérias lácticas viáveis deve ser no mínimo de 10⁶ UFC/g (Brasil, 2007), no produto final, para o(s) cultivo(s) láctico(s) específico(s) empregado(s), durante todo o prazo de validade (Brasil, 2007).

A quantificação do crescimento das três espécies de microrganismos probióticos em relação à porcentagem de microalga adicionada está representada pelo gráfico 1.

Gráfico 1- Quantificação dos microrganismos *Lactobacillus acidophilus* (Lac), *Bifidobacterium lactis* (Bif) e *Saccharomyces boulardii* (Sac), nas amostras de leite fermentado controle e com adição de 1% e 2% de *Spirulina platensis* (S), através da técnica de Spread Plate.



A adição de *S. platensis* a, 1% e 2% no leite fermentado aumentou o crescimento dos microrganismos em comparação com o controle principalmente quando comparadas às contagens realizadas 14 dias após a fermentação. Os resultados de um estudo com a mesma temática, mostraram que a adição de *Spirulina platensis* a um leite fermentado comercial chamado Ayran, resultou em uma mudança no pH do alimento, tornando-o mais ácido. Além disso, também aumentou significativamente a quantidade de bactérias probióticas no Ayran. (Çelekli, 2019)

O crescimento observado para os microrganismos *Saccharomyces* e *Lactobacillus* pela adição de 2% de *S. platensis* no 14º dia de armazenamento se assemelha a resultado encontrado em um estudo onde a utilização de 0,5 % de *S. platensis* tornou lento o processo fermentativo do leite com a cultura probiótica *Lactobacillus acidophilus* (Folle, 2009).

Para que um alimento seja considerado probiótico, recomenda-se que ele contenha no mínimo de 10^8 a 10^9 UFC/g de produto, sendo as bactérias do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* as mais amplamente utilizadas para o consumo humano

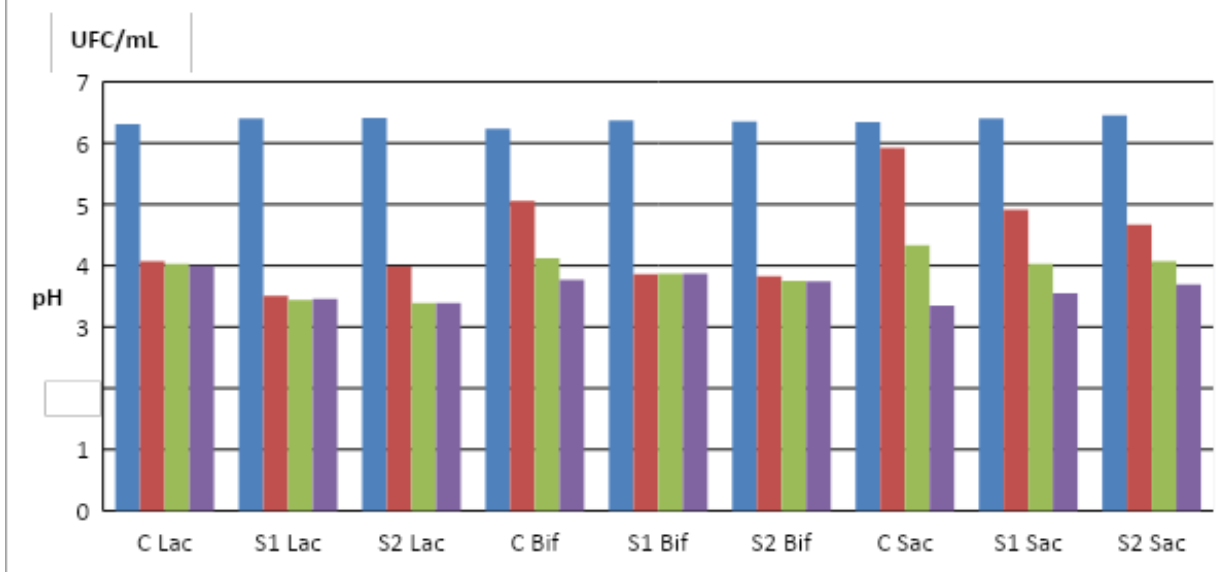
(Tripathi & Giri, 2014). Todas as amostras de leite fermentado com *Lactobacillus acidophilus* e adição de 1% e 2% de Spirulina apresentaram e mantiveram a quantidade necessária de microrganismos que contém um alimento probiótico. Realizando uma análise do crescimento de cada microrganismo utilizado separadamente, o *Lactobacillus acidophilus* apresentou a maior contagem de UFC/mL, este microrganismo já é comumente utilizado nesse tipo de alimento, e esse resultado é similar a um estudo em que a fermentação do leite com o microrganismo *L. acidophilus* apresentou-se superior à fermentação com outras culturas lácticas tradicionais utilizadas (Folle, 2009).

A avaliação das colônias de *Bifidobacterium lactis* nas amostras de leite fermentado após as primeiras 24 horas de fermentação apresentou contagem mínima de microrganismos que deve conter em um alimento probiótico. As adições de 1% de microalga demonstraram um pequeno aumento na contagem de microrganismos e com adição de 2% de microalga, foi observado um aumento mais expressivo na contagem destes microrganismos.

As amostras de leite fermentado com a levedura *Sacharomyces boulardii* após as 24 horas de fermentação, também apresentaram o mínimo de microrganismos que é necessário para se classificar um alimento como probiótico. A adição de microalga a 1% aumentou significativamente o número de microrganismos nos dias 7 e 14 de análise. As amostras com 2% de microalga, também apresentaram uma maior contagem de colônias em comparação às amostras controle, nos dias 1, 7 e 14.

Para determinar a acidez nas amostras de leite fermentado, foram feitos testes de pH nos dias 0, 1, 7 e 14 do experimento, com o auxílio de um pHmetro. Os resultados estão listados no gráfico 2.

Gráfico 2 - Determinação de pH nas amostras controle de leite fermentado com *Lactobacillus acidophilus* (Lac) , *Bifidobacterium lactis* (Bif) e *Saccharomyces boulardii* (Sac) e amostras com 1% e 2% de *Spirulina platensis*.



No dia 1, os valores de pH encontrados variaram entre 3,51 e 5,92 indicando a ocorrência da fermentação, porém com certa discrepância em comparação a leites fermentados comerciais com médias de pH entre 3,0 e 4,0 (Carvalho et al ,2015), mas apresentando valores próximos aos de um estudo que realizou a incorporação de *S. platensis* em um produto lácteo e o pH variou de 3,43 a 5,55 (Sengupta et al, 2017).

No dia 7 do experimento os leites fermentados apresentaram menores valores de pH em relação ao dia 1. As amostras contendo *Lactobacillus* com concentrações de spirulina de 1% e 2%, estavam com um pH baixo. A diminuição exacerbada do pH para as amostras de leite fermentado com *Lactobacillus* no dia 14 pode ter sido causada pela quantidade de microalga adicionada nas amostras, acarretando uma superacidificação, processo já descrito na literatura, em que a adição de *S. platensis* em pó favoreceu o crescimento de bactérias lácticas (Mocanu et al.,2013).

A partir do dia 1, as amostras contendo a *S. platensis*, obtiveram um pH menor em comparação às amostras controle, comprovando a capacidade da microalga de aumentar a acidez de produtos lácteos. Resultados semelhantes aos observados na

pesquisa de Kavimandan (2015) onde à medida que a concentração da microalga aumentava, o valor do pH diminuía e o controle permanecia com o valor de pH mais alto.

As dosagens escolhidas de 1% e 2% obtiveram resultados positivos, da mesma forma como apontado por um trabalho em que foram adicionados 0,5 % da mesma, com influência benéfica sobre a sobrevivência de bactérias lácticas (Perez et al, 2007). É importante levar em conta as diferenças na metodologia, na dosagem e na proporção de *S. platensis* utilizadas nos estudos ao avaliar seus resultados. Além disso, é considerado que a viabilidade de probióticos na matriz de alimentos depende de muitos fatores, tais como, pH, temperatura da estocagem, presença de microrganismos competidores e inibidores. (Oliveira et al, 2002)

O pH das amostras controle, que não tiveram adição de microalga, se mantiveram mais elevados em comparação aos valores apresentados pelos leites fermentados contendo a microalga em sua composição. A microalga *S. Platensis*, demonstrou a capacidade de aumentar a acidez do leite, sendo um ótimo aliado na produção de produtos de origem láctea como o leite fermentado e o iogurte, que necessitam de uma faixa de pH específica geralmente ácida, para serem aprovados para comercialização, além disso o meio ácido favoreceu o crescimento de microrganismos pela fermentação do leite, como apresentado pelo trabalho de Çelekli, 2019.

Apesar dos resultados satisfatórios obtidos em algumas das amostras do leite fermentado, são necessários mais estudos para avaliar o crescimento de microrganismos em relação à adição de *Spirulina platensis* para determinar seu impacto na saúde humana.

4. Considerações Finais

A adição de *S. platensis* em diferentes concentrações nas amostras de leite fermentado, obteve resultados positivos no crescimento dos microrganismos *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* e *Saccharomyces boulardii*, como também a ocorrência da diminuição do pH do leite fermentado ao longo dos dias de armazenamento refrigerado. Assim, o presente estudo demonstrou ser promissora a incorporação de *S. Platensis* em bebidas lácteas fermentadas, com a finalidade de criar alimentos funcionais, visto que a mesma pode contribuir na diminuição do pH, favorecer a fermentação e o crescimento de microrganismos no leite fermentado. Contudo, estudos adicionais são necessários para que o leite fermentado produzido com adição de *S. Platensis* possa ser classificado como um alimento funcional, como determinação da viabilidade microbiológica, características físico-químicas e os fatores que são determinantes para classificação de alimentos como probióticos.

Referências

Albuquerque, A. P., Rodrigues, T. J. A., Cavalcante Neto, J. L., & Rocha, A. P. T.. (2021). Utilização de polpa de frutas em pó carregadoras de probióticos como alimento funcional: aspectos gerais e perspectivas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 24, e2019310. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.31019>

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. (2008, maio, 06). Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Retrieved from: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-de-pr>

odutos-origem-vegetal/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedad
e-funcional-aprovadas_anvisa.pdf

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2007, Outubro 23).
Regulamenta a Instrução Normativa Nº 46, SARC nº 23 De Outubro De 2007 que aprova
o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Diário Oficial
[da] República Federativa do Brasil, Brasília.

Camacho F, Macedo A, Malcata F. (2019). Aplicações Industriais Potenciais e
Comercialização de Microalgas nas Indústrias Funcionais de Alimentos e Rações: Uma
Breve Revisão. *Drogas Marinhas*; 17(6):312. <https://doi.org/10.3390/md17060312>
Albuquerque, A. P., Rodrigues, T. J. A.,

Carvalho, P. T. D.. (2015). Determinação De Acidez E Ph Em Diferentes Marcas De Leites
Fermentados. Trabalho apresentado em Anais do Simpósio Latino Americano de Ciências
de Alimentos. Disponível em:
[https://proceedings.science/slaca/slaca-2015/papers/determinacao-de-acidez-e-ph-em-di
ferentes-marcas-de-leites-fermentados?lang=pt-br](https://proceedings.science/slaca/slaca-2015/papers/determinacao-de-acidez-e-ph-em-diferentes-marcas-de-leites-fermentados?lang=pt-br)

Çelekli, A., Alslibi, Z.A., & Bozkurt, H. (2019). Influence of incorporated *Spirulina platensis*
on the growth of microflora and physicochemical properties of ayran as a functional food.
Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts, 44, 101710. DOI:
10.1016/j.algal.2019.101710.

Cui, B., Lin, L., Wang, B., Liu, W., & Sun, C. (2022). Therapeutic potential of
Saccharomyces boulardii in liver diseases: from passive bystander to protective

<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.106022>

Fesseha, H. (2019). Probiotics and Its Potential Role in Poultry Production: A Review. *Veterinary Medicine*, 4(2), 69–76. <https://doi.org/10.17140/vmoj-4-138>

He, B. L., Xiong, Y., Hu, T. G., Zong, M. H., & Wu, H. (2022). Bifidobacterium spp. as functional foods: A review of current status, challenges, and strategies. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1–18. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2054934>

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-514. PMID:24912386. <http://dx.doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglia -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020

Kavimandan, A. (2015). Efeito da *Spirulina platensis* em pó no soro de leite fermentado com estreptococos. *International Journal of Dairy Science*, 10: 77-85. <https://scialert.net/abstract/?doi=ijds.2015.77.85>

Koyande, A. K., Chew, K. W., Rambabu, K., Show, P. L., Chu, D., & Show, P. L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.001>

Mocanu, G.D., Botez, E., Nistor, O.V. Andronoiu D.G., Vlăsceanu, G. (2013). Influence of *Spirulina platensis* biomass over some starter culture of lactic bacteria. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19(4), 474–479. https://www.researchgate.net/publication/271135301_Influence_of_Spirulina_platensis_biomass_over_some_starter_culture_of_lactic_bacteria

Morsy, O.M., Sharoba, A.M., EL-Desouky, A.I., Bahlol, H.E.M. & Abd El Mawla, E.M. (2014). Production and evaluation of some extruded food products using spirulina algae. (2014). *Ḥawliyyaāt Al-'ulūm Al-zirā'iyyaī Bi-muštuhur*, 52(4), 495–510. <https://doi.org/10.21608/assjm.2014.111899>

Oliveira, M. N., Sivieri, K., Alegro, J. H. A., & Venema, K. (2002). Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. *RBCF. Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas*, 38(1), 1–21. <https://doi.org/10.1590/s1516-93322002000100002>

Perez, K. J., Guarienti, C., Bertolin, T. E., Costa, J. a. V., & Colla, L. M. (2007). Viabilidade de bactérias lácticas em iogurte adicionado de biomassa da microalga *Spirulina platensis* durante o armazenamento refrigerado. *Alimentos E Nutrição*, 18(1), 77–82. <http://repositorio.furg.br/handle/1/4551>

Prabakaran, G., Sampathkumar, P., Kavisri, M., & Moovendhan, M. (2020). Extraction and characterization of phycocyanin from *Spirulina platensis* and evaluation of its

anticancer, antidiabetic and antiinflammatory effect. International journal of biological macromolecules, 153, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.009>

Rabêlo, C. A. C., Patricio, M. F. B. P., Naves, G. L., Rodrigues, B.S.V, & Santos, H. C. A. S. (2022). Quantificação Da Microbiota Presente Em Produtos Lácteos Industrializados Comercializados Como Probióticos. Recima21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218, 3(5), e351418. <https://doi.org/10.47820/recima21.v3i5.1418>

Sengupta, S., & Bhowal, J. (2017). Optimization Of Ingredient And Processing Parameter For The Production Of Spirulina Platensis Incorporated Soy Yogurt Using Response Surface Methodology. The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 6(4), 1081–1085. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.4.1081-1085>

Shangpliang, H. N. J., Rai, R., Keisam, S., Jeyaram, K., & Tamang, J. P. (2018). Bacterial community in naturally fermented milk products of Arunachal Pradesh and Sikkim of India analysed by high-throughput amplicon sequencing. Scientific Reports, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19524-6>

Schmitt, J. A. D., Fariña, L. O., Simões, M. R., & Kottwitz, L. B. M. (2018). Evaluation of the Probiotic Profile of Lactobacillus Acidophilus Used in Pharmaceutical and Food Applications. Acta Scientiarum. Health Sciences (Online), 40, 1-9. <https://doi.org/10.4025/actascihealthsci.v40i1.36664>.

Tamires, Z., Folle, E., Maccari, M., Armigliatto, T., França, C., Reinehr, M., & Colla. (2009). Análise Descritiva Quantitativa De Iogurte Probiótico Adicionado De Microalga *Spirulina platensis*. Retrieved May 4, 2023, from <https://www.upf.br/uploads/Conteudo/simposio-sial-anais/2009/todos/68.pdf>

Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9, 225-241.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>