

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO COM POTENCIAL PROBIÓTICO POR SPRAY DRYER

IRIS REGINA PIMENTEL DE LUNA

Recife

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

IRIS REGINA PIMENTEL DE LUNA

DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO COM POTENCIAL PROBIÓTICO POR SPRAY DRYER

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do Grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

ORIENTADORA: Celiane Gomes Maia da Silva

CO-ORIENTADORA: Erilane de Castro Lima Machado

Recife 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L961d Luna, Iris Regina Pimentel de.

Desenvolvimento de requeijão com potencial probiótico por spray Dryer / Iris Regina Pimentel de Luna. – 2017. 94 f. : il.

Orientadora: Celiane Gomes Maia da Silva. Coorientadora: Erilane de Castro Lima Machado. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, BR-PE, 2017.

Inclui referências e anexos.

- 1. Lactobacillus rhamnosus 2. Alimentos funcionais 3. Atomização
- 4. Maltodextrina; 5. Gelatina I., Silva, Celiane Gomes Maia da, orient. II. Machado, Erilane de Castro Lima, coorient. III. Título

CDD 664

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO COM POTENCIAL PROBIÓTICO POR SPRAY DRYER

Por (Iris Regina Pimentel de Luna)

Esta dissertação foi julgada para obtenção do titulo de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em 15/08/17 pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimento em sua forma final.

Banca Examinadora:
 Prof ^a Dr ^a Samara Alvachian Cardoso Andrade
Universidade Federal de Pernambuco
 Prof ^a Dr ^a Thatiana Montenegro Stamford Arnaud
Universidade Federal de Pernambuco
Dra Amanda Rafaela Carneiro de Mesquita
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedico este trabalho a minha mãe, pelo amor incondicional, apoio e incentivo constantes, e ao meu filho que tanto amo e que desde em meu ventre me acompanha nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria Teresinha Bezerra Pimentel, a qual não mediu esforços para que eu chegasse até aqui. Te agradeço mãe, por todo incentivo, apoio, conselhos, paciência, por sua parceria, amizade e amor incondicional. Você é meu norte. Te amo.

Ao meu filho, Matheus Pimentel, minha vida! Que foi concebido no início desta caminhada. Foram momentos difíceis, mas conseguimos!!!

À toda minha família pelo carinho, incentivo e compreensão nos momentos de minha ausência e estresse. Em especial ao meu irmão Marcelo Luna, que cuidou do meu pequeno para que eu pudesse assistir as aulas do mestrado.

À minha companheira de laboratório, Michelle Barreto, a nêga bêbe! Meu muito obrigada por todos os esclarecimentos, sugestões, apoio, incentivo, confiança e amizade. Passamos por muita coisa juntas, né nega?! Longas caminhas sob sol, sob chuva, sem hora para almoçar, almoçando coxinha de batata (santa coxinha), dias e mais dias juntas parecendo irmãs siamesas, a ponto de me verem e sempre preguntarem: Cadê Michelle? E vice-versa. Foram dias repetindo mil vezes os mesmos ensaios, ouvindo sempre as mesmas músicas, vou até gravar um CD com as melhores músicas para ti. Chora não bêbe, é brincadeira!!!!

À Amanda Mesquita, técnica do laboratório do DTR, por todo apoio, sugestões, incentivo, paciência e, sobretudo, pela amizade construída ao longo desta jornada. Obrigada por ouvir meus dilemas, me aconselhar e sempre acreditar no amor. És uma pessoa iluminada, tenha certeza disso. Fico muito feliz por tê-la em minha vida.

À Hadassa Macedo, por todo apoio emocional, amizade, por sempre tocer por minha felicidade, por sempre lembrar do meu filhote, por todas as mensagens de carinho, de incentivo e preocupação.

À Elizandra Marcolino, por todo carinho, confiança, troca de confidências e amizade ao longo desta saga que foi o mestrado. Compartilhamos das mesmas tristezas e preocupações, mas juntas chegamos ao final.

Aos amigos de curso, Glaucia, Yasodhara, Marcella, Eron, Rodrigo, Saulo, Marcony e Nathália, pelo incentivo, brincadeiras, estudos e por todos os momentos vividos juntos.

À prof^a Dra Tânia Montenegro Stamford, que sempre incentivou minha formação científica e sempre me recebeu com carinho e ternura.

À técnica do laboratório Jaqueline, pela disponibilidade, apoio nas análises, paciência e positivismo.

À Rosy e Priscila por sempre elogiarem o aroma do requeijão em pó e acreditarem que ele faria sucesso.

À Lídia Ferreira por sua super, hiper, mega ajuda na análise sensorial. Sem você, provavelmente, eu não teria tido êxito.

Ao prof. Inaldo Galdino de Menezes, por gentilmente disponibilizar as instalações do DTR e ainda me deixar tagarelar no laboratório.

A minha orientadora professora Dra. Celiane Gomes e co-orientadora professora Dra. Erilane Machado pelas trocas de idéias e confiança para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dra Amanda Mesquita e às professoras Dra. Samara Alvachian Cardoso Andrade e Dra. Thatiana Montenegro Stamford Arnaud, por aceitarem participar da banca examinadora e por avaliarem o trabalho contribuindo para melhorá-lo.

Peço mil desculpas se esqueci de mencionar alguém. Mas, quem convive comigo sabe o quão sou grata, de todo o meu coração, por toda a ajuda que me foi dada para que pudesse concluir este trabalho.

"Por maior que seja a dificuldade, jamais desanime. O nosso pior momento na vida é sempre o momento de melhorar." Chico Xavier

RESUMO

A demanda dos consumidores por uma alimentação saudável e equilibrada e o interesse pelos produtos denominados funcionais é cada vez mais crescente. Dentre os alimentos funcionais destacam-se os que contem microrganismos probióticos, como os do gênero Lactobacillus. A espécie Lactobacillus rhamnosus em estudos mostrou maior tolerância às condições do trato gastrointestinal quando comparado com outros microrganismos probióticos e melhor sobrevivência, quando adicionado em alimentos funcionais. A preservação das culturas probióticas tanto nos alimentos, e uma vez consumidas, constitui um desafio tecnológico. Uma técnica que vem sendo amplamente utilizada para melhorar a estabilidade destes microrganismos, protegendo-os de ambientes desfavoráveis, é a encapsulação. Diante do exposto, objetivou-se com esta pesquisa desenvolver um requeijão probiótico em pó por processamento tecnológico envolvendo secagem por spray dryer. Foi realizado um planejamento fatorial 2³ completo, com 8 pontos fatoriais (níveis + 1) e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 11 ensaios. Durante o processamento, verificou-se a influência da temperatura do ar de secagem (90 a 140 °C), vazão mássica da mistura (0,40 a 0,8 L/h) e concentração de gelatina (0,5 a 1%) sobre a atividade de água, umidade, higroscopicidade e viabilidade celular. Além da gelatina, foi utilizado como agente encapsulante a maltodextrina 10 DE (10%). O produto obtido pela condição de processamento que melhor favoreceu os parâmetros analisados foi submetido a análises microbiológicas de qualidade (coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva, Salmonella spp), sensoriais (teste triangular, aceitação e intenção de compra) e análises físico-químicas (proteínas, lipídeos, cinzas, carboidratos, pH, acidez titulável, cor, densidade aparente e solubilidade). O ensaio 5 (90 °C, 0,4 L/h e 1%) proporcionou atividade de água (0,12), umidade (2,35%) e higroscopicidade (9,83 g.100g⁻¹) baixas e uma contagem de células viáveis exigida pela legislação brasileira (9,18 log UFC/g). O requeijão em pó apresentou um índice de aceitabilidade superior a 80% e intenção de compra com maiores frequências para "certamente e provavelmente comprariam" o produto (87,78%). Quanto aos resultados das análises físico-químicas, o produto em pó apresentou características satisfatórias. Concluise que a partir dos resultados obtidos o requeijão em pó produzido nas condições experimentais desta pesquisa apresenta-se como uma alternativa promissora para a indústria de alimentos probióticos.

Palavra-chave: *Lactobacillus rhamnosus*; alimentos funcionais; atomização; maltodextrina; gelatina.

ABSTRACT

Consumers' demand for healthy and balanced food and the interest in so-called functional products is increasing as time goes by. Among the functional foods, those containing probiotic microorganisms stand out, such as those of the Lactobacillus kind. The Lactobacillus rhamnosus species has shown greater tolerance to the gastrointestinal tract when in comparison to other probiotic microorganisms and better survival rate when added to functional food. The probiotic culture preservation on food, and as well once eaten, representes a technological challenge. However, the preservation of probiotic cultures both in food, and once consumed, constitutes a technological challenge. One technique that has been widely used to improve the stability of these microorganisms, protecting them from unfavorable environments, is microencapsulation. In view of the above, the objective of this research was to develop a probiotic powdered cream cheese by technological processing involving drying by spray dryer selected under different conditions through a complete 2³ factorial design with 8 factorial points (levels + 1) and 3 central points (Level 0), totaling 11 trials. During the processing, it was verified the influence of drying air temperature (90 to 140 $^{\circ}$ C), mass flow rate (0.40 to 0.8 L/h) and gelatin concentration (0.5 to 1%) on water activity, moisture, hygroscopicity and cell viability. In addition to gelatin, 10 DE maltodextrin (10%) was used as the encapsulating agent. The product obtained by the processing condition that best favored the analyzed parameters was submitted to quality microbiological analyzes (coliforms at 45 °C, coagulase positive staphylococci, Salmonella sp.), sensorial (triangular test, acceptance and purchase intention) and physicochemical analyses (pH, titratable acidity, color, proteins, lipids, ashes, carbohydrates, bulk density and solubility). Test 5 (90 ° C, 0.4 L / h 1%) was the processing condition that provided the lowest water activity (0.12) and humidity (2,35%), In addition to a low hygroscopicity (9,83 g.100g⁻¹) and a cell count of viable cells demanded by brazilian legislation (8.48 log UFC/g). The powdered cream cheese had an acceptability index of more than 80% and the intention of purchase with higher frequencies to "certainly and probably would buy" the product (87.78%). Regarding the results of the physicochemical analyzes, the powdered product presented satisfactory characteristics. It is concluded that from the results obtained that the powdered cream cheese produced in the experimental conditions of this research presents itself as a promising alternative for the probiotic food industry.

Keywords: Lactobacillus rhamnosus; functional foods; atomization; maltodextrin; gelatin.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Aspectos qualitativos dos produtos alimentares probióticos	21
FIGURA 2	Duas principais estruturas de microcápsulas	22
FIGURA 3	Esquema de um sistema de Spray Drying	24

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE	14
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1. Alimentos funcionais	14
3.2. Microrganismos probióticos	15
3.2.1. Probióticos e seus efeitos benéficos	17
3.2.2. Probióticos e sua importância em alimentos	19
3.3. Microencapsulação	22
3.4. Secagem por atomização	23
3.5. Agentes carreadores	25
3.5.1. Maltodextrina	27
3.5.2. Gelatina	27
3.6. Alimentos em pó	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
4. ARTIGO 1 – DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO COM POTENCIAL	
PROBIÓTICO POR SPRAY DRYER	46
RESUMO	46
ABSTRACT	47
4.1 INTRODUÇÃO	48
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	50
4.2.1 Materiais	50
4.2.2 Métodos	50
4.2.2.1 Reativação do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595	50
4.2.2.2 Incorporação do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 no requeijão cremoso	50
4.2.2.3 Obtenção do requeijão em pó	51
4.2.2.4 Planejamento Experimental	51
4.2.2.5 Viabilidade do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595	52
4.2.2.5.1 No requeijão cremoso	52
4.2.2.5.2 No requeijão em pó	53
4.2.2.6 Análises Físico-Químicas requeijão cremoso e em pó	53
4.2.2.6.1 Atividade de Água	54
4.2.2.6.2 pH	54

4.2.2.6.3 Acidez Titulável	54
4.2.2.6.4 Cor	54
4.2.2.6.5 Cinzas, proteínas, lipídeos, carboidratos e umidade	55
4.2.2.7 Caracterização Física	55
4.2.2.7.1 Densidade Aparente (ρa)	55
4.2.2.7.2 Solubilidade	55
4.2.2.7.3 Higroscopicidade	56
4.2.2.8 Reconstituição do pó	56
4.2.2.9 Análise Microbiológica	56
4.2.2.10 Análise Sensorial	56
4.2.2.11 Análise Estatística	58
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
4.3.1 Análise das variáveis de processo do requeijão probiótico em pó	58
4.3.3 Caracterização físico-química e física	68
4.3.2 Análise Sensorial	72
4.3.2.1 Teste Triangular	72
4.3.2.2 Teste de Aceitação e Intenção de compra	72
4.4. CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
ANEXOS	85
Anexo 1 - Parecer do Comitê de Ética	86
Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Ficha de Consentimento da	
Participação da Pessoa como Voluntário(a)	91
Anexo 3 - Ficha para o teste triangular	93
Anexo 4 - Ficha para os testes de aceitação e intenção de compra	94

1. INTRODUÇÃO

A demanda dos consumidores por uma alimentação saudável e equilibrada e o interesse por produtos denominados funcionais é cada vez mais crescente. Associado a este aspecto, verifica-se um elevado consumo de alimentos prebióticos, probióticos e simbióticos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), define alimento com alegação de propriedade funcional e alegação de propriedade de saúde, estabelecendo as diretrizes para a sua utilização, bem como as condições de registro (BRASIL, 2008).

Enquadram-se como alimentos funcionais produtos que contém probióticos, licopenos, ácidos graxos, ômega 3, luteína, fibras alimentares, zeaxantina, beta glucana, dextrina resistente, fruto-oligosacarídeo, goma guar parcialmente hidrolisada, inulina, lactulose, polidextrose, psillium, quitosana, fitoesteróis, manitol, xilitol, sorbitol e proteína de soja (BRASIL, 2008).

Os probióticos, definidos como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro" (FAO / WHO, 2002), tem sido cada vez mais aceitos devido a seus benefícios à saúde (NAJGEBAUER - LEJKO, 2014). Dentre os diversos microrganismos probióticos, os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são os mais empregados em alimentos (RIBEIRO et al., 2014; KOMATSU *et al.*, 2008).

Os alimentos probióticos devem ser seguros e conter os microrganismos probióticos em número suficiente durante o prazo de validade do produto. Portanto, as estirpes probióticas selecionadas devem ser adequadas para a produção industrial em larga escala, com a capacidade de sobreviver e conservarem suas funcionalidades durante as operações de processamento e armazenamento de alimentos (TRIPATHI; GIRI, 2014).

No entanto, durante o armazenamento dos alimentos diferentes fatores podem afetar a viabilidade de bactérias probióticas, tais como as estirpes probióticas utilizadas, o pH, a presença de peróxido de hidrogênio e de oxigênio dissolvido, a forma de tamponamento, temperatura de armazenagem, a natureza dos ingredientes adicionados e matrizes alimentares (COSTA et al., 2013; FONTELES et al., 2011; PEREIRA et al., 2011). Afim de exercer os efeitos benéficos à saúde, o número de céluas viáveis de microrganismos probióticos devem estar situados acima de 10⁶ UFC g⁻¹ no produto para consumo, disponíveis em todo o prazo de sua vida útil (NUALKAEKUL et al., 2012). Portanto, a

preservação das culturas probióticas em produtos durante o armazenamento é de extrema importância.

Neste contexto, a microencapsulação de células probióticas tem sido amplamente estudada como uma técnica para melhorar a estabilidade destes microrganismos protegendos de ambientes desfavoráveis (MACIEL et al., 2014; TRIPATHI; GIRI, 2014; HEIDEBACH; FORST; KULOZIK, 2010). A microencapsulação também tem efeito potencial na redução da acidificação pós fermentação e de possíveis efeitos sensoriais negativos de produtos alimentares probióticos (SOHAIL et al., 2012).

Entre as tecnologias de microencapsulação frequentemente usadas, a secagem por atomização é a mais efetiva para a produção industrial em larga escala por ser um processo contínuo, rápido, custo relativamente baixo e alta reprodutibilidade (BURGAIN et al., 2011; DE VOS et al., 2010). É apontada como uma técnica que melhora a sobrevivência dos probióticos durante o processamento e armazenamento dos alimentos, além de conferir proteção dos probióticos contra subsequente exposição às duras condições do trato gastrointestinal (KENT; DOHERTY, 2014), pois este processo confere um revestimento às células bacterianas protegendo-as do meio exterior.

Dentre os produtos lácteos, o queijo fornece uma alternativa importante, face aos leites fermentados e aos iogurtes, devido as suas características tecnológicas, que favorecem a aplicação de microrganismos probióticos em sua formulação. A matriz densa, a alta capacidade de tamponamento sólido, o teor de gordura relativamente alto, que pode oferecer uma proteção adicional à bactéria probiótica no estômago, ajudam a manter a viabilidade dos probióticos não só ao longo da vida de prateleira do produto, mas também durante a sua passagem pelo trato gastrointestinal após consumo (GREGOR, 2015; SHOBHARANI; AGRAWAL, 2011; OUWEHAND; IBRAHIM; FORSSTEN, 2010; CRUZ et al., 2009; SANCHEZ et al., 2009; GRATTEPANCHE et al., 2008).

A incorporação de microrganismos probióticos em diferentes produtos lácteos tem reforçado suas propriedades funcionais, resultando no aumento do consumo (KRISTO; BILIADERIS; TZANETAKIS, 2003), além de melhorias nas características sensoriais (VINDEROLA; BAILO; REINHEIMER, 2000). De acordo com Portaria nº 359 que trata sobre o Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade de Requeijão (BRASIL, 1997), entende-se por Requeijão o produto obtido pela 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* e por Requeijão Cremoso aquele obtido por fusão de uma massa coalhada

dessorada e lavada, obtida por coagulação ácida e/ou enzimatica do leite, com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra de leite e/ou butter oil. O produto poderá estar adicionado de condimentos, especiarias e/ou outras substâncias alimentícias.

Diante do exposto, a obtenção de um produto em pó adicionado de probiótico é uma alternativa para agregar valor, bem como de se obter uma variedade de produto com característica funcional. Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivo obter um requeijão probiótico em pó por *spray dryer* e selecionar a melhor condição por meio de um planejamento fatorial 2³ completo.

2. PROBLEMA DE PESQUISA E HIPÓTESE

A secagem por atomização do requeijão contendo células de *L. rhamnosus* é uma alternativa viável para elaboração de requeijão em pó com característica probiótica?

O desenvolvimento do requeijão probiótico em pó resultará em um produto com propriedade funcional, preservando suas características sensoriais e nutricionais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Alimentos funcionais

O conceito de alimentos funcionais surgiu no início dos anos 80 no Japão, através de um programa de governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis reduzindo, assim, os gastos com a saúde pública associados ao aumento da expectativa de vida da população (ARAYA; LUTZ, 2003; HASLER, 2002). Refere-se aos alimentos processados, similares em aparência aos alimentos convencionais, usados como parte de uma dieta normal e que demonstraram benefícios fisiológicos e, ou, reduziram o risco de doenças crônicas, além de suas funções básicas nutricionais (PATEL, 2017; STRINGHETA et al., 2007).

A ANVISA não define alimentos funcionais, porém define propriedade funcional e propriedade de saúde como: "todo aquele alimento ou ingrediente que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica" (BRASIL,1999).

As diretrizes para este tipo de alimento permitem alegações relacionadas ao papel fisiológico no crescimento, desenvolvimento e funções normais do organismo e, ainda,

alegações sobre a manutenção geral da saúde e a redução de risco de doenças, em caráter opcional. Não são permitidas alegações que façam referência à cura ou a prevenção de doenças. O alimento ou ingrediente que alegar propriedades funcionais e/ou de saúde pode, além de funções básicas, quando se trata de nutriente, produzir efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para o consumo sem a supervisão médica (STRINGHETA et al., 2007).

Estes alimentos podem ser classificados de acordo com o alimento em si, ou conforme os componentes bioativos nele presentes como, por exemplo, fibras dietéticas, probióticos, prebióticos, compostos funcionais, fitoquímicos, vitaminas, minerais essenciais, carotenóides, peptídeos bioativos, além de ácidos graxos ômega 3 (KOMATSU et al., 2008). Objetivam reforçar a dieta com a ingestão de substâncias cujo efeito salutar não é suficiente através da dieta habitual (PALANCA et al., 2006), ou seja, os alimentos funcionais não são medicamentos, como comprimidos ou cápsulas, mas são consumidos como parte de uma dieta diária normal (GRAJEK; OLEJNIK; SIP, 2005).

No Brasil, os ingredientes que apresentam alegação de funcionalidade são: ômega 3, licopeno, luteína, zeaxantina, fibras alimentares, beta-glucana, dextrina resistente, frutooligossacarídeo, goma guar parcialmente hidrolisada, inulina, lactulose, polidextrose, *psillium ou psyllium*, quitosana, fitoesteróis, os polióis (Manitol / Xilitol / Sorbitol), probióticos e proteína de soja (BRASIL, 2008).

A América Latina é considerada um mercado emergente para alimentos funcionais e neste contexto o Brasil e o México se destacam pois têm apresentado aumento de consumidores com maior poder de compra (GRANATO et al., 2010). Dentre os alimentos com alegação de propriedade funcional, destacam-se os probióticos, definidos pela Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas (*Food and Agriculture Organization – FAO*) e pela Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*) como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um efeito benéfico à saúde do hospedeiro (FAO/WHO, 2002).

3.2. Microrganismos probióticos

Em condições normais, inúmeras espécies de bactérias estão presentes no intestino, a maioria delas anaeróbias estritas. A microbiota intestinal exerce influência considerável sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro. Essa atividade bioquímica tem efeitos benéficos, como também pode gerar compostos potencialmente prejudiciais a saúde, sendo o equilíbrio essencial para manter um *status* saudável, já que quando em equilíbrio,

os microrganismos potencialmente patogênicos são impedidos de exercer seus efeitos patogênicos. Isto pode ser alcançado por diversas estratégias nutricionais, incluindo a administração de bactérias probióticas e outros componentes alimentares funcionais (LAPARRA; SANZ, 2010; SAAD, 2006).

As espécies microbianas amplamente utilizadas na produção de culturas probióticas destinados para inclusão em produtos lácteos são originalmente isolada a partir do intestino humano, uma vez que estas espécies são mais adequadas à fisiológica necessidades do hospedeiro e são capazes de colonizar mais fácil e eficiente do que as estirpes bacterianas de outras origens (VESTERLUND; SALMINEN; SALMINEN, 2012; CRUZ et al., 2007).

Os microrganismos atualmente considerados como probióticos na legislação brasileira são: Lactobacillus acidophilus; Lactobacillus casei Shirota; Lactobacillus casei variedade rhamnosus; Lactobacillus casei defensis; Lactobacillus paracasei; Lactococcus lactis; Bifidobacterium bifidum; Bifidobacterium animallis (incluindo a subespécie B. lactis); Bifidobacterium longum; Enterococcus faecium (BRASIL, 2008).

Os gêneros *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.* são os microrganismos probióticos mais empregados em produtos alimentícios (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016; RIBEIRO et al., 2014; KOMATSU et al., 2008). A principal razão de ambos os gêneros serem utilizados se deve a uma longa história de uso seguro e por serem considerados como GRAS (geralmente reconhecido como seguro). *Lactobacillus spp* e espécies de *Bifidobacterium* também são habitantes dominantes no intestino humano (intestino delgado e intestino grosso, respectivamente) (TRIPATHI; GIRI, 2014).

Lactobacillus são caracterizados como gram-positivos, não formadores de esporos, na sua maioria não-móveis, catalase negativos, fermentativos, microaerofílicos, possuem temperatura ótima de crescimento entre 30 °C e 40 °C e pH ótimo entre 5,5 e 6,0 (VASILJEVIC; SHAH, 2008; GOMES; MALCATA, 1999). Essas bactérias podem ser encontradas em uma diversidade de ambientes, como nichos ecológicos naturais, tais como plantas e solo, no meio lácteo, particularmente abundantes nos produtos lácteos fermentados, bem como ninchos dentro do hospedeiro, tais como o trato gastrointestinal, trato urogenital, cavidade oral e pele. Inúmeras espécies de Lactobacillus já foram isoladas do trato gastrointestinal e de amostras fecais. A composição típica de espécies da população intestinal varia entre sujeitos e regiões geográficas. Exemplos de espécies típicasi incluem L. rhamnosus, L. acidophilus, L. plantarum, L. paracasei e L. reuteri (LAHTINEN et al., 2011).

As espécies de *Lactobacillus* utilizados como probióticos em humanos compreendem: *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. amylovarus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. salivarius* subsp. *salivarius*, *L. casei*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. paracasei* subsp. *tolerans*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. reuteri* (SANDERS; KLAENHAMMER, 2001). *Lactobacillus rhamnosus* é uma bactéria ácido láctica, homofermentativa que produz tipicamente ácido láctico a partir da glicose. Os metabólitos individuais e purificados são frequentemente utilizados para fins antimicrobianos (BERISTAIN-BAUZA et al., 2016). Este microrganismo mostrou maior tolerância às condições do trato gastrointestinal quando comparado com outros microrganismos probióticos, e melhor sobrevivência, quando adicionado em alimentos funcionais (LANDERSJÖ et al., 2002).

Os microrganismos probióticos são geralmente disponíveis como concentrados de cultura na forma liofilizada ou congelada para ser adicionados a um alimento para usos industriais ou domésticos. Estes podem ser consumidos quer como produtos alimentares (fermentado ou não fermentado) ou como suplemento alimentar (produtos em pó, nas formas de cápsula ou comprimido) (TRIPATHI; GIRI, 2014).

3.2.1. Probióticos e seus efeitos benéficos

As culturas alimentares microbianas apresentam não só um papel tecnológico, que refere-se ao seu papel no desenvolvimento de novos produtos ou nos processos de fermentação de alimentos, como também um papel funcional, que refere-se à capacidade de certos microrganismos vivos conferirem benefícios a saúde do consumidor (MANI-LÓPEZ et al., 2014), alguns dos quais comprovados cientificamente e outros que necessitam de mais estudos (CRUZ et al., 2009).

Como benefícios à saúde desempenham papel no controle da microbiota intestinal, contribuem para estabilização da microbiota intestinal após o uso de antibióticos, promovem a resistência gastrintestinal à colonização por patógenos, auxiliam na diminuição de agentes patogênicos intestinais através da produção de ácidos acético e lático, de bacteriocinas e de outros compostos antimicrobianos, promovem a digestão da lactose em indivíduos intolerantes à lactose, participam da modulação do sistema imune, proporcionam alívio da constipação, aumentam a absorção de minerais e produção de vitaminas (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016; CAVALHEIRO et al., 2015; SAAD, 2006; BOYLSTON et al., 2004).

Efeitos inibitórios sobre a mutagenicidade e efeitos anticarcinogênicos são propriedades funcionais dos probióticos potencialmente importantes, os quais têm recebido muita atenção pela comunidade científica. Os probióticos também atuam no tratamento e prevenção de alergia, desempenham efeito hipocolesterolêmico, exercem atividade na prevenção e redução dos sintomas de diarreia e na prevenção da doença inflamatória do intestino (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Embora muitos efeitos sejam atribuídos ao consumo de probióticos, autoridades de sáude tem aprovado apenas reinvidiçãoes sobre (a) a intolerância à lactose e a digestão da lactose e (b) redução do colesterol. As pesquisas com probióticos ainda estão em estágios iniciais, e muito mais estudos precisam ser realizados para determinar os benefícios e segurança dos probióticos para a saúde (DALIRI; LEE, 2015). No entanto, pesquisas de longa duração são custosas, especialmente para os pequenos e médios laboratórios e empresas de alimentos, havendo uma necessidade urgente para melhor identificar e validar os fatores de risco de doenças e biomarcadores de saúde (JANKOVIC et al., 2010).

Um microrganismo probiótico para ser considerado como tal deve apresentar genericamente as seguintes características: origem humana, não patogênico, não ser afetado pelas secreções gástrica e biliar, ser capaz de aderir as paredes epiteliais do intestino e de persistir no trato gastrointestinal de forma influenciar beneficamente a atividade metabólica local e conferir seus efeitos benéficos ao hospedeiro (YONEKURA et al., 2014; GUPTA; GARG, 2009).

Sendo os efeitos fisiológicos favoráveis obtidos com o número de células viáveis de microrganismos probióticos situados acima de 10⁶ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por ml ou por grama de produto durante o seu tempo de armazenamento ou a ingestão diária deve ser de cerca de 10⁸ UFC/ g, com o objetivo de compensar a possível redução o número de microrganismos probióticos durante a passagem através do trato gastrointestinal (NUALKAEKUL et al., 2012; MADUREIRA et al., 2011; SHAH, 2007). Também tem sido referido que os produtos probióticos devem ser consumido regularmente com um valor aproximado de 100 g/dia, a fim de fornecer cerca de 10⁹ células viáveis no intestino (KARIMI; MORTAZAVIAN; CRUZ, 2011).

O *Food and Drug Administration* (FDA) também recomenda que a quantidade mínima de probiótico no alimento deve ser de pelo menos 10⁶ UFC por g ou ml (TRIPATHI; GIRI, 2014). Em geral, a indústria alimentícia tem aplicado o nível recomendado de 10⁶ UFC/g ou ml no momento de consumo para as bactérias probióticas (KARIMI; MORTAZAVIAN; CRUZ, 2011; BOYLSTON et al., 2004).

De acordo com a legislação brasileira, os microrganismos probióticos devem alcançar uma quantidade mínima viável situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo. Ainda segundo essa legislação, valores menores podem ser aceitos, desde que sua eficácia seja comprovada (BRASIL, 2008). Entretanto, para exercer os benefícios à saúde, além da básica inerente nutrição, é necessário que a atividade da cultura probiótica seja mantida em níveis suficientemente elevados durante o prazo de validade do produto (CRUZ et al., 2007).

3.2.2. Probióticos e sua importância em alimentos

Os alimentos, além de contribuírem com a nutrição, são os principais veículos de probióticos, prebióticos e simbióticos, e por isso devem fazer parte da rotina alimentar dos consumidores, pois assim consegue-se manter o nível terapêutico facilmente (RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010).

A viabilidade e atividade das bactérias são de extrema importância, uma vez que estas bactérias devem sobreviver no alimento durante a vida de prateleira, resistir as condições ácidas do estômago e a degradação por enzimas hidrolíticas e sais biliares no intestino delgado (VASILJEVIC; SHAH, 2008). Entretanto a manutenção da viabilidade dos microrganismos probióticos tanto nos alimentos, e uma vez consumidos, constitui um desafio tecnológico, pois depende não só das características do produto alimentar como também da maior ou menor sensibilidade do microrganismo ao ambiente que o rodeia (DOUGLAS et al., 2008).

O uso de probióticos representa uma área promissora, com rápido crescimento, para o desenvolvimento de alimentos funcionais. Culturas probióticas são aplicadas com êxito em diferentes matrizes alimentares (BARK, 2015). Dentre os alimentos, os produtos lácteos são considerados os principais veículos de introdução das culturas probióticas ao trato gastrointestinal humano, merecendo destaque os queijos, iogurtes, sorvetes, sobremesas e bebidas lácteas fermentadas (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016; RANADHEERA; BAINES; ADAMS, 2010). Além de serem veículos em potencial para o consumo de probióticos, possuem grande aceitação pelo público em geral, apresentam excelente valor nutritivo (ANTUNES et al., 2007) e a incorporação de culturas probióticas em produtos lácteos têm sido associada com uma longa tradição de uso seguro em aplicações comerciais (VASILJEVIC; SHAH, 2008).

Diversos trabalhos têm evidenciado a aplicação de culturas probióticas em derivados lácteos como em bebidas lácteas fermentadas (GOMI et al., 2015; SILVEIRA et al., 2015), iogurtes (SIDIRA et al., 2017; BANSAL et al., 2016; RIBEIRO et al., 2014), sorvete (SILVA et al., 2015) e queijos (FORTIN et al., 2011; OZER et al., 2009).

O requeijão cremoso é um produto tipicamente brasileiro que apresenta uma consistência fluida e um alto teor de gordura e pode ser essencialmente classificado como uma emulsão óleo-em-água. Tradicionalmente é elaborado a partir do tratamento mecânico, químico e térmico da massa proteica obtida pela precipitação ácida ou pela coagulação enzimática de leite, adicionada de creme de leite, sal, água e sais. Geralmente é utilizado espalhado sobre torradas ou bolachas e também como um recheio para massas, tortas, nuggets, sanduíches, etc. Possui grande valor comercial e tem uma importância crescente no mercado nacional (DA CUNHA; ALCÂNTARA; VIOTTO, 2012; FERNANDES; MARTINS, 1980). Queijos frescos, não maturados, com armazenamento em temperaturas de refrigeração por um período de tempo reduzido, favorecem a incorporação de bactérias probióticas (BURITI; CARDARELLI; SAAD, 2008), características apresentadas pelo requeijão cremoso.

A fim de exercer os efeitos benéficos à saúde, as bactérias probióticas devem manter a sua viabilidade primeira durante o fabrico, armazenamento e em seguida, durante a sua passagem através do trato gastrointestinal, a fim de chegar ao intestino num estado viável (BURGAIN et al., 2011). Manter a viabilidade das culturas probióticas no alimento até o fim da vida de prateleira é um critério importante para o fornecimento de produtos alimentares probióticos eficazes (MOHAMMADI et al., 2011).

Aspectos relacionados à aceitabilidade do produto devem ser considerados, por exemplo a cor e o sabor, já que as substâncias produzidas pelos microrganismos envolvidos, principalmente compostos ácidos, podem influenciar a textura e alterar a palatabilidade do produto final, de forma a favorecer ou não esse produto (PEREIRA; MACIEL; RODRIGUES, 2011; CARDARELLI et al., 2007).

As propriedades tecnológicas associadas com a incorporação de estirpes probióticas em produtos alimentares são apresentadas na Figura 1.

Benefícios
à Saúde

Alimentos
Probióticos

Características
Sensoriais

Aspectos
Econômicos

Conveniência

Figura 1. Aspectos qualitativos dos produtos alimentares probióticos

Fonte: Tripathi; Giri, 2014.

Assim, a utilização de veículos alimentícios apropriados para as cepas probióticas é fundamental, bem como a verificação da compatibilidade e adaptabilidade entre as cepas selecionadas e os referidos veículos. Além da seleção adequada de cepas, o método de sua preparação é de fundamental importância, uma vez que as tecnologias e o armazenamento empregados influenciam significativamente a funcionalidade dos probióticos (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008).

Diversos fatores podem afetar a viabilidade de bactérias probióticas nos alimentos, incluindo as cepas probióticas selecionadas, as interações e o antagonismo entre as espécies presentes, pH, presença de oxigênio, concentração de metabolitos, tais como ácidos láctico e acético, temperatura de armazenamento, natureza dos ingredientes adicionados e as matrizes alimentares (COSTA et al., 2013; DU TOIT et al., 2011; FONTELES et al., 2011). No entanto, muitos podem ser beneficiados pelo processo de microencapsulação, que reduz a velocidade dos processos de degradação e/ou evita a degradação até que o produto seja exposto nos locais desejados, disponibilizando as células probióticas em condições específicas como pH, temperatura ou pressão (DE VOS et al., 2010).

3.3. Microencapsulação

Nos últimos anos, vários estudos foram realizados sobre a microencapsulação para a preservação de microrganismos probióticos durante o armazenamento e processamento de alimentos (ARSLAN et al., 2015; LAPSIRI; BHANDARI; WANCHAITANAWONG, 2012; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ et al., 2011; SEMYONOV et al., 2010). Uma vez encapsulado num polímero biodegradável, torna-se mais fácil manusear as células do que numa suspensão e a sua presença em micropartículas pode ser quantificada, permitindo o controle da sua dosagem (DE PRISCO; MAURIELLO, 2016; ANAL; SINGH, 2007).

A microencapsulação é definida como um processo em que um material ou uma mistura de materiais bioativos, que podem ser pequenas partículas sólidas, gotículas de líquidos ou compostos gasosos, são revestidos com outro material (HUQ et al., 2013; NAZZARO et al., 2012). O material revestido é chamado material ativo ou do núcleo, e o material de revestimento é chamado de invólucro, material de parede ou agente encapsulante (BURGAIN et al., 2011; MADENE et al., 2006).

No processo de microencapsulação podem ser produzidos dois tipos básicos de estruturas (Figura 2): a microcápsula, estrutura mais simples onde a partícula é formada de um único núcleo e está envolvida por uma fina parede, e a micropartícula ou microesfera, estrutura com vários núcleos incorporados numa matriz, onde o material encapsulado está uniformemente distribuído (FANG; BHANDARI, 2010). Os diferentes tipos de microcápsulas e microesferas dependem das propriedades físico-químicas do núcleo, da composição do material de parede e da técnica de microencapsulação utilizados (GHARSALLAOUI et al., 2007).

Figura 2. Duas principais estruturas de microcápsulas



Fonte: Fang; Bhandari, 2010.

A microencapsulação de componentes bioativos pode ser utilizada em muitas aplicações na indústria de alimentos incluindo a estabilização do material do núcleo, controle de reações oxidativas, proporcionando a liberação controlada de ingredientes ativos,

mascarando sabores, cores e odores, aumento da vida de prateleira, preservando as características finais dos produtos, protegendo os componentes contra a perda nutricional, aumentando a sobrevivência dos probióticos (HUQ et al., 2013; BURGAIN et al., 2011; ANAL; SINGH, 2007), também tem potencial influência na redução de possíveis efeitos sensoriais negativos dos alimentos (SOHAIL et al., 2012).

Por proteger o material do núcleo de estresses ambientais, tais como o oxigênio, elevada acidez, e condições gástricas, a microencapsulação pode ser utilizada para fornecer proteção para culturas probióticas, melhorando a sua estabilidade e viabilidade, em produtos alimentares e pela passagem através do estômago (HUQ et al., 2013), permitindo que as células sejam libertadas no compartimento adequado do intestino no momento certo (NAZZARO et al., 2012).

Diferentes técnicas de encapsulação de células têm sido propostas, cada uma fornece microcápsulas com características diferentes em termos de tamanho das partículas e tipo de cápsula, ou seja, nenhuma pode ser considerada como um processo universalmente aplicável para os distintos componentes bioativos alimentares (BURGAIN et al., 2011; DE VOS et al., 2010). Dentre as técnicas de microencapsulação estão a coacervação, extrusão, leito fluidizado, secagem por atomização, liofilização (LAM; GAMBARI, 2014; GHARSALLAOUI et al., 2007). Apesar das numerosas técnicas desenvolvidas para microencapsular os ingredientes alimentares, a secagem por atomização é a tecnologia mais utilizada (CALISKAN; DIRIM, 2013; GHARSALLAOUI et al., 2007).

3.4. Secagem por atomização

A secagem por atomização é um processo contínuo, simples e de baixo custo, através do qual ocorre a transformação de um produto líquido em um produto seco, na forma de pó, por meio de um tempo de secagem relativamente curto (MAHDAVI et al., 2016; DE SOUZA et al., 2015; FERRARI et al., 2012; GHARSALLAOUI et al., 2007). O material da matriz é dissolvido no agente carreador e posteriormente é encapsulado no atomizador (KENT; DOHERTY, 2014), através do contato do líquido com o ar quente, evaporação do solvente de modo rápido e uniforme, e subsequente separação do produto em pó do ar de secagem (MEDEIROS et al., 2014; GHARSALLAOUI et al., 2007) (Figura 3). Em função da alimentação de partida, condições operacionais e materiais utilizados, a secagem por atomização produz um pó muito fino (10-50 μm) ou partículas de tamanho grande (2-3 mm) (GHARSALLAOUI et al., 2007).

1= Ar aquecido
2= Bico atomizador
3= Câmera de secagem
4= Pó grosso
5= Separador
6= Pó fino
3

Figura 3. Esquema de um sistema de Spray Drying

Fonte: Labmaq do Brasil LTDA (2003).

Esta técnica de processamento tem sido utilizada para melhorar a sobrevivência e viabilidade dos probióticos durante o processamento e armazenamento dos alimentos, além de conferir proteção aos probióticos contra a exposição subsequente às condições adversas do trato gastrointestinal (KENT; DOHERTY, 2014). Um aumento da sobrevivência e viabilidade é explicado porque o encapsulamento das células as protege de condições ambientais adversas (BUSTAMANTE et al., 2015).

É amplamente utilizada na indústria de alimentos devido à alta produtividade, baixo custo, rapidez, eficácia e aplicabilidade em grande escala de produção em comparação com métodos tradicionais, como congelamento ou liofilização (KENT; DOHERTY, 2014; BURGAIN et al., 2011). Entretanto as tecnologias que necessitam de tratamento térmico, como a secagem por atomização, que utilizam altas temperaturas, provocam algumas lesões nas microesferas ou microcápsulas, liberando células e reduzindo a viabilidade celular (HUQ et al., 2013; BURGAIN et al., 2011; NAL; SINGH, 2007). Além disto, a secagem por atomização pode não produzir microcápsulas uniformes e além de um pó muito fino que necessite de processamento adicional (MADENE et al., 2006).

As propriedades fisico-químicas de pós produzidos por secagem por atomização dependem de algumas variáveis do processo, tais como as características da alimentação do líquido (viscosidade, tamanho das partículas, a taxa de fluxo) e do ar de secagem (temperatura, pressão), bem como o tipo de atomizador. Portanto, é importante para otimizar o processo de secagem, a fim de se obterem produtos com melhores características sensoriais e nutricionais e melhor processo de produção (CALISKAN; DIRIM, 2013; TONON; BRABET; HUBINGER, 2008). Os principais fatores que devem ser otimizados são a temperatura de alimentação, a temperatura de entrada de ar e a temperatura de saída de ar (CHO et al., 2015; LIU et al., 2004).

A temperatura de alimentação modifica a viscosidade da emulsão, a sua fluidez e, portanto, a sua capacidade para ser pulverizado de forma homogênea. Quando a temperatura de alimentação é aumentada, a viscosidade e o tamanho das partículas são reduzidas, entretanto temperaturas elevadas podem causar degradação de ingredientes sensíveis ao calor (GHARSALLAOUI et al., 2007). A temperatura de entrada de ar é diretamente proporcional à taxa de secagem e ao conteúdo final de água da microcápsula. Quando a temperatura de entrada de ar é baixa, produz uma reduzida taxa de evaporação o que provoca a formação de microcápsulas com membranas de alta densidade, com alto conteúdo de água, baixa fluidez e propensas a aglomeração (RATHORE et al., 2013; GHARSALLAOUI et al., 2007). Entretanto uma elevada temperatura de entrada do ar, pode gerar uma evaporação excessiva que pode causar rachaduras na membrana, bem como a perda de componentes do material do núcleo (LIU et al., 2004).

A temperatura de saída de ar tem um efeito significativo sobre o teor de água do produto e a estrutura microencapsulada, no entanto é difícil prever seu valor com uma vez que depende das características de secagem do material. Seu controle se dá através da temperatura de entrada de ar. Uma temperatura de saída de ar elevada permite a formar uma estrutura de parede compacta melhorando o efeito da secagem (GHARSALLAOUI et al., 2007; LIU et al., 2004).

3.5. Agentes carreadores

Muitas substâncias podem ser usadas para revestir ou encapsular líquidos, sólidos ou gases de diferentes tipos e propriedades, denominadas de agentes carreadores ou material de parede. Os critérios mais importantes para a seleção de um material encapsulante estão relacionados com as funcionalidades que deve proporcionar ao produto final (NEDOVICA)

et al., 2011), já que o uso de diferentes materiais, com estruturas e características diferentes, para a produção de pó, pode resultar em diferentes propriedades fisico-quimicas que exercem influência sobre a eficiência da encapsulação e estabilidade das microcápsulas (MOSER et al., 2017; MAHDAVI et al., 2016).

Dependendo do material do núcleo e das características desejadas para o produto final, diferentes tipos de agentes carreadores podem ser utilizados para a microencapsulação incluindo carboidratos (amido, maltodextrinas, sacarose, xarope de milho e goma arábica), lipídios (ceras, parafinas, mono e diglicéridos), proteínas (glúten, gelatina, ágar, carragena, caseína, soro de leite, soja e trigo) e fribras (MARTÍNEZ et al., 2015; NEDOVICA et al., 2011; GHARSALLAOUI et al., 2007; DESAI; PARK, 2005).

A tecnologia de secagem por atomização exige condições de operação bem-ajustadas bem como composição adequada dos materiais que contém os compostos ativos (ROCCIA et al., 2014), ou seja, a escolha de um material de cobertura ideal é de extrema importância para a obtenção de um produto com as caracteristicas desejadas.

Os materiais utilizados de escudo protetor devem ser de qualidade alimentar, biodegradável, não reativos com o núcleo, terem a capacidade de selar e manterem o núcleo no interior da cápsula, serem capazes de proporcionar a máxima proteção para o núcleo contra condições adversas, permitirem a libertação controlada do material bioativo, preservarem a estabilidade das compostos bioativos durante o processamento e armazenamento, possuirem boas propriedades de emulsificação e secagem, em concentrações elevadas exibirem baixa viscosidade, apresentarem boa disponibilidade no mercado e viabilidade econômica (NEDOVICA et al., 2011; GHARSALLAOUI et al., 2007; DESAI; PARK, 2005).

No entanto, a concentração do agente carreador utilizada na secagem por atomização pode resultar em tamanhos maiores de partículas, levando a um maior tempo de secagem e uma diminuição na viabilidade celular (SANTIVARANGKNA; KULOZIK; FOERST, 2007). Sendo recomendada a utilização de quantidades mínimas deste componente, a fim de evitar alterações nas propriedades e diminuir o custo do produto (CALISKAN; DIRIM, 2013). O uso de agentes de carreadores, tais como a maltodextrina e a gelatina, melhoram o processo de secagem, tornando-o mais eficaz (CALISKAN; DIRIM, 2013).

3.5.1. Maltodextrina

As maltodextrinas são carboidratos produzidos pela hidrólise parcial do amido e que possuem unidades de D-glicose ligadas por ligações glicosídicas α-1,4 ou α-1,6 (QIU et al., 2017). São caracterizadas por um valor de dextrose equivalente (DE) inferior a 20 enquanto que polímeros com DE maiores que 20 são considerados xarope de glicose. A DE é o principal parâmetro que caracteriza as propriedades reológicas e funcionais das maltodextrina (PYCIAA et al., 2016). Quanto menor a DE, maior é a taxa de dissolução, menor é o teor de umidade e menor é a higroscopicidade das microcápsulas (NEGRÃO-MURAKAMI et al., 2017).

Maltodextrinas, de diferentes DE, estão entre os principais agentes carreadores utilizados em alimentos, sua eficácia se dá devido à sua propriedade para rápida formação de película, elevada solubilidade e baixa higroscopicidade (MOSER et al., 2017). Elas também formam soluções de baixa viscosidade uma caracerística importante no processo de secagem por atomização, suas soluções são incolores (MAHDAVI et al., 2016; SOUZA et al., 2014), possuem sabor e aroma neutros, custo relativamente baixo, são comercialmente disponível, conferem uma proteção eficiente contra oxidação e são altamente solúveis em água (> 75%) (MARTÍNEZ et al., 2015; SANTIAGO-ADAME et al., 2015; KHA et al., 2010). São utilizadas principalmente na produção de alimentos desidratados, uma vez que reduzem a viscosidade e melhoraram a firmeza de tais produtos (PYCIAA et al., 2016).

3.5.2. Gelatina

A gelatina é uma proteína gelificante, obtida por hidrólise do colágeno presente nos ossos e nos tecidos conjuntivos de animais terrestres e marinhos. Sendo a gelatina proveniente de animais terrestres mais utilizada pela indústria alimentar em comparação com as provenientes de fontes marinhas, pois apresenta melhores propriedades reológicas (força de gel, viscosidade e ponto de fusão) (ETXABIDE et al., 2017; MOHTAR; PERERA; QUEK, 2010; CHOA; GUB; KIMA, 2005).

A gelatina apresenta uma boa disponibilidade, baixo custo e é um dos produtos naturais mais versáteis, que possuem amplas aplicações, especialmente na indústria alimentar. Podendo ser usada para proteger componentes bioativos, retardar a deterioração dos alimentos e prolongar a vida útil dos alimentos (ETXABIDE et al., 2017). Geralmente, suas propriedades funcionais são atribuídas a fatores como matéria-prima, pré-tratamento e

processo de extração. A resistência do gel é uma das propriedades funcionais mais importantes, seguida pela viscosidade que é a segunda propriedade chave da gelatina (TABARESTANI et al., 2010).

Na indústria alimentar a gelatina tem sido utilizada para encapsular ingredientes funcionais (GÓMEZ-ESTACA; GAVARA; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, 2015), sendo eficiente agente carreador na secagem por atomização, já que apresenta boas propriedades de emulsificação, formação de filme flexível, solubilidade em água (MAHDAVI et al., 2016) além de apresentar mudança positiva ou negativa, dependendo do pH, em sua atividade superficial, o que possibilita a mistura com encapsulantes tradicionais, tais como alguns polissacarídeos. O uso de proteína promove um aumento no rendimento. De acordo com Adhikari et al., (2007), a substituição de 5% (p/p) de maltodextrina por proteina isolada do soro elevou a recuperação do pó de sólidos de mel de 28% para 80%. Tal fato é atribuído a capacidade de algumas proteínas de formarem rapidamente uma película quando em contato com ar de secagem (ADHIKARI et al., 2007). Adhikari et al. (2009), relataram que a adição de proteina de soro de leite (0,5-1%) na mistura seca) na produção de sacarose em pó por spray dryer promoveu um aumento na recuperação do pó de 0% de sacarose pura para mais de 80% na presença destas proteínas. Fang e Bhandari (2012) reportam que um pequena quantidade de proteína (1%) foi eficiente na recuperação de pó de suco de bayberry (> 50%), enquanto que uma grande quantidade de maltodextrina (> 30%) foi necessária para obter o mesmo resultado.

3.6. Alimentos em pó

O desenvolvimento de ingredientes probióticos com vida de prateleira estáveis sob armazenamento não refrigerado representa um desafio para a indústria de alimentos (YING et al., 2016). Neste contexto, os alimentos em pó apresentam vantagens sobre os produtos líquidos, como volume ou peso reduzido, manuseio, transporte e armazenamento mais fáceis, além de maior vida de útil (FAZAELI et al., 2012). Muitos alimentos em pó são produzidos pela secagem por atomização, tais como leite em pó, isolados de proteína e sucos em pó (WANG et al., 2017). Este método produz um pó com boa reconstituição, baixa atividade de água (aw), estável e versátil em sua utilização (MISHRAA; MISHRAB; MAHANTA, 2014; KEARNEY, et al., 2009; GOUIN, 2004).

A secagem por atomização é uma técnica que têm sido amplamente utilizadas para proteger os ingredientes alimentares contra a degradação. Além disso, é útil para encapsular

componentes sensíveis ao calor devido ao seu curto tempo de secagem (~ 3-10 s) (MOSER, et al., 2017; WANG, et al., 2017), que conduz a um produto de melhor qualidade (REDDYA et al., 2014). A microcápsula protege o material encapsulado contra o oxigênio, água, luz, evita o contato com outros ingredientes por longos períodos, além de ser capaz de liberá-lo sob condições digestivas (MARTÍNEZ et al., 2015; SANTIAGO-ADAME et al., 2015). A eficiência da proteção e liberação controlada dos componentes depende principalmente da composição e estrutura do material de parede e das condições durante a produção e utilização destas partículas (temperatura, pH, pressão, umidade) (MARTÍNEZ et al., 2015).

Contudo, os alimentos secos por atomização, podem apresentar variações em suas propriedades de reconstituição, tais como solubilidade, molhabilidade e dispersabilidade, sendo a qualidade final do produto dependente dos parâmetros operacionais (temperatura de entrada e saída do ar, vazão de alimentação, velocidade de atomização, etc) (REDDYA et al., 2014; FAZAELI et al., 2012), do tipo de agente carreador utilizado na formulação (MAHDAVI et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2010), das propriedades do material inicial (composição, concentração, viscosidade etc), além de outros fatores (CAI; CORKE, 2000).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADHIKARI, B.; HOWES, T.; SHRESTHA, A.K.; BHANDARI, B.R., Development of stickiness of whey protein isolate and lactose droplets during convective drying. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 420–428, 2007.

ADHIKARI, B.; HOWES, T.; BHANDARI, B. R.; LANGRISH, T. A. G. Effect of addition of proteins on the production of amorphous sucrose powder through spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 94, p. 144–153, 2009.

ANAL, A.K.; SINGH, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science and Technology**, v.18, p. 240-251, 2007.

ANTUNES, A.E.C.; MARASCA, E.T.G.; MORENO, I.; DOURADO, F.M.; RODRIGUES, L.G.; LERAYER, A.L.S. Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 27, p. 83-90, 2007.

ARAYA, H.; LUTZ, M.R. Alimentos funcionales y saludables. **Revista Chilena de Nutrición**, v.30, p.8-14, 2003.

ARSLAN, S.; ERBAS, M.; TONTUL, I.; TOPUZ, A. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. boulardii with different wall materials by spray drying. **Food Science and Technology**, v. 63, p. 685-690, 2015.

BAKR, S. A. The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 423-31, 2015.

BANSAL, S.; MANGAL, M.; SHARMA, S. K.; YADAV, D.N.; GUPTA, R.K. Optimization of process conditions for developing yoghurt like probiotic product from peanut. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 6-12, 2016.

BERISTAIN-BAUZA, S. C.; MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Antimicrobial activity and physical properties of protein films added with cell-free supernatant of *Lactobacillus rhamnosus*. **Food Control**, v. 62, p. 44–51, 2016.

BOYLSTON, T. D.; VINDEROLA, C. G.; GHODDUSI, H. B.; REINHEIMER, J. A. Incorporation of Bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 375–387, 2004.

BURGAIN, J.; GAIANI, C.; LINDER, M.; SCHER, J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. **Journal of Food Engineering**, v.104, p. 467-483, 2011.

BURITI, F. C. A.; CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental e avaliação sensorial de queijo fresco cremoso simbiótico: implicações da adição de *Lactobacillus* paracasei e inulina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 75-84, 2008.

BUSTAMANTE, M.; VILLARROEL, M.; RUBILAR, M.; SHENE, C. *Lactobacillus acidophilus* La-05 encapsulated by spray drying: Effect of mucilage and protein from flaxseed (*Linum usitatissimum L.*). **Food Science and Technology**, v. 62, p. 1162-1168, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução nº. 19, de 30 de abril 1999. Aprova o Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. Diário Oficial da União, Brasília, abr. 1999.

BRASIL. PORTARIA Nº 359, DE 04 DE SETEMBRO DE 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão ou Requesõn. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:

http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1244. Acesso em: 15 de outubro de 2016.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray dried amaranthus betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v.65, p.1248-1252, 2000.

CALISKAN, G.; DIRIM, S. N. The effects of the different drying conditions and theamounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. **Food and bioproducts processing**, v. 91, p. 539–548, 2013.

CARDARELLI, H. R.; SAAD, S. M. I.; GIBSON, G. R.; VULEVIC, J. Functional petitsuisse cheese: measure of the prebiotic effect. **Anaerobe**, v.13, p. 200-207, 2007.

CASTRO-MUÑOZ, R.; BARRAGAN-HUERTA, B. E.; YANEZ-FERNANDEZ, J. Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (Opuntia stricta). **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 242-248, 2015.

CAVALHEIRO, C. P.; RUIZ-CAPILLAS, C.; HERRERO, A. M.; JIMENEZ-COLMENERO, F.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. L. M. Application of probiotic delivery systems in meat products - Review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 46, p. 120-131, 2015.

CHOA, S. M.; GUB, Y. S.; KIMA, S. B. Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (Thunnus albacares) skin gelatin compared to mammalian gelatins. **Food Hydrocolloids**, v. 19, p. 221–229, 2005.

CHO, H.; KIM, B.; CHUN, J.; CHOI, M. Effect of spray-drying process on physical properties of sodium chloride/maltodextrin complexes. **Powder Technology**, v. 277, p.141–146, 2015.

COSTA, M. G. M.; FONTELES, T. V.; de JESUS, A. L. T.; RODRIGUES, S. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development:process optimisation and product stability. **Food Chemistry**, v.139, p.261–266, 2013.

CRUZ, A. G.; BURITI, F. C. A.; SOUZA, C. H. B.; FARIA, J. A. F., SAAD, S. M. I. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. **Trends in Food Science and Technology**, v.20, p.344-354, 2009.

CRUZ, A. G.; FARIA, A. F. J.; VAN DENDER, A. G. F. Packaging system and probiotic dairy foods. **Food Research International**, v.40, p. 951–956, 2007.

DALIRI, E. B.; LEE, B. H. New perspectives on probiotics in health and disease. **Food Science and Human Wellness**, v.4, p. 56–65, 2015.

DA CUNHA, C. R.; ALCÂNTARA, M. R.; VIOTTO, W. H. Effect of the Type of Emulsifying Salt on Microstructure and Rheological Properties of "Requeijão Cremoso" Processed Cheese Spreads. **Journal of Food Science**, v. 77, p. 176-181, 2012.

DESAI, K. G. H.; PARK, H. J. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, v.23, p.1361-1394, 2005.

DE PRISCO, A.; MAURIELLO, G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool Review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 48, p. 27-39, 2016.

DE SOUZA, V.; THOMAZINI, M.; BALIEIRO, J. C. C.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). **Food and bioproducts processing**, v. 93, p.39–50, 2015.

DE VOS, P.; FAAS, M. M.; SPASOJEVIC, M.; SIKKEMA, J. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food componentes. **International Dairy Journal**, v.20, p. 292–302, 2010.

DOUGLAS, L. C.; SANDERS, M. E. Probiotics and prebiotics in Dietetics Practice. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 108, p.510-521, 2008.

DU TOIT, M.; ENGELBRECHT, L.; LERM, E.; KRIEGER-WEBER, S. Lactobacillus: The next generation of malolactic fermentation starter cultures—An overview. **Food Bioprocess and Technology**, v. 4, p.876–906, 2011.

DRAGONE, G.; MUSSATTO, S. I.; OLIVEIRA, J. M.; TEIXEIRA, J. A. Characterisation of volatile compounds in an alcoholic beverage produced by whey fermentation. **Food Chemistry**, v.112, p. 929–935, 2009.

ETXABIDE, A.; URANGA, J.; GUERRERO, P.; DE LA CABA K. Development of active gelatin films by means of valorisation of food processing waste: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 68, p. 192-198, 2017.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Encapsulation of polyphenois one review. **Trends in Food Science and Tecnology**, v.20, p.1-14, 2010.

FANG, Z.; BHANDARI, B. Comparing the efficiency of protein and maltodextrin on spray drying of bayberry juice. **Food Research International**, v. 48, p. 478–483, 2012.

FAZAELI, M.; EMAN-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A. K.; OMID, M. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 667–675, 2012

FERNANDES, A. G.; MARTINS, J. F. P. Fabricação de requeijão cremoso a partir de massa obtido por precipitação ácida a quente de leite de búfala e de vaca. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 35, p. 7-13, 1980.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. Spray Drying of blackberry pulp using maltodextrin as carrier agent. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.15, p.157-165, 2012.

FONTELES, T. V.; COSTA, M. G.; DE JESUS, A. L. T.; RODRIGUES, S. Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRLB-442. **Food Bioprocess and Technology**, v.5, p. 2819–2826, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS; WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

FORTIN, M.; CHAMPAGNE, C.P.; ST-GELAIS, D.; BRITTEN, M.; FUSTIER, P.; LACROIX, M. Effect of time of inoculation, starter addition, oxygen level and salting on the viability of probiotic cultures during Cheddar cheese production. **International Dairy Journal**, v. 21, p.75-82, 2011.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, p.1107-1121, 2007.

GÓMEZ-ESTACA, J.; GAVARA, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. Encapsulation of curcumin in electrosprayed gelatin microspheres enhances its bioaccessibility and widens its uses in food applications. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 29, p. 302–307, 2015.

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

GOMI, A.; IINO, T.; NONAKA, C.; MIYAZAKI, K.; ISHIKAWA, F. Health benefits of fermented milk containing *Bifidobacterium bifidum* YIT 10347 on gastric symptoms in adults. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 2277–2283, 2015.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, F.; AZAOLA, A.; GUTIÉRREZ-LOPEZ, F.G; HERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, H. Viability of microencapsulated *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* BB12 in kefir during refrigerated storage. **International Journal of Dairy Technology**, v. 63, p. 431-436, 2010.

GOUIN, S. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 15, p. 330-347, 2004.

GRAJEK, W.; OLEJNIK, A.; SIP, A. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods: A review. **Acta Biochimica Polonica**, v. 52, p. 665–671, 2005.

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

GRATTEPANCHE, F.; MIESCHER-SCHWENNINGER, S.; MEILE, L.; LACROIX, C. Recent developments in cheese cultures with protective and probiotic functionalities. **Dairy Science and Technology**, v. 88, p. 421-444, 2008.

GREGOR, R. The growth potential for dairy probiotics. **International Dairy Journal**, v.49, p.16–22, 2015.

GUPTA, V.; GARG, R. Probiotics. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v.27, p.202-209, 2009.

HASLER, C.M. Functional Foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technology**, v.52, n.11, p.63-70, 1998.

HEIDEBACH, T.; FÖRST, P.; KULOZIK, U. Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 309–316, 2010.

HUQ, T.; KHAN, A.; KHAN, R.A.; RIEDL, B.; LACROIX, M. Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.53, p. 909-916, 2013.

JANKOVIC, I.; SYBESMA, W.; PHOTHIRATH, P.; ANANTA, E.; MERCENIER, A. Application of probiotics in food products – challenges and new approaches. **Current Opinion in Biotechnology,** v. 21, p.175–181, 2010.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; CRUZ, A.G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. **Dairy Science and Technology,** v.91, p. 283–308, 2011.

KEARNEY, N.; MENG, X.C.; STANTON, C; KELLY, J.; FITZGERALD, G.F.; ROSS, R.P. Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei NFBC 338*. **International Dairy Journal**, v.19, p.684–689, 2009.

KENT, R.M.; DOHERTY, S.B. Probiotic bacteria in infant formula andfollow-up formula: Microencapsulation using milk and pea proteinsto improve microbiological quality. **Food Research International,** v.64, p. 567–576, 2014.

KHA, T. C.; NGUYEN, M. H.; ROACH, P. D. Effects of spray drying conditions on the physicochemical and antioxidante properties of the Gac (Momordica cochinchinensis) fruit aril powder. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p.385–392, 2010.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.3, p.330-332, 2008.

KRISTO, E.; BILIADERIS, C. G.; TZANETAKIS, N. Modelling of rheological, microbiological and acidification properties of a fermented milk product containing a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei*. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 7, p. 517-528, 2003.

LABMAQ DO BRASIL LTDA (2003). **Manual de Operações do Mini-Spray Dryer MSD 1.0.** Departamento de Engenharia.

LAHTINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. (Eds.) Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. **CRC Press**, 2011.

LAM, P.L.; GAMBARI, R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. **Journal of Controlled Release**, v.178, p. 25–45, 2014.

LANDERSJÖ, C.; YANG, Z.; HUTTUNEN, E.; WIDMALM, G. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103). **Biomacromolecules,** v. 3, p. 880-884, 2002.

LAPARRA, J. M; SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional components and nutraceuticals. **Pharmacological Research**, v.61, p. 219-225, 2010.

LAPSIRI, W.; BHANDARI, B.; WANCHAITANAWONG, P. Viability of *Lactobacillus* plantarum TISTR 2075 in different protectants during spray drying and storage. **Drying Technology**, v.30, p. 1407-1412, 2012.

LEITE, M. T.; BARROZO, M. A. S.; RIBEIRO, E. J. Canonical analysis technique as an approach to determine optimal conditions for lactic acid production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15009. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, 9p, 2012.

LIU, Z.; ZHOU, J.; ZENG, Y.; OUYANG, X. The enhancement and encapsulation of Agaricus bisporus flavor. **Journal of Food Engineering**, v. 65, p. 391–396, 2004.

LIVNEY, Y. D. Milk proteins as vehicles for bioactives. **Current Opinion in Colloid and Interface Science, v.** 15, p. 73–83, 2010.

LÓPEZ-RUBIO, A.; LAGARON, J.M. Whey protein capsules obtained through electrospraying for the encapsulation of bioactives. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 13, p. 200–206, 2012.

MACIEL, G. M.; CHAVES, K. S.; GROSSO, C. R. F.; GIGANTE, M. L. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p.1991–1998, 2014.

MADENE, A.; JACQUOT, M.; SCHER, J.; DESOBRY, S. Flavour encapsulation and controlled release—a review. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p. 1-21, 2006.

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v.44, p.465–470, 2011.

MAHDAVI, S. A.; JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; DEHNAD, D. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.85, p. 379–385, 2016.

MANI-LÓPEZ, E.; PALOU, E.; LÓPEZ-MALO, A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.97, p. 2578-2590, 2014.

MARTÍNEZ, M. L.; CURTI, M. I.; ROCCIA, P.; LLABOT, J. M.; PENCI, M. C.; BODOIRA, R. M.; RIBOTTA, P. D. Oxidative stability of walnut (*Juglans regia L.*) and chia (*Salvia hispanica L.*) oils microencapsulated by spray drying. **Powder Technology**, v. 270, p. 271–277, 2015.

MEDEIROS, A. C. L.; THOMAZINI, M.; URBANO, A.; CORREIA, R. T. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Structural characterisation and cell viability of a spray dried probiotic yoghurt produced with goats' milk and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis (BI-07) **International Dairy Journal**, v.39, p. 71-77, 2014.

MISHRAA, P.; MISHRAB, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, p. 252–258, 2014.

MOHAMMADI, R.; MORTAZAVIAN, A.M.; KHOSROKHAVAR, R.; CRUZ, A. G. Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. **Annals of Microbiology**, v. 61, n. 3, p. 411-424, 2011.

MOHTAR, N. F.; PERERA, C.; QUEK, S.Y. Optimisation of gelatine extraction from hoki (Macruronus novaezelandiae) skins and measurement of gel strength and SDS-PAGE. **Food Chemistry**, v. 122, p. 307-313, 2010.

MOSER, P.; TELIS, V. R. N.; NEVES, N. A.; GARCÍA-ROMERO, E.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Storage stability of phenolic compounds in powdered BRS Violeta grape juice microencapsulated with protein and maltodextrin blends. **Food Chemistry**, v. 214, p. 308–318, 2017.

NAJGEBAUER-LEJKO, D. Effect of green tea supplementation on the microbiological, antioxidant, and sensory properties of probiotic milks. **Dairy Science and Technology**, v. 94, p. 327–339, 2014.

NAZZARO, F.; ORLANDO, P.; FRATIANNI, F.; COPPOLA, R.; Microencapsulation in food science and biotechnology. **Current Opinion in Biotechnology**, v.23, p.82–186, 2012.

NEDOVICA, V.; KALUSEVICA, A.; MANOJLOVICB, V.; LEVICA, S.; BUGARSKIB, B. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806 – 1815, 2011.

NEGRÃO-MURAKAMI, A. N.; NUNES, G. L.; PINTO, S. S.; MURAKAMI, F. S.; AMANTE, E. R.; PETRUS, J. C. C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **LWT** - **Food Science and Technology**, v. 79, p. 561-567, 2017.

NUALKAEKUL, S.; LENTON, D.; COOK, M.T.; KHUTORYANSKIY, V.; CHARALAMPOPOULOS, D. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p.1281-1287, 2012.

OLIVEIRA, G. H. H.; CORRÊA, P. C.; ARAÚJO, E. F.; VALENTE, D. S. M.; BOTELHO, F. M. Desorption isotherms and thermodynamic properties of sweet corn cultivars (*Zea mays* L.). **International Journal of Food Science and Technology**, v.45, p.546–554, 2010.

OUWEHAND, A. C; IBRAHIM, F; FORSSTEN, S. D. Cheese as a carrier for probiotics: In vitro and human studies. **Australian Journal of Dairy Technology**. v. 65, p. 165-169, 2010.

OZER, B.; KIRMACI, H. A.; SENEL, E.; ATAMER, M.; HAYALOGLU, A. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. **International Dairy Journal**, v. 19, p.22–29, 2009.

PALANCA, V.; RODRÍGUEZ, E.; SEÑORÁNS, J.; REGLERO, G. Bases científicas para el desarollo de protuctos cárnicos funcionales com actividad biológica combinada. **Nutrición Hospitalaria,** v. 21, p. 199-202, 2006.

PATEL, S. Rose hip as an underutilized functional food: Evidence-based review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 63, p. 29-38, 2017.

PEREIRA, A. L. F., MACIEL, T. C., RODRIGUES, S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. **Food Research International**, v.44, p. 1276–1283, 2011.

PYCIAA, K.; JUSZCZAK, L.; GAŁKOWSKA, D.; WITCZAK, M.; JAWORSKA, G. Maltodextrins from chemically modified starches. Selected physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 301–309, 2016.

QIU, C.; QIN, Y.; JIANG, S.; LIU, C.; XIONG, L.; SUN, Q. Preparation of active polysaccharide-loaded maltodextrina nanoparticles and their stability as a function of ionic strength and pH. **LWT - Food Science and Technology**, v.76, p.164-171, 2017.

RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research International**, v.43, p. 1–7, 2010.

RATHORE, S.; DESAI, P.M.; LIEW, C.V.; CHAN, L.W.; HENG, P.W.S. Microencapsulation of microbial cells. **Journal of Food Engineering**, v.116, p. 369–381, 2013.

REDDYA, R. S.; RAMACHANDRA, C. T; HIREGOUDAR, S.; NIDONI, U.; RAMB, J.; KAMMAR, M. Influence of processing conditions on functional and reconstitution properties of milk powder made from Osmanabadi goat milk by spray drying. **Small Ruminant Research**, v.119, p.130–137, 2014.

RIBEIRO, M. C. E.; CHAVES, K. S.; GEBARA, C.; INFANTE, F. N. S.; GROSSO, C. R. F.; GIGANTE, M. L. Effect of microencapsulation of Lactobacillus acidophilus LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. **Food Research International**, v. 66, p. 424–431, 2014.

ROCCIA, P.; MARTÍNEZ, M. L.; LLABOT, J. M.; RIBOTTA, P. D. Influence of spray-drying operating conditions on sunflower oil powder qualities. **Powder Technology**, v. 254, p. 307–313, 2014.

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

SÁNCHEZ, B.; DE LOS REYES-GAVILÁN, C. G; MARGOLLES, A.; GUEIMONDE, M. Probiotic fermented milks: Present and future. **International Journal of Dairy Technology**, v. 62, p. 472–483, 2009.

SANDERS, M. E.; KLAENHAMMER, T. R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.319-331, 2001.

SANTIAGO-ADAME, R.; MEDINA-TORRES, L.; GALLEGOS-INFANTE, J. A.; CALDERAS, F.; GONZÁLEZ-LAREDO, R. F.; ROCHA-GUZMÁN, N. E.; OCHOA-MARTÍNEZ, L. A.; BERNAD-BERNAD, M. J. Spray drying-microencapsulation of

cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrina. **LWT - Food Science** and Technology, v. 64, p. 571-577, 2015.

SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Alternative Drying Processes for the Industrial Preservation of Lactic Acid Starter Cultures. **Biotechnology Progress**, v. 23, p. 302-315, 2007.

SEMYONOV, D.; RAMON, O.; KAPLUN, Z.; LEVIN-BRENER, L.; GUREVICH, N.; SHIMONI, E. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. **Food Research International**, v. 43, p. 193–202, 2010.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 11, p. 1262-77, 2007.

SHOBHARANI, P; AGRAWAL, R. A Potent Probiotic Strain from Cheddar Cheese. **Indian Journal of Microbiology**, v. 51, p. 251-25, 2011.

SIDIRA, M.; SANTARMAKI, V.; KIOURTZIDIS, M.; ARGYRI, A. A.; PAPADOPOULOU, O. S.; CHORIANOPOULOS, N.; TASSOU, C.; KALOUTSAS, S.; GALANIS, A.; KOURKOUTAS, Y. Evaluation of immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on whey protein as adjunct probiotic culture in yoghurt production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 137-146, 2017.

SILVA, P. D. L.; BEZERRA, M. F.; SANTOS, K. M. O.; CORREIA, R. T. P. Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. **LWT - Food Science and Technology**, v.62, p. 452-457, 2015.

SILVEIRA, E. O.; NETO, J. H. L.; SILVA, L. A.; RAPOSO, A. E. S.; MAGNANI, M.; CARDARELLI, H. R. The effects of inulin combined with oligofructose and goat cheese whey on the physicochemical properties and sensory acceptance of a probiotic chocolate goat dairy beverage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 445-451, 2015.

SOHAIL, A.; TURNER, M. S.; PRABAWATI, E. K.; COOMBES, A. G.; BHANDARI, B. Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. **International Journal of Food Microbiology**, v.157, p. 162–166, 2012.

SOUZA, V. B.; FUJITA, A.; THOMAZINI, M.; DA SILVA, E. R.; LUCON, J. F.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, v. 164, p. 380–386, 2014.

STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, T. T.; GOMES, R. C.; AMARAL, M. P. H.; CARVALHO, A. F.; VILELA, M. A. P. Políticas de saúde e alegações de propriedades funcionais e de saúde para alimentos no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, p. 181-194, 2007.

TABARESTANI, H. S.; MAGHSOUDLOU, Y.; MOTAMEDZADEGAN, A.; MAHOONAK, A. R. S. Optimization of physico-chemical properties of gelatin extracted from fish skin of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). **Bioresource Technology**, v.101, p. 6207–6214, 2010.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 411–418, 2008.

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.

VASILJEVIC, T.; SHAH, N.P. Probiotics - From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v.18, n.7, p. 714-728, 2008. [Review].

VESTERLUND, S.; SALMINEN, K.; SALMINEN, S. Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, p. 319–321, 2012.

VINDEROLA, C. G.; BAILO, N.; REINHEIMER, J. A. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. **Food Research International**, v. 33, p. 97-102, 2000.

WANG, S.; YE, F.; WEI, F.; ZHAO, G. Spray-drying of curcumin-loaded octenylsuccinated corn dextrin micelles stabilized with maltodextrin. Powder Technology, v. 307, p. 56–62, 2017.

YING, D.Y.; SANGUANSRI, L.; WEERAKKODY, R.; BULL, M.; SINGH, T. K.; AUGUSTIN, M. A. Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 447–458, 2016.

YONEKURA, L.; SUN, H.; SOUKOULIS, C.; FISK, I. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 205 – 214, 2014.

4. ARTIGO – DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO COM POTENCIAL PROBIÓTICO POR *SPRAY DRYER*

RESUMO

Os alimentos que contem probióticos são cada vez mais incorporados à alimentação, sendo necessário a aplicação de métodos que possam manter ou melhorar a sua viabilidade. A secagem por atomização é uma alternativa viável e o método mais usado para encapsular bactérias probióticas. Este trabalho teve como objetivo produzir um requeijão probiótico em pó através do processo de secagem por atomização. Foi realizado um planejamento fatorial 2³ completo com 8 pontos fatoriais (níveis + 1) e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 11 ensaios, com a finalidade de avaliar a influência das variáveis: temperatura do ar de secagem (90 a 140 °C), vazão mássica da mistura (0,40 a 0,8 L/h) e concentração de gelatina (0,5 a 1%) sobre a atividade de água, umidade, higroscopicidade e viabilidade celular. Além da gelatina, foi utilizado como agente encapsulante a maltodextrina 10 DE (10%). O ensaio 5 (90 °C, 0,4 L/h e 1%) foi a condição de processamento que proporcionou a menor atividade de água (0,12) e umidade (2,35%), além de uma baixa higroscopicidade (9,83 g.100g⁻¹) e uma contagem de células viáveis exigida pela legislação (8,48 log UFC/g) e mostrou que Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 tem a capacidade de sobreviver a secagem por atomização nas condições utilizadas neste estudo. O requeijão em pó obtido pelo ensaio 5 foi submetido à caracterização físico-química, análise microbiológica e foi reconstituído, na proporção de 1:3 em água deslitada estéril, para realização da análise sensorial (teste triangular, aceitação e intenção de compra). As características físico-químicas foram satisfatórias (proteínas 14,67 g.100 g⁻¹; lipídios 53,60 g.100 g⁻¹; cinzas 5,27 g.100 g⁻¹; carboidratos 24,86 g.100 g⁻¹; pH 6,0; acidez titulável 1,04 g ácido láctico.100 g⁻¹; densidade aparente 0,33 g/ml; solubilidade 78,48%) e semelhantes à de produtos atomizados relatados na literatura. As análises microbiológicas evidenciaram boas práticas de fabricação e qualidade da matéria-prima utilizada, estando apta para o consumo humano. O índice de aceitabilidade foi superior a 80% e uma intenção de compra de 87,78% junto aos prováveis consumidores, indicando que o produto desenvolvido apresenta potencial comercial e boas perspectivas para diversificar o mercado de alimentos probióticos.

Palavras-chaves: atomização; alimento funcional; planejamento fatorial; *Lactobacillus rhamnosus*; maltodextrina; gelatina.

ABSTRACT

Foods containing probiotics are increasingly incorporated into food, being necessary the application of methods that can maintain or improve its viability. Spray drying is a viable alternative and the most widely used method for encapsulating probiotic bacteria. This experiment intended to was to make a probiotic powdered cream cheese through the spraydrying process. A complete 2^3 factorial planning with 8 factorial points (levels + 1) and 3 central points (level 0) was carried out, totaling 11 trials, with the purpose of evaluating the influence of the variables: drying air temperature (90 to 140 °C), mass flow rate of the mixture (0.40 to 0.8 L/h) and gelatin concentration (0.5 to 1 %) on water activity, moisture, hygroscopicity and cellular viability. In addition to gelatin, maltodextrin 10 DE (10%) was used as the encapsulating agent. Test 5 (90 °C, 0.4 L / h and 1%) was the processing condition that provided the lowest water activity (0.12) and humidity (2,35%), besides a low hygroscopicity (9,83 g.100g⁻¹) and a viable cell count required by law (8.48 log CFU/g) and has shown that Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 has the ability to survive the spraydrying process under this study conditions. The test 5 powdered cream cheese was submitted to the physicochemical characterization, microbiological analysis and was reconstituted in sterile water on a 1:3 ratio so it could get through sensorial analysis (triangular test and purchase acceptability and intention). It presented satisfactory physicochemical characteristics (proteins 14.67 g.100 g⁻¹; lipids 53.60 g.100 g⁻¹; ash 5.27 g.100 g⁻¹; carbohydrate 24.86 g.100 g⁻¹; pH 6.0; titratable acidity 1.04 g lactic acid.100 g⁻¹; bulk density 0.33 g / ml; solubility 78.48%) similar to atomized products reported in literature. Microbiological analyzes showed good manufacturing practices and quality of the raw material used, being suitable for human consumption. The acceptability index was over 80% and a purchase intention of 87.78% among likely consumers, indicating that the developed product has commercial potential and good prospects for diversifying the probiotic food market.

Keywords: atomization; functional food; factorial planning; *Lactobacillus rhamnosus*; maltodextrin; gelatin.

4.1 INTRODUÇÃO

O consumo do alimento para melhorar a saúde vem tornando-se frequente entre os consumidores, que estão mais atentos em prevenir as doenças, do que em curá-las. Nesse contexto, os alimentos que contem probióticos são cada vez mais incorporados à alimentação (DALIRI; LEE, 2015), principalmente através dos produtos lácteos, já que estes constituem as matrizes ideais para o fornecimento de probióticos, devido à sua alta aceitabilidade pelo consumidor e pela viabilidade que confere aos microrganismos (BANSAL et al., 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS), define probióticos como microrganismos vivos, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do indivíduo (FAO/WHO, 2002). De acordo com a legislação brasileira, os microrganismos probióticos devem alcançar uma quantidade mínima viável situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo. Ainda segundo essa legislação, valores menores podem ser aceitos, desde que sua eficácia seja comprovada (BRASIL, 2008). Para garantir efeitos benéficos a saúde a dosagem diária recomendada é de 10⁸ a 10⁹ células viváveis (VESTERLUND; SALMINEN; SALMINEN, 2012), que pode ser alcançada com um consumo diário de pelo menos 100 g de um produto contendo entre 10⁶ e 10⁷ células viáveis por grama (SIDIRA et al., 2017).

Dependendo da estirpe e/ou da espécie, os probióticos fornecem mensuráveis benefícios para a saúde, como a modulação do sistema imune do hospedeiro, equilibrio da microflora intestinal, melhoria do metabolismo da lactose, prevenção e tratamento de alguns tipos de cânceres (CAVALHEIRO et al., 2015; KANMANI et al., 2013; SHAH, 2007). No entanto, os benefícios à saúde promovidos pelos probióticos dependem de fatores associados tanto ao microrganismo (gênero, espécie, estirpe, etc.) quanto ao produto (processamento, temperatura, pH, aw, etc.) (CAVALHEIRO et al., 2015).

A viabilidade do microrganismo é desafiada durante o processamento e armazenamento de alimentos o que resulta, muitas vezes, em um número reduzido de probióticos nos produtos (SIDIRA et al., 2017; WANG et al., 2016). Um requisito importante para uma estirpe bacteriana possa cumprir com sua função probiótica é que ela deve permanecer viável, em número suficientemente elevado, em todo o processamento, armazenamento e através do trânsito pelo trato gastrointestinal durante a digestão, até atingir o intestino onde exercerá sua funcionalidade (MADUREIRA et al., 2011).

Neste contexto, faz-se necessário a aplicação de métodos que possam manter ou melhorar a viabilidade e funcionalidade de probióticos que são adicionadas aos produtos

alimentares. E com isso, novas tecnologias têm sido propostas entre elas a encapsulação desponta como uma técnica promissora (GEBARA et al., 2013). A encapsulação pode ser definida como um processo em que pequenas partículas sólidas, gotas de líquido ou gases são rodeados por um revestimento, ou incorporadas em uma matriz homogênea ou heterogênea, originando pequenas cápsulas com propriedades úteis (SILVA; VIEIRA; HUBINGER, 2014; GHARSALLAOUI et al., 2007).

A parede do revestimento pode ser feita de uma grande variedade de materiais de grau alimentar e protege o núcleo, proporcionando uma barreira física contra condições adversas do ambiente (GALLARDO et al., 2013). O mecanismo de liberação depende da tecnologia utilizada e do material. Na maioria dos casos, as microcápsulas libertaram o seu conteúdo mediante alterações de pH (ácido ou básico), na presença de agentes quelantes e ação enzimática (MARTÍN et al., 2015).

O método de encapsulação mais utilizado na indústria de alimentos é a secagem por atomização (MARTÍN et al., 2015; CALISKAN; DIRIM, 2013; TONON; GROSSO; HUBINGER, 2011), sendo também o método mais usado para encapsular bactérias probióticas (GUERIN et al., 2017). Este processo envolve a transição de microrganismos de um líquido a um meio sólido (IACONELLI et al., 2015). As vantagens deste método são a sua capacidade de lidar com materiais sensíveis ao calor, a variedade e disponibilidade de máquinas, boa manutenção da qualidade das microcápsulas e uma variedade de tamanhos de partículas com excelente poder de dispersão em meios aquosos (ROCCIA et al., 2014). Além de melhorar a viabilidade das células probióticas os pós probióticos obtidos por *spray dryer* têm boa reconstituição, baixa atividade de água e são adequados para armazenamento à temperatura ambiente, o que é desejável especialmente em aplicações comerciais, devido aos custos operacionais mais elevados associados com o armazenamento refrigerado, dificuldades de transporte e distribuição (RANADHEERA et al., 2015; MISHRA; MISHRA; MAHANTA, 2014).

Sendo assim, esta pesquisa teve como objetivo desenvolver um requeijão contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 9595 por atomização e selecionar as melhores condições de processamento por meio de um planejamento fatorial 2³ completo, verificando a influência das variáveis: temperatura do ar de secagem, vazão mássica da mistura e concentração de gelatina sobre a atividade de água, umidade, higroscopicidade e viabilidade celular.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Materiais

O requeijão cremoso foi obtido através de doação e mantido sob refrigeração (8 ± 2 °C) e seus ingredientes constituem: creme de leite e/ou creme de soro de leite e/ou manteiga, água, massa láctea (leite pasteurizado, coalho, cloreto de cálcio, fermento lácteo e/ou acidulante (ácido lático – INS 270); gordura vegetal hidrogenada; amido modificado; sal fundente (estabilizante pirofosfato tetrassódico 40%, tripolifosfato de sódio 30%, hexametafosfato de sódio 30%) – INS 450 III, INS 4521 I, INS 451 I; concentrado protéico (proteína do soro de leite); cloreto de sódio; regulador de acidez; ácido lático ou corretor estabilizante (fosfato trissódico anidro) – INS 339 III; conservador sorbato de potássio – INS 202.

A estirpe de *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi adquirida através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde – INCQS/FIOCRUZ e mantida a -20 °C. Foram utilizados como agentes carreadores a maltodextrina (*MOR-REX*® 1910) 10 DE, da Corn Products (Mogi-Guaçu, Brasil) e a gelatina sem cor e sabor (Royal).

4.2.2 Métodos

4.2.2.1 Reativação do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595

A reativação do *L. rhamnosus* ATCC 9595 foi realizada a partir da adição da cultura liofilizada em caldo MRS, incubada a 35 °C por 48 h. Após este período, alíquotas de 10 microlitros foram semeadas por esgotamento, em triplicata, em placas com meio ágar MRS para verificar a pureza da cultura.

4.2.2.2 Incorporação do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 no requeijão cremoso

Foi realizada a inoculação com *L. rhamnosus* ATCC 9595 no requeijão na concentração de 10% (p/v) (10^{10} UFC / mL). Este foi mantido em banho-maria a 40 °C por 4 horas e posteriormente armazenado sob refrigeração (8 ± 2 °C) por 24 horas, antes da microencapsulação.

4.2.2.3 Obtenção do requeijão em pó

Os agentes carreadores (maltodextrina 10 DE e gelatina) foram diluídos em água destilada estéril na proporção de 1:1 em relação ao requeijão, em concentrações prédeterminadas de acordo com o planejamento experimental, e adicionados no requeijão cremoso contendo *L. rhamnosus* ATCC 9595. Esta mistura foi homogeneizada manualmente com um bastão de vidro estéril.Em seguida, a mistura foi submetida a secagem em escala de laboratório utilizando um mini *spray dryer* – LM, modelo MSD 1.0 (LABMAQ do Brasil LTDA), que operou com vazão de líquido de 0,4 a 0,8 L/h, com bico injetor de 1,2 mm de diâmetro, fluxo de ar de 30 m³/h e pressão do ar de 0,6 bar, temperatura de 90 a 140 °C, disponível no Laboratório de Processamento de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas / UFRPE. O requeijão em pó obtido a partir da coleta de dois diferentes compartimentos do *spray dryer*, ciclone e vidro de coleta, foi acondicionado em vidros estéreis (250 mL) e armazenado a temperatura ambiente (25 °C) em sílica gel (Figura 1).

Figura 1: Diferentes compartimentos de um mini *spray dryer* – LM, modelo MSD 1.0 (LABMAQ do Brasil LTDA).



4.2.2.4 Planejamento Experimental

Foi realizado um planejamento fatorial 2^3 , com 8 pontos fatoriais (níveis \pm 1) e 3 pontos centrais (nível 0), totalizando 11 ensaios. As variáveis independentes foram:

Temperatura do ar de secagem (°C), Vazão Mássica (l/h) e Gelatina (%). As variáveis dependentes foram: Umidade (%); Atividade de água (Aw); Higroscopicidade (g.100g⁻¹) e Contagem de células viáveis (log UFC/g).

Os dados obtidos foram ajustados a seguinte equação:

$$Y = \varphi(T, C, t) = \beta_0 + \beta_1 T + \beta_2 V + \beta_3 G + \beta_{12} TV + \beta_{13} TG + \beta_{23} VG$$

[Equação 1]

Em que β_n são os coeficientes de regressão, y é a resposta em questão (Temperatura do ar de secagem (°C), Vazão Mássica (l/h) e Gelatina (%)) e T, V e G são as variáveis independentes (temperatura, vazão mássica e gelatina respectivamente).

Além da gelatina, foi utilizado como agente encapsulante a maltodextrina 10 DE (10%), este agente encapsulante foi utilizado nesta concentração pois, através de testes preliminares, foi possível identificar que valores maiores conferiram sabor ao produto e valores menores promoveram um baixo rendimento.

A Tabelas 1 apresenta os valores das variáveis independentes codificadas e descodificados realizados para o planejamento fatorial 2³.

Tabela 1. Níveis codificados e descodificados das variáveis independentes planejamento fatorial 2³.

Codificação	Temperatura do ar	Vazão mássica	Gelatina
	de secagem (°C)	(l/h)	(%)
-1	90	0,4	0,5
0	115	0,6	0,75
1	140	0,8	1,0

4.2.2.5 Viabilidade do Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595

4.2.2.5.1 No requeijão cremoso

Vinte e cinco gramas do requeijão cremoso inoculado com *L. rhamnosus* ATCC 9595 foram dissolvidos em 225 ml de água peptona (MERCK) estéril (0,1% p/v) (10⁻¹). Em seguida foram feitas diluições seriadas em água peptonada estéril a 0,1% até 10⁻⁷. Alíquotas de 1 mL das diluições foram inoculadas em tubos contendo 9 mL de MRS semi-sólido e vertidos em placas com meio ágar MRS, utilizando a técnica *pour plate*. As placas foram incubadas invertidas durante 72 h a 35 °C, sob anaerobiose. As placas contendo de 20 a 350

colônias foram contadas e registradas em log Unidades Formadoras de Colônias (log UFC) por grama de requeijão (PEREIRA et al., 2013).

4.2.2.5.2 No requeijão em pó

Um grama do produto em pó foi dissolvido em 9 mL de água peptonada estéril a 0,1% (diluição 10⁻¹), utilizando um homogeneizador vortex por 1 minuto. Em seguida, foi realizada a diluição seriada da amostra em água peptonada estéril a 0,1% até 10⁻⁷. Alíquotas de 1 mL das diluições foram inoculadas em tubos contendo 9 mL de MRS semi-sólido e vertidos em placas com meio ágar MRS, utilizando a técnica *pour plate* (Figura 2). As placas foram incubadas invertidas durante 72 h a 35 °C, sob anaerobiose. As placas contendo de 20 a 350 colônias foram contadas e registradas como log UFC por grama de pó (PEREIRA et al., 2013).

Diluições seriadas em 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%

Diluições seriadas em 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%

10-1 10-2 10-3 10-4 10-5 10-6 10-7 1 mL de cada diluição

9 mL de MRS semi-sólido

Placas contendo MRS sólido

Figura 2: Diluição seriada do requeijão probiótico em pó

4.2.2.6 Análises Físico-Químicas do requeijão cremoso e em pó

Com a finalidade de caracterizar o requeijão antes e após a microencapsulação, as determinações físico-químicas foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos abaixo e todas as análises foram realizadas em triplicata.

Fonte: Luna, 2017.

4.2.2.6.1 Atividade de Água

Realizada no equipamento analisador de atividade de água (Decagon, AQUA LAB - 4TE) conforme instruções do fabricante.

4.2.2.6.2 pH

Analisado por meio de medidas diretas utilizando pHmetro com eletrodo de vidro (TECNAL TEC-5 - Piracicaba/SP), previamente calibrado e conforme instruções do fabricante.

4.2.2.6.3 Acidez Titulável

Realizada por método titulométrico, segundo metodologia descrita pela A.O.A.C. (2002). Os resultados foram expressos em g de ácido láctico $100g^{-1}$

4.2.2.6.4 Cor

Avaliada em colorímetro (Minolta CR-400, Konica Minolta, Sensing Inc), operando em sistema CIELAB (L*a*b*). A diferença de cor foi calculada por meio da média da cor (ΔE*) entre requeijão cremoso tradicional e o requeijão probiótico atomizado, segundo a equação:

$$\Delta E^* = [(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2]^{1/2}$$

[Equação 2]

Onde:

 ΔE^* é a diferença total de cor;

L₀* e L*: são as luminosidades das amostras do requeijão cremoso tradicional e requeijão probiótico atomizado, respectivamente;

a₀* e a*: são as intensidades da cor vermelha ou verde das amostras do requeijão cremoso tradicional e requeijão probiótico atomizado, respectivamente;

 b_0 * e b*: são as intensidades da cor amarela ou azul das amostras do requeijão cremoso tradicional e requeijão probiótico atomizado, respectivamente.

4.2.2.6.5 Cinzas, proteínas, lipídeos, carboidratos e umidade

Realizou-se as análises de cinzas (método termogravimétrico 935.42) e proteínas (991.22) conforme A.O.A.C (2002), e lipídeos (método de Gerber), conforme British Standards Institution (1989).

Os carboidratos foram calculados pela diferença (100g – gramas totais de umidade + cinzas + lipídeos + proteínas) e o resultado expresso g.100g⁻¹.

A umidade foi determinada em balança infravermelho (MARTE - IDSO – Piracicaba/SP) a 105 °C durante 30 minutos. Os resultados foram expressos em percentual (%).

4.2.2.7 Caracterização Física do requeijão probiótico em pó

Com a finalidade de caracterizar o requeijão probiótico em pó, as análises físicas foram realizadas em triplicata de acordo com as metodologias descritas a seguir.

4.2.2.7.1 Densidade Aparente (pa)

Realizada de acordo com procedimento descrito por Barbosa-Canovas; Juliano (2005) e Caparino et al., (2012) com algumas modificações. Foram transferidas 2 g de amostra para uma proveta graduada de 10 mL, compactou-se o pó batendo a proveta 50 vezes sobre a bancada.

A densidade foi calculada de acordo com a Equação (3) e o resultado expresso em g/mL:

$$\rho_{ap} = \frac{m}{V}$$

[Equação 3]

Onde: m - é a massa da amostra (g); V - é o volume total que o pó ocupou na proveta (mL).

4.2.2.7.2 Solubilidade

A solubilidade foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cano-Chauca et al. (2005). Diluindo-se 1 g da amostra em 100 mL de água destilada, seguida de agitação em agitador magnético (Fisatom, modelo 752) durante 5 minutos, formando uma solução aquosa, que em seguida foi centrifugada a 3000 rpm por 5 minutos em centrífuga

(Cientec, modelo CT-6000R). Uma alíquota de 25 mL do sobrenadante foi colocada em placa de Petri, esterilizada e previamente pesada, e levada para estufa com circulação e renovação de ar (Marconi, modelo MA-035) a 105 °C por 5 h. Ao término do processo a placa foi pesada em balança analítica e a solubilidade obtida através da diferença de peso.

4.2.2.7.3 Higroscopicidade

Conforme metodologia proposta por Cai e Corke (2000), modificada. As amostras, com aproximadamente 1g cada, foram colocadas em um recipiente hermético contendo uma solução saturada de NaCl (umidade relativa de 75,29%) a 25 °C e, após uma semana foram pesadas, sendo a higroscopicidade expressa como g de umidade adsorvida por 100 g de massa seca da amostra (g/100g).

4.2.2.8 Reconstituição do pó

A reconstituição do requeijão probiótico em pó foi realizada a partir da dissolução do pó em água na proporção de 1:3, de modo tornar à textura do produto reidratado o mais próximo possível do produto inicial. O requeijão reconstituído foi armazenamento sob refrigeração (8 ± 2 °C) e utilizado para a análise sensorial.

4.2.2.9 Análise Microbiológica

Para garantir a segurança alimentar dos provadores, o requeijão probiótico em pó foi submetido a análises, conforme recomendação da RDC Nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) quanto ao padrão de qualidade higiênico-sanitário, determinadas para queijo em pó (Coliformes totais, Estafilococos coagulase positiva e *Salmonella spp*). O preparo das amostras, inoculação, incubação e leitura utilizando placas PetrifilmTM 3M do Brasil LTDA, conforme *Compedium Stantard Methods for the Examination of Dairy Products*.

4.2.2.10 Análise Sensorial

Para realização da coleta dos dados, a presente pesquisa foi submetida a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade de Pernambuco (CEP/CCS/UPE N° 2.196.966) (ANEXO 1). Os indivíduos que concordaram em participar do painel de degustadores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em conformidade com as normas da Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde (ANEXO 2).

57

O requeijão probiótico em pó reconstituído foi avaliado por 90 provadores, não

treinados, de ambos os sexos, maiores de 18 anos e que relataram interesse e/ou hábito de

consumir requeijão. Indivíduos com alergia ao leite ou com intolerância a lactose não foram

selecionados para participar da análise. As amostras dos produtos foram servidas aos

provadores, em cabines individuais, iluminadas com luz branca, à temperatura de

refrigeração (4 °C a 8 °C), em copos de poliestireno descartáveis de 50 mL, aleatoriamente

codificados com números de três dígitos, contendo aproximadamente 5 g de requeijão,

acompanhadas de água e bolacha para limpeza do palato.

Primeiramente, foi aplicado o teste triangular com o objetivo verificar se existia

diferença significativa entre o requeijão probiótico em pó reconstituído e o requeijão

cremoso tradicional. Cada avaliador recebeu três amostras codificadas e foram informados

que duas amostras eram iguais e uma era diferente. Em seguida, foi solicitado ao avaliador

provar as amostras da esquerda para a direita e identificar a diferente (ANEXO 3). As

amostras foram servidas em todas as combinações possíveis: AAB/ ABA/ BAA/ BBA/

BAB/ABB.

O teste de aceitação foi realizado para o requeijão em pó reconstituído utilizando-se

uma escala hedônica estruturada de nove pontos, variando de "desgostei extremamente (1)"

a "gostei muitíssimo (9)", onde os provadores avaliaram os atributos sensoriais de cor,

aroma, sabor, consistência e aparência (ANEXO 4). Para o cálculo do Índice de

Aceitabilidade do produto foi adotada a equação 4 (STONE; SIDEL, 2004):

IA (%) =
$$A \times 100$$

[Equação 4]

Onde: A = nota média obtida para o produto

B = nota máxima da escala hedônica

Para ser considerado aceito o índice de aceitação para cada atributo que deve ser no

mínimo 70% (TEIXEIRA; MEINERT; BARBETTA, 1987). A análise de intenção de

compra foi realizada empregando-se uma escala estruturada de cinco pontos, variando de

"certamente eu não compraria (1)" a "certamente eu compraria (5)" (ANEXO 4).

57

4.2.2.11 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Duncan, para comparação entre as médias, ao nível de 5% de probabilidade utilizando programa computacional Statistica for Windows 7.0 (STATSOFT, 2004).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Análise das variáveis de processo do requeijão probiótico em pó

Os resultados do processamento do requeijão probiótico em pó, em função da atividade de água, umidade, higroscopicidade e contagem de células viáveis, obtidas a partir do planejamento fatorial 2³ completo estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados obtidos do planejamento fatorial 2³ de requeijão em pó.

Ensaio	Temperatura do ar de secagem (°C)	Vazão mássica (l/h)	Gelatina (%)	Atividade de água	Umidade (%)	Higroscopicidade (g.100g ⁻¹)	Contagem de células viáveis (log UFC/g)
1	-1 (90)	-1 (0,4)	-1 (0,5)	0,16	2,58	9,55	8,36
2	1 (140)	-1 (0,4)	-1 (0,5)	0,14	2,20	10,79	7,41
3	-1 (90)	1 (0,8)	-1 (0,5)	0,25	3,20	8,92	9,20
4	1(140)	1 (0,8)	-1 (0,5)	0,20	2,84	9,96	8,39
5	-1 (90)	-1 (0,4)	1 (1)	0,12	2,35	9,83	9,18
6	1 (140)	-1 (0,4)	1 (1)	0,10	1,36	10,46	8,48
7	-1 (90)	1 (0,8)	1 (1)	0,19	2,38	10,34	9,19
8	1(140)	1 (0,8)	1 (1)	0,15	1,74	10,79	8,23
9	0 (115)	0 (0,6)	0 (0,75)	0,16	2,20	10,08	8,26
10	0 (115)	0 (0,6)	0 (0,75)	0,15	1,88	10,18	8,43
11	0 (115)	0 (0,6)	0 (0,75)	0,16	2,10	10,08	8,09

Tabela 3. Efeito das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes (Atividade de água (Aw); Umidade (%); Higroscopicidade (g.100g⁻¹) e Contagem de células viáveis (log UFC/g)).

	Aw	Umidade (%)	Higroscopicidade (g.100g ⁻¹)	Contagem de células viáveis (log UFC/g)
Bo	0,162	2,257	10,091	8,474
B ₁	-0,032	-0,592	0,360	-0,855
B ₂	0,067	NS	NS	NS
В3	-0,047	-0,747	1,030	NS
B ₁₂	NS	NS	0,385	NS
B ₁₃	NS	NS	-0,300	NS
B ₂₃	NS	NS	NS	NS
R ²	0,988	0,912	0,997	0,909

1: Temperatura (°C); 2: Vazão Mássica (l/h); 3: Gelatina (%); NS: não significativo (p>0,05) e R²: coeficiente de determinação

Todos os resultados (umidade, atividade de água, higroscopicidade e contagem de celulas viáveis) tiveram um bom ajuste, confirmado pela falta de ajuste não significativo (Tabela 4).

Tabela 4. Análise de variância para os resultados do planejamento fatorial 2³ do requeijão em pó.

Fontes de variação	Grau de liberdade (GL)	Umidade (%)			Higroscopicidade (g.100g ⁻¹)		
		Soma Quadrática (SQ)	Média Quadrática (MQ)	p	Soma Quadrática (SQ	Média Quadrática (MQ)	p
T(L)	1	0,702	0,702	0,036	0,259	0,259	0,012
V(L)	1	0,349	0,349	0,069	0,048	0,048	0,061
G(L)	1	1,117	1,117	0,023	2,122	2,122	0,001
TxV	1	0,017	0,017	0,508	0,296	0,296	0,011
TXG	1	0,099	0,099	0,194	0,180	0,180	0,017
VXG	1	0,090	0,090	0,208	0,018	0,018	0,141
Falta de ajuste	2	0,174	0,087	0,235	0,002	0,001	0,733
Erro Puro	2	0,054	0,027		0,006	0,003	
Total	10	2,602			2,931		

		Atividade de água (Aw)			Contagem de células viáveis (log UFC/g)		
T(L)	1	0,002	0,002	0,015	1,462	1,462	0,02
V(L)	1	0,009	0,009	0,004	0,312	0,312	0,08
G(L)	1	0,004	0,004	0,007	0,370	0,370	0,07
TxV	1	0,0003	0,0003	0,092	0,002	0,002	0,83
TXG	1	0,00001	0,00001	0,603	0,001	0,001	0,85
VXG	1	0,0001	0,0001	0,207	0,530	0,530	0,06
Falta de ajuste	2	0,0001	0,00005	0,353	0,210	0,105	0,216
Erro Puro	2	0,00007	0,000035		0,058	0,029	
Total	10	0,01558			2,945		

A atividade de água do requeijão probiótico em pó variou de 0,10 a 0,25 (Tabela 2) e está dentro da faixa considerada ótima para produtos atomizados e também dentro do limite recomendado para garantir a estabilidade microbiológica (< 0,6) (FAVARO-TRINDADE et al., 2010). Resultados semelhantes foram relatados por Medeiros et al. (2014) (0,19), por Reddy et al. (2013) (0,16 a 0,23) e por Castro-Cislaghi et al. (2012) (0,23), em iogurte probiótico atomizado, em leite de cabra em pó e em microcápsulas de *Bifidobacterium* Bb-12 produzidas com o soro de leite por *spray drying*, respectivamente.

Uma baixa atividade de água melhora a estabilidade do pó, pois dificulta as reações bioquímicas, além melhorar a viabilidade probiótica e reduzir o risco de contaminação durante o armazenamento, por ter menor quantidade de água livre disponível para o crescimento de células microbianas nos alimentos (HUANG et al., 2017; FAVARO-TRINDADE et al., 2010). As bactérias podem manter sua viabilidade, independentemente da atividade da água, mas para que haja crescimento requer $A_w > 0.8$ (VESTERLUND; SALMINEN; SALMINEN, 2012). Contudo, o excesso de secagem pode reduzir a estabilidade e a viabilidade das células probióticas (LI et al., 2011; WANG; YU; CHOU, 2004). Portanto, a atividade da água do produto final é um fator chave na manutenção da viabilidade probiótica em produtos secos (VESTERLUND; SALMINEN; SALMINEN, 2012).

A temperatura do ar de secagem e o percentual de gelatina foram as variáveis que tiveram maior influência sobre a atividade de água (Tabela 3). Na figura 3 verifica-se que maiores temperaturas e percentuais de gelatina resultaram em um produto com menor atividade de água.

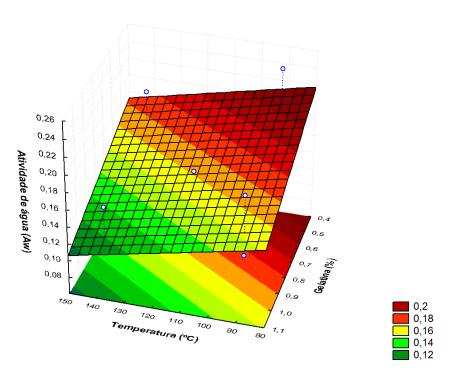


Figura 3. Superfície de resposta da Atividade de água em função da Temperatura (° C) e Gelatina (%)

Temperaturas elevadas resultam em uma maior taxa de transferência de calor para as partículas, maior evaporação de água livre e consequentemente uma menor atividade de água. O aumento da concentração do agente carreador eleva o conteúdo de sólidos na alimentação, reduzindo a quantidade de água livre a ser evaporada e seu teor no produto final (FAZAELI et al., 2012; FERRARI et al., 2012).

A vazão mássica também influenciou significativamente a atividade de água do pó, com menor valor desta variável resultando em menor atividade de água (Figura 4), uma vez que vazões mássicas menores acarretam um maior tempo de contato entre o produto e o ar, tornando mais eficiente o processo de transferência de calor (FAZAELI et al., 2012).

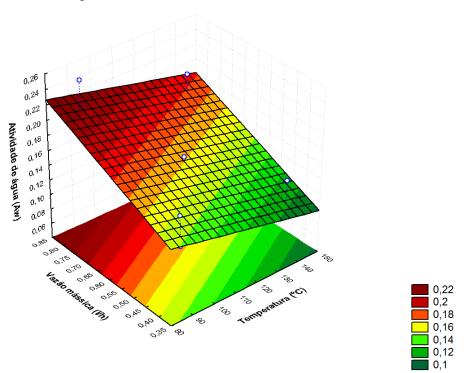


Figura 4. Superfície de resposta da Atividade de água em função da Vazão Mássica (l/h) e Temperatura (° C)

O teor de umidade de um pó é um parâmetro importante que influencia a estabilidade durante o armazenamento e, consequentemente, a qualidade e a vida útil do produto (RANADHEERAA et al., 2015; AVILA-REYES et al., 2014). O conteúdo de umidade do pó variou de 1,36 % a 3,20 %, valores próximos aos encontradas por Chever et al. (2017) (1,3% a 2,9%) e por Erbay et al. (2015) (1,35% a 2,97%) para leite e queijo em pó respectivamente. O baixo teor de umidade do pó, além de indicar que o produto obtido é estável, minimiza os risco relacionados ao desenvolvimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos, garantindo a qualidade do produto e uma vida útil prolongada.

É possível observar que a umidade etev o mesmo comportamento da Aw, ou seja, maior percentual de gelatina e maior temperatura resultaram em um pó com menor teor de umidade (Figura 5 e Tabela 3). Temperaturas elevadas implicam em maior transferência de calor entre o produto atomizado e o ar de secagem, e consequentemente, maior evaporação de água do produto, resultando em partículas com umidades mais baixas (RANADHEERAA et al., 2015; CALISKAN; DIRIM, 2013). A adição do agente carreador ao alimento antes da secagem por atomização aumenta o teor total de sólidos e reduz teor de umidade do pó produzido (QUEK; CHOK; SWEDLUND, 2007).

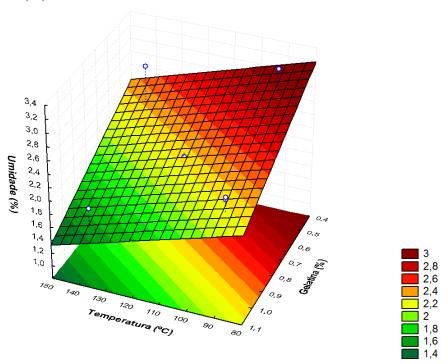
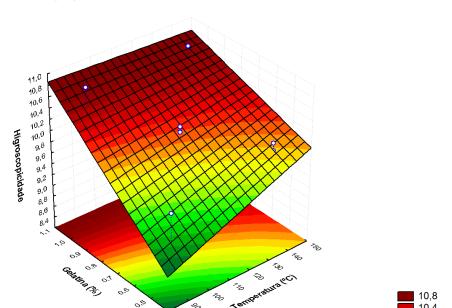


Figura 5. Superfície de resposta da umidade em função da Temperatura (°C) e Gelatina (%)

A higroscopicidade é a capacidade que certos materiais possuem de absorver água. Seu aumento resulta em maior atividade da água, e implica em uma grande quantidade de água disponível para reações químicas e crescimento microbiano (PAIM et al., 2016). A higroscopicidade do requeijão probiótico em pó variou de 8,92 a 10,79 g.100g⁻¹, valores menores do que os encontrados por Medeiros et al. (2014) (12,6 a 16,1 g.100g⁻¹), Silva et al. (2014) (10.23 a 19.76 g.100g⁻¹) e por Tonon; Brabet e Hubinger (2008) (12,48 a 15,79 g.100g⁻¹) ao estudarem a secagem por atomização em iogurte probiótico, em polpa de umbu e em açaí atomizados, respectivamente, utilizando a maltodextrina como agente carreador.

Observa-se na Tabela 3 que o percentual de gelatina teve maior influência sobre a higroscopicidade. Um menor percentual de gelatina e uma temperatura mais baixa conferiram uma menor higroscopicidade ao pó (Figura 6). Um aumento na temperatura de entrada resulta em um aumento da higroscopicidade, pois altas temperaturas promovem maior evaporação da água, reduzindo a umidade dos pós e, inversamente, aumenta a sua higroscopicidade, isto é, aumentando sua capacidade de adsorver a umidade do ambiente (CASTRO-MUNOZ; BARRAGAN-HUERTA; YANEZ-FERNANDEZ, 2015).

10



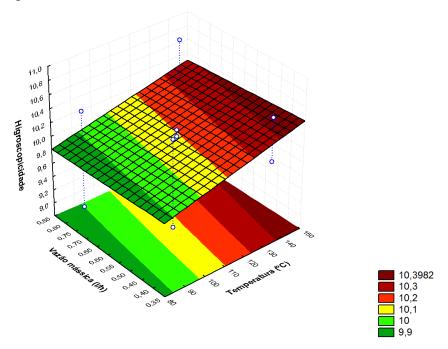
o. 8

Figura 6. Superfície de resposta da Higroscopicidade em função da Gelatina (%) e Temperatura (°C).

A gelatina é um material com baixa higroscopicidade e utilizada como agente encapsulante, no sentido de reduzir a higroscopicidade de produtos desidratados em *spray dryer*. No entanto, a baixa higroscopicidade do pó pode ser atribuída a maltodextrina, que possui uma estrutura ramificada, o que facilita a adsorção de água (PAIM et al., 2016). Em geral, os pós alimentares com maior concentração de maltodextrina tendem a ser menos higroscópicos (MEDEIROS et al., 2014). O uso de agentes carreadores, tais como a maltodextrina e a gelatina, melhoram o processo de secagem, tornando-o mais eficaz. Sendo, o composto gelatina-maltodextrina recomendado para o encapsulamento de ingredientes alimentares (CASTRO-MUÑOZ; BARRAGAN-HUERTA; YANEZ-FERNANDEZ, 2015), já que as microcápsulas formadas exclusivamente por gelatina são fisicamente fracas e propensas a rápida degradação enzimática por enzimas digestivas (NAWONG et al., 2016). Ressalte-se também a utilização de quantidades mínimas destes componentes, a fim de evitar alterações nas propriedades e diminuir o custo do produto (CALISKAN; DIRIM, 2013).

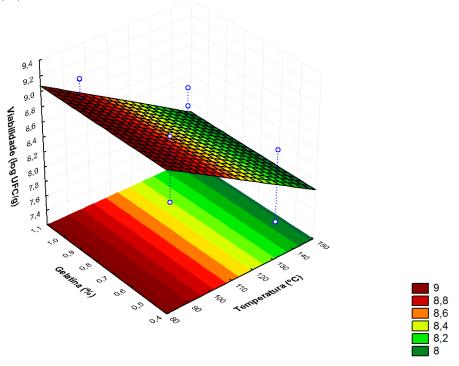
Pode-se observar também que a vazão mássica não teve influência na higroscopicidade (Figura 7).

Figura 7. Superfície de resposta da Higroscopicidade em função da Vazão mássica (l/h) e Temperatura (° C)



No requeijão em pó a contagem de células viáveis variou de 7,41 a 9,20 log UFC / g (Tabela 2), havendo uma redução de 0,3 a 2,09 ciclos logarítmico, quando comparado ao valor obtido no requeijão cremoso não atomizado que foi de 9,5 ± 0,2 log UFC / g. Outros autores também observaram esta redução em produtos obtidos por atomização (PAIM et al., 2016; RANADHEERA et al., 2015; MEDEIROS et al., 2014; PEREIRA et al., 2014). Apenas a temperatura mostrou influência significativa na viabilidade celular (Tabela 3), quanto menor a temperatura maior foi a viabilidade (Figura 8). Para Guerin et al. (2017) a temperatura do ar de saída deve ser cuidadosamente selecionada para melhorar a sobrevivência de probióticos na secagem por atomização, já que elevadas temperaturas de saída diminuem a viabilidade celular.

Figura 8. Superfície de resposta da Viabilidade em função da Temperatura (°C) e Gelatina (%).



Apesar da redução da viabilidade celular, esta manteve-se no nível recomendado pela FAO/ OMS (2003) e pela indústria alimentar que, em geral, indica um mínimo de 6 log UFC / g para o consumo de bactérias probióticas nos alimentos, necessário para produzir os possíveis efeitos benéficos ao consumidor (SIDIRA et al., 2017; KARIMI; MORTAZAVIAN; DA CRUZ, 2011). A legislação brasileira vigente estabelece uma quantidade mínima viável situada na faixa de 10⁸ a 10⁹ UFC de microrganismos probióticos, que corresponde a 8 e 9 log UFC por porção pronta para o consumo, respectivamente, para que o mesmo seja considerado probiótico. No entanto, valores menores podem ser aceitos, desde que sua eficácia seja comprovada (BRASIL, 2008). L. rhamnosus mostrou maior tolerância às condições do trato gastrointestinal quando comparado com outros microrganismos probióticos, melhor sobrevivência, quando adicionado em alimentos funcionais (LANDERSJÖ et al., 2002), possui o título de Presunção Qualificada de Segurança pela European Food Safety Authority (EFSA), além de ser Geralmente Reconhecido como Seguro (GRSA) pela US Food and Drug Administration (FDA) (SALVETTI; O'TOOLE, 2017). Neste contexto, todos os ensaios são potencialmente probióticos.

Um dos principais fatores que determinam a sobrevivência microbiana durante a secagem por atomização é a capacidade da estirpe suportar temperaturas elevadas (LIU et al., 2015; GARDINER et al., 2000), já que na secagem por atomização as células probióticas são expostas a temperaturas elevadas, além de cisalhamento mecânico, desidratação e pressão osmótica, necessárias para a desidratação do produto, o que pode causar inativação térmica das células (TRIPATHI; GIRI, 2014; PAÉZ et al., 2012). Sendo de extrema importância a escolha da estirpe bacteriana, que deve ser adequada para a produção industrial em larga escala, com a capacidade de sobreviver e manter sua funcionalidade durante a produção e armazenamento como culturas congeladas ou secas. Já que as características de resistência de uma estirpe exercem enorme influência na viabilidade probiótica final dos pós secos por atomização (HUANG et al., 2017; TRIPATHI; GIRL, 2014). Este resultado mostra que o *L. rhamnosus* ATCC 9595 tem a capacidade de sobreviver a secagem por atomização nas condições utilizadas neste estudo.

Ainda, o que pode ter contribuído, seria a presença de componentes como maltodextrina, proteínas do leite e gordura no requeijão elaborado, que segundo Medeiros et al. (2014), a presença destas substâncias são fatores de proteção para os microrganismos durante o processo de secagem.

Todos os ensaios apresentaram atividade de água dentro do limite recomendado para garantir a estabilidade microbiológica (< 0,6) (FAVARO-TRINDADE et al., 2010), conteúdo de umidade e higroscopicidade com valores semelhantes aos relatados em outros estudos para produtos atomizados e viabilidade na faixa recomendada para produtos probióticos, com excessão do ensaio 2 (BRASIL, 2008). Assim, o critério utilizado para selecionar o ensaio do planejamento experimental com melhores resultados quanto as condições de secagem foi baseado na menor temperatura de secagem com boa viabilidade celular. Portanto, foi selecionado o ensaio 5 (Figura 9), apontado como favorável para a secagem por atomização do requeijão probiótico.

Figura 9. Requeijão probiótico em pó obtido pelo ensaio 5 (90 °C, vazão 0,4L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE)





Fonte: Luna, 2017.

4.3.3 Caracterização físico-química

Os resultados da composição físico-química do requeijão cremoso tradicional e em pó estão apresentados na Tabela 5. Os teores de cinzas, proteína e lipídeos do requeijão em pó foram superiores aos do requeijão cremoso tradicional. Resultado esperado devido à concentração dos compostos após a atomização. Houve redução no valor de carboidratos, provavelmente, devido a fermentação láctea pelo *L. rhamnosus*, que produz ácido lático a partir da oxidação dos carboidratos. A umidade foi reduzida no requeijão em pó, resposta já esperada por se tratar de um produto em pó. O pó produzido apresentou uma significativa redução da atividade de água (Aw), uma vez que a exposição do produto a temperaturas elevadas promove a evaporação da água livre presente nas partículas.

Tabela 5. Caracterização físico-química (média ± desvio padrão) do requeijão cremoso tradicional e do requeijão probiótico em pó obtido por *spray dryer*.

Determineções	Requeijão cremoso	Requeijão probiótico	
Determinações	tradicional	em pó (ensaio 5)	
Umidade (%)	$42,34 \pm 0,91a$	$1,36 \pm 0,05b$	
Proteínas (g.100 g ⁻¹)	$5,03 \pm 0,5b$	$14,67 \pm 0,2a$	
Lipídeos (g.100 g ⁻¹)	$22,87 \pm 2,07b$	$53,60 \pm 1,55a$	
Cinzas (g.100 g ⁻¹)	$1,33 \pm 0,15b$	$5,27 \pm 0,06a$	
Carboidratos (g.100 g ⁻¹)	$28,43 \pm 1,16a$	$25,01 \pm 1,60b$	
Atividade de água	$0.9\pm0.0a$	$0.1 \pm 0.0b$	
рН	$6.3 \pm 0.02a$	$6.0 \pm 0.03b$	
Acidez Titulável (g ácido láctico.100 g ⁻¹)	$0,51 \pm 0,01b$	$1,04 \pm 0,04a$	
Cor L*	$83,39 \pm 0,3b$	$92,2 \pm 0,4a$	
a*	$-2,95 \pm 0,03a$	$-1,44 \pm 0,1b$	
b*	$14,45 \pm 0,03b$	$17,69 \pm 0,3a$	
Diferença de Cor (ΔE*)	5,43	$\pm 1,83$	

Médias seguida de letras iguais na horizontal não diferem significativamente ao nível de 5% de significância pelo teste "t" de student. Ensaio 5 (90 °C, vazão 0,4L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE). L*: luminosidade da amostra do requeijão probiótico atomizado; a*: intensidade da cor vermelha ou verde da amostra do requeijão probiótico atomizado; b*: intensidade da cor amarela ou azul da amostra do requeijão probiótico atomizado.

O requeijão probiótico em pó teve um maior teor de ácido láctico decorrente da atividade da bactéria láctica adicionada, a qual manteve seu metabolismo ativo até atomização. Em concordância com o aumento da acidez, houve redução do pH do requeijão probiótico em pó (Tabela 5).

A medida de cor é um dos mais importantes parâmetros de qualidade em produtos alimentícios, pois é um dos primeiros atributos que o consumidor avalia para aceitar ou rejeitar um alimento (LAO; GIUSTI, 2017; LEÓN et al., 2006) e reflete a atratividade sensorial e propriedades de qualidade dos pós produzidos pela secagem por atomização (ATALAR; DERVISOGLU, 2015; QUEK; CHOK; SWEDLUND, 2007).

O requeijão probiótico em pó (Figura 10) apresentou o valor de luminosidade (L*) e das coordenadas a* e b* superiores ao obtido do requeijão cremoso tradicional (Tabela 5). Este resultado pode ser atribuído à adição da maltodextrina, que possui coloração branca e,

desse modo, dilui os pigmentos presentes no produto, alterando a sua coloração (FERRARI et al., 2012).

Requeijão cremoso tradicional

Requeijão probiótico em pó

Figura 10. Requeijão cremoso antes e após a secagem por atomização

Fonte: Luna, 2017.

Resultados semelhantes para a luminosidade foram obtidos na atomização de iogurte (MEDEIROS et al., 2014), suco de frutas de jamun (SANTHALAKSHMY et al., 2015) e sumagre (CALISKAN; DIRIM, 2013), no entando, nos estudos citados houve uma diminuição dos valores de a* e b* com o aumento da concentração de maltodextrina. A tendência à cor amarela (b*) e vermelha (a*) pode ser atribuída aos componentes do produto, como elevado teor de gordura. A diferença de cor (ΔΕ) teve uma variação (5,43 ±1,83), porém não foi desfavorável, já que quando reconstituído preservou as características do produto original.

Na Tabela 6 estão apresentados os resultados de densidade aparente, solubilidade e higroscopicidade obtidos do requeijão probiótico em pó.

Tabela 6. Caracterização física do requeijão probiótico em pó produzido com temperatura de 90 °C, vazão mássica 0,4 L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE

Determinações	Média ± Desvio Padrão		
Densidade Aparente (g/mL)	0.33 ± 0.01		
Solubilidade (%)	$78,\!48 \pm 0,\!32$		
Higroscopicidade	$9,83 \pm 0,11$		

O conhecimento da densidade de um alimento é um parâmetro importante para o transporte, armazenamento, embalagem e processo de mistura (AVILA-REYES et al., 2014). Pós com maior densidade podem ser armazenados em grandes quantidades em recipientes menores quando comparados a produtos com menor densidade. Além disso, maior densidade aparente pode indicar menor quantidade de ar existente nos espaços entre as partículas, o que pode ajudar a prevenir a oxidação lipídica (CARNEIRO et al., 2013).

A densidade aparente do requeijão probiótico em pó foi de 0,33 g/mL (Tabela 6), valor um pouco superior ao descrito por Erbay et al. (2015) (0,215 a 0,261 g / mL) e dentro da faixa encontrada por Chever et al. (2017) (0,33 a 0,47 g / mL), para queijo e leite atomizados, respectivamente. A maltodextrina pode induzir acumulação e aprisionamento do ar dentro da partícula, tornando-a menos densa e porosa (GOULA; ADAMOPOULUS, 2008). Caliskan e Dirim (2013), ao estudar os efeitos da adição de diferentes quantidades de maltodrextina durante a secagem por atomização de extrato de sumagre, observaram que um aumento na concentração de maltodextrina levou a uma diminuição na densidade dos pós, provavelmente devido ao baixo teor de umidade dos pós secos. Outro fator que influencia a densidade de pós secos por atomização é a temperatura. Uma temperatura de entrada elevada promove uma diminuição da densidade do pó (MISHRAA; MISHRAB; MAHANTAA, 2014).

A solubilidade é o critério mais confiável para avaliar o comportamento do pó em solução aquosa, uma vez que os pós alimentares devem possuir boa solubilidade para ser útil e funcional (MEDEIROS et al., 2014; CALISKAN; DIRIM, 2013; CAPARINO, et al., 2012). A solubilidade do requeijão atomizado foi de 78,48%, resultado semelhante aos dados encontrados por Silva et al. (2014) (80,28%) em polpa de umbu atomizada, por Medeiros et al. (2014) em iogurte probiótico atomizado (68,2% a 81,1%) e por Castro-Munoz, Barragan-Huerta e Yanez-Fernandez (2015), em suco de pera atomizado (67,71% a 99,71%). Características da matéria, condições de secagem e tipo de agente carreador influenciam diretamente a solubilidade de pós de alimentos secos por atomização (SILVA et al., 2014). A elevada solubilidade do pó de requeijão pode ser atribuída à solubilidade dos agentes encapsulantes em água, principalmente da maltodextrina (CASTRO-MUNOZ; BARRAGAN-HUERTA; YANEZ-FERNANDEZ, 2015; CANO-CHAUCA et al., 2005).

A higroscopicidade apresentou-se dentro da faixa relatada por outros autores, como já discutido no item 4.3.1.

4.3.2 Análise Sensorial

Os ensaios apresentaram ausência de coliformes a 45°C, estafilococos coagulase positiva e *Salmonella* sp., evidenciando as boas práticas de fabricação e qualidade da matéria-prima utilizada, sendo, portanto, aptos para utilização na análise sensorial.

4.3.2.1 Teste Triangular

O teste triangular foi utilizado para determinar se existia diferença entre o requeijão cremoso tradicional e o requeijão probiótico em pó reconstituído. De acordo com a tabela de Bento et al (2015) para 90 respostas são necessárias no mínimo 45 respostas corretas para obter 0,1% de significância. Nesta pesquisa obteve-se 81 respostas certas, ou seja, houve diferença significativa entre as amostras. Entretanto, tal diferença não se refletiu em uma característica negativa, como constatado através dos resultados de aceitação e intenção de compra do produto.

4.3.2.2 Teste de Aceitação e Intenção de compra

As médias das notas atribuídas pelos prováveis consumidores para cada atributo, cor, aroma, sabor, consistência e aparência do requeijão probiótico em pó reconstituído, estão apresentados na Figura 11. As médias das notas variaram do termo hedônico "gostei moderadamente" ao "gostei muito".

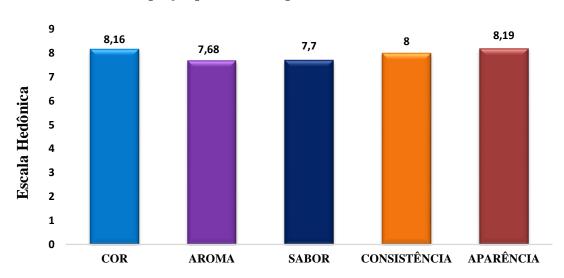


Figura 11. Notas médias dos atributos avaliados pelo teste de aceitação do requeijão probiótico em pó reconstituído (ensaio 5)

Ensaio 5 (90 °C, vazão 0,4L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE)

De acordo com o Teixeira; Meinert; Barbetta (1987) para que o produto seja considerado aceito, em termos de suas propriedades sensoriais, é necessário que este obtenha um Índice de Aceitabilidade (IA) de no mínimo 70%, o que pode ser verificado no ensaio avaliado, já que apresentaram IA superior ao mínimo estabelecido para todos os atributos avaliados (Figura 12).

100,00% 90,67% 91% 88.89% 85,56% 85,33% 90,00% 80,00% 70,00% 60,00% 50,00% 40,00% 30,00% 20,00% 10,00% 0,00% CONSISTÊNCIA APARÊNCIA COR **AROMA SABOR**

Figura 12. Índice de aceitabilidade do requeijão probiótico em pó reconstituído (ensaio 5)

Ensaio 5 (90 °C, vazão 0,4L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE)

Com base nas médias das notas para a aceitabilidade e cálculo do IA, pode-se verificar que o requeijão probiótico em pó reconstituído obtido pelo ensaio 5, apresentou boa aceitabilidade.

Os percentuais da intenção de compra do requeijão probiótico em pó reconstituído estão apresentados na Figura 13.

Figura 13. Percentual do Teste de Intenção de Compra do Requeijão Probiótico em pó reconstituído (ensaio 5)



0,00% 10,00% 20,00% 30,00% 40,00% 50,00%

Ensaio 5 (90 °C, vazão 0,4L/h, 1% de gelatina e 10% de maltodextrina 10 DE) $\bf 73$

Os resultados obtidos a partir da análise de intenção de compra do requeijão probiótico em pó reconstituído sugerem um produto com potencial de mercado, tendo em vista que 87,78% dos prováveis consumidores indicaram que comprariam este produto se este estivesse à venda. Dentre este escopo de 87,78%, um percentual de 46,67% dos provadores afirmaram que "certamente comprariam" (nota 5) e 41,11% que "provavelmente comprariam" (nota 4). Dos provadores envolvidos na pesquisa (90 avaliadores) nenhum indicou que certamente não compraria (nota 1) ou provavelmente não compraria (nota 2) e apenas 12,22% indicaram que "talvez comprariam/ talvez não comprariam" (nota 3).

O teste de intenção de compra corroborou com os resultados de aceitação sensorial, realizado através de escala de preferência hedônica, sugerindo que o produto desenvolvido de fato apresenta boa qualidade sensorial e boas perspectivas de mercado caso fosse comercializado.

4.4. CONCLUSÃO

Conclui-se que as condições operacionais do ensaio 5, com temperatura do ar de entrada 90 °C, vazão de alimentação 0,4 L/h, gelatina a 1% e maltodextrina 10 DE 10%, favoreceram uma atividade de água e umidade reduzidas, além de uma contagem de células viáveis de acordo com a legislação brasileira e com os parâmetros internacionais, suficiente para caracterizá-lo como potencialmente probiótico. O requeijão probiótico em pó reconstituído obteve uma boa aceitação sensorial pelos prováveis consumidores e as microcápsulas revelaram características físico-químicas favoráveis. Desta forma, a atomização para processamento do requeijão probiótico apresenta-se como uma alternativa viável de elaboração de um novo produto alimentício com características funcionais e tecnológicas promissoras para a indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. 17th ed. Washington, p.1115, 2002.

ATALAR, I.; DERVISOGLU, M. Optimization of spray drying process parameters for kefir powder using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 751-757, 2015.

AVILA-REYES, S. V.; GARCIA-SUAREZ, F. J.; JIMÉNEZ, M. T.; MARTÍN-GONZALEZ, M. F. S.; BELLO-PEREZ, L. A. Protection of *L. rhamnosus* by spray-drying using two prebiotics colloids to enhance the viability. **Carbohydrate Polymers**, v. 102, p. 423–430, 2014.

BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; JULIANO, P. Physical and chemical properties of food powders. In: ONWULATA, C. **Encapsulated and powdered foods**. Boca Raton: Taylor & Francis, p.39-71, 2005.

BANSAL, S.; MANGAL, M.; SHARMA, S. K.; YADAV, D. N.; GUPTA, R. K. Optimization of process conditions for developing yoghurt like probiotic product from peanut. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 6-12, 2016.

BEHBOUDI-JOBBEHDAR, S.; SOUKOULIS, C.; YONEKURA, L.; FISK, I. Optimization of spray-drying process conditions for the production of maximally viable microencapsulated *L. acidophilus* NCIMB 701748. **Drying Technology**, v. 31, p.1274-1283, 2013.

BENTO, R. A.; ANDRADE, S. A. C.; SILVA, A. M. A. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Ed.UFRPE, 2015. 138p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 10 jan. Seção I, p.45-53, 2001

BRITISH STANDARDS INSTITUTION (1989) British Standard BS 696. Specification for Gerber method for the determination os fat in milk and milk products. Part 2. British Standards Institution, London, UK.

CAI, Y. Z.; CORKE, H. Production and properties of spray dried amaranthus betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, v.65, p.1248-1252, 2000.

CALISKAN, G.; DIRIM, S. N. The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91, p. 539-548, 2013.

CANO-CHAUCA, M.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M.; CAL-VIDAL, J. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.6, p. 420–428, 2005.

CAPARINO, O. A.; TANG, J.; NINDO, C. I.; SABLANI, S. S.; POWERS, J. R.; FELLMAN, J. K. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. **Journal of Food Engineering**, v.111, p. 135–148, 2012.

CARNEIRO, H. C. F.; TONON, R. V.; GROSSO, C. R.F., HUBINGER, M. D. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, p. 443–451, 2013.

CASTRO-CISLAGHI, F. P.; SILVA, C. R.; FRITZEN-FREIRE, C. B.; LORENZ, J. G.; SANT'ANNA, E. S. *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. **Journal of Food Engineering**, v.113, p. 186–193, 2012.

CASTRO-MUNOZ, R.; BARRAGAN-HUERTA, B. E.; YANEZ-FERNANDEZ, J. Use of gelatin-maltodextrin composite as an encapsulation support for clarified juice from purple cactus pear (*Opuntia stricta*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 242-248, 2015.

CAVALHEIRO, C. P.; RUIZ-CAPILLAS, C.; HERRERO, A. M.; JIMENEZ-COLMENERO, F.; MENEZES, C. R.; FRIES, L. L. M. Application of probiotic delivery systems in meat products - Review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 46, p. 120-131, 2015.

CÉSAR, J.; PAOLI, M.; ANDRADE, J. C. A determinação da densidade de sólidos e líquidos. **Chemkeys** – Universidade Estadual de Campinas / Instituto de Química, 2004.

CHEVER, S.; MEJEAN, S.; DOLIVET, A.; MEI, F.; DEN BOER, C. M.; LE BARZIC, G.; JEANTET, R.; SCHUCK, P. Agglomeration during spray drying: Physical and rehydration properties of whole milk/sugar mixture powders. **LWT - Food Science and Technology**, v.83, p. 33-41, 2017.

DALIRI, E. B.; LEE, B. H. New perspectives on probiotics in health and disease. **Food Science and Human Wellness**, v.4, p. 56–65, 2015.

ERBAY, Z.; KOCA, N.; KAYMAK-ERTEKIN, F.; UCUNCU, M. Optimization of spray drying process in cheese powder production. **Food and Bioproducts Processing**, v. 93, p. 156–165, 2015.

FAO/WHO. (2003). Standard for fermented milks. Codex standard 243 (pp. 1-8). Rome: FAO/WHO.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; SANTANA, A.S.; MONTERREY-QUINTERO, E.S.; TRINDADE, M.A.; NETTO, F.M. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. **Food Hydrocolloids**, v. 24, p. 336–340, 2010.

FAZAELI, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A.K.; OMID, M. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v.90, p.667–675, 2012.

FERRARI, C. C.; RIBEIRO, C. P.; AGUIRRE, J. M. *Spray drying* of blackberry pulp using maltodextrin as carrier agent. **Brazilian Journal Food Technology**, v.15, p.157-165, 2012.

GALLARDO, G.; GUIDA, L.; MARTINEZ, V.; LÓPEZ, M. C.; BERNHARDT, D.; BLASCO, R.; PEDROZA-ISLAS, R.; HERMIDA, L.G. Microencapsulation of linseed oil by spray drying for functional food application. **Food Research International**, v.52, p. 473–482, 2013.

GARDINER, G. E.; O'SULLIVAN, E.; KELLY, J.; AUTY, M. A. E.; FITZGERALD, G. F.; COLLINS, J. K.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Comparative Survival Rates of Human-Derived Probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* Strains during Heat Treatment and Spray Drying. **Applied Environmental Microbioly**, v. 66, p.2605–2612, 2000.

GEBARA, C.; CHAVES, K.S.; RIBEIRO, M. C. E.; SOUZA, F. N.; GROSSO, C. R. F.; GIGANTE, M.L. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin—whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 51, p. 872–878, 2013.

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v.40, p. 1107–1121, 2007.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULUS, K. G. Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. Powder properties. **Drying Journal**, v. 26, p. 726–737, 2008.

GROSSO, C. R. F.; FÁVARO-TRINDADE, C. S. Stability of free and immobilized *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in acidified milk and of immobilized B. lactis in yoghurt. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 151–156, 2004.

GUERIN, J.; PETIT, J.; BURGAIN, J.; BORGES, F.; BHANDARI, B.; PERROUD, C.; DESOBRY, S.; SCHER, J.; GAIANI, C. *Lactobacillus rhamnosus* GG encapsulation by spray-drying: Milk proteins clotting control to produce innovative matrices. **Journal of Food Engineering**, v. 193, p. 10-19, 2017.

HUANG, S.; VIGNOLLES, M.; CHEN, X. D.; LOIR, Y. L.; JAN, G.; SCHUCK, P.; JEANTET, R. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends** in **Food Science and Technology**, v. 63, p.1-17, 2017.

IACONELLI, C.; LEMETAIS, G.; KECHAOU, N.; CHAIN, F.; BERMÚDEZ-HUMARÁN, L. G.; LANGELLA, P.; GERVAIS, P.; BENEY, L. Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities. **Journal of Biotechnology**, v. 214, p.17–26, 2015

KANMANI, P., SATISH KUMAR, R., YUVARAJA, N., PAARIA, K.A., PATTUKUMARA, V., ARULA, V. Probiotics and its functionally valuable products- A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.53, p. 641-658, 2013.

KARIMI, R.; MORTAZAVIAN, A. M.; DA CRUZ, A.G. Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: a review. **Dairy Science and Technology**, v. 91, p. 283–308, 2011.

KRASAEKOOPT, W.; BHANDARI, B.; DEETH, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. **International Dairy Journal**, v.14, p.737–743, 2004.

LANDERSJÖ, C.; YANG, Z.; HUTTUNEN, E.; WIDMALM, G. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103). **Biomacromolecules,** v. 3, p. 880-884, 2002

LAO, F.; GIUSTI, M. M. The effect of pigment matrix, temperature and amount of carrier on the yield and final color properties of spray dried purple corn (*Zea mays* L.) cob anthocyanin powders. **Food Chemistry**, v. 227, p. 376–382, 2017.

LEÓN, K.; MERY, D.; PEDRESCHI, F.; LEÓN, J. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. **Food Research International**, p.1084-1091, 2006.

LI, X. Y.; CHENB, X. G.; SUNA, Z. H.; PARKC, H. J.; CHAC, D. S. Preparation of alginate/ chitosan/carboxymethyl chitosan complex microcapsules and application in *Lactobacillus casei* ATCC 393. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1479–1485, 2011.

LIU, H.; GONG, J.; CHABOT, D.; MILLER, S. S.; CUI, S.W.; MA, J.; ZHONG, F.; WANG, Q. Protection of heat-sensitive probiotic bacteria during spray-drying by sodium caseinate stabilized fat particles. **Food Hydrocolloids**, v.51, p. 459-467, 2015.

MADUREIRA, A. R.; AMORIM, M.; GOMES, A. M.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v.44, p. 465–470, 2011.

MARTÍN, M. J.; LARA-VILLOSLADA, F.; RUIZ, M. A.; MORALES, M. E. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 27, p. 15–25, 2015.

MEDEIROS, A. C. L.; THOMAZINI, M.; URBANO, A.; CORREIA, R. T. P.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Structural characterisation and cell viability of a spray dried probiotic yoghurt produced with goats' milk and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BI-07). **International Dairy Journal**, v. 39, p. 71-77, 2014.

MISHRA, P.; MISHRA, S.; MAHANTA, C. L. Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. **Food and Bioproducts Processing**, v. 92, p. 252–258, 2014.

NAWONG, S.; OONSIVILAI, R.; BOONKERD, N.; HANSEN, L. T. Entrapment in food-grade transglutaminase cross-linked gelatin-maltodextrin microspheres protects Lactobacillus spp. during exposure to simulated gastro-intestinal juices. **Food Research International**, v. 85, p. 191–199, 2016.

PAÉZ, R.; LAVARI, L.; VINDEROLA, G.; AUDERO, G.; CUATRIN, A.; ZARITZKY, N.; REINHEIMER, J. Effect of heat-treatment and spray drying on lactobacilli viability and resistance to simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, v. 48, p. 748-754, 2012.

PAIM, D. R. S. F.; COSTA, S. D. O.; WALTER, E. H. M.; TONON, R. V. Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* M.) juice by spray drying. **LWT** - **Food Science and Technology**, v. 74, p. 21-25, 2016.

PEREIRA, A. L. F.; ALMEIDA, F. D. L.; LIMA, M. A.; COSTA, J. M. C.; RODRIGUES, S. Spray-drying of probiotic cashew apple juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, p. 2492-2499, 2014.

PEREIRA, A. L. F.; ALMEIDA, F. D. L.; JESUS, A. L. T.; COSTA, J. M. C.; RODRIGUES, S. Storage Stability and Acceptance of Probiotic Beverage from Cashew Apple Juice. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, p.3155–3165, 2013.

PINTO, S. S.; FRITZEN-FREIRE, C. B.; BENEDETTI, S.; MURAKAMI, F. S.; PETRUS, J.C.C.; PRUDÊNCIO, E. S.; AMBONI, R. D. M. C. Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect *Bifidobacterium*-BB-12 microencapsulated by spray drying. **Food Research International**, v. 67, p. 400–408, 2015.

QUEK, S. Y.; CHOK, N. K.; SWEDLUND, P. The physicochemical properties of spraydried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing**, v. 46, p. 386–392, 2007.

RANADHEERAA, C. S.; EVANS, C. A.; ADAMS, M. C.; BAINES, S. K. Short communication Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Propionibacterium jensenii* 702 by spray drying in goat's milk. **Small Ruminant Research**, v. 123, p.155–159, 2015.

REDDY, R. S.; RAMACHANDRA, C. T.; HIREGOUDAR, S.; NIDONI, U.; RAM, J.; KAMMAR, M. Influence of processing conditions on functional and reconstitution

properties of milk powder made from Osmanabadi goat milk by spray drying. **Small Ruminant Research**, v. 119, p. 130–137, 2014.

ROCCIA, P.; MARTÍNEZ, M. L.; LLABOT, J. M.; RIBOTTA, P. D. Influence of spraydrying operating conditions on sunflower oil powder qualities. **Powder Technology**, v. 254, p. 307–313, 2014.

RUTELLA, G.S.; TAGLIAZUCCHI, D.; SOLIERI, L. Survival and bioactivities of selected probiotic lactobacilli in yogurt fermentation and cold storage: New insights for developing a bifunctional dairy food. **Food Microbiology**, v. 60, p.54-61, 2016.

SALVETTI, E.; O'TOOLE, P. W. When regulation challenges innovation: The case of the genus Lactobacillus. **Trends in Food Science and Technology**, v. 66, p. 187-194, 2017.

SANTHALAKSHMY, S.; BOSCO, S. J. D.; FRANCIS, S.; SABEENA, M. Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. **Powder Technology**, v. 274, p. 37–43, 2015.

SANTIVARANGKNA, C.; KULOZIK, U.; FOERST, P. Alternative Drying Processes for the Industrial Preservation of Lactic Acid Starter Cultures. **Biotechnology Progress**, v. 23, p. 302-315, 2007.

SHAH, N.P. Functional cultures and health benefits - Review. **International Dairy Journal,** v. 17, p. 1262–1277, 2007.

SIDIRA, M.; SANTARMAKI, V.; KIOURTZIDIS, M.; ARGYRI, A.A.; PAPADOPOULOU, O. S.; CHORIANOPOULOS, N.; TASSOU, C.; KALOUTSAS, S.; GALANIS, A.; KOURKOUTAS, Y. Evaluation of immobilized *Lactobacillus plantarum* 2035 on whey protein as adjunct probiotic culture in yoghurt production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 137-146, 2017.

SILVA, A. S.; MACIEL, M. I. S.; MOURA, N. P.; JUNIOR, M. E. S.; MELO, J. V.; AZOUBEL, P. M.; MELO, E. A. Influence of process conditions on drying by atomization pulp umbu. **Journal Bioprocessing Biotechniques**, v.4, p.2-9, 2014.

SILVA, V.M.; VIEIRA, G.S.; HUBINGER, M.D. Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. **Food Research International,** v. 61, p. 132–143, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª ed. São Paulo: Varela; 2010.

STATSOFT. Computer program manual. Tulsa: Statsoft, 2004. (Statsoft Statistica for Windows 6.0).

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 3^a ed. New York: Academic Press. 2004. 408 p.

TEIXEIRA E.; MEINERT, E.; BARBETTA, P. A. Análise sensorial dos alimentos, UFSC,1987.

TONON R.V; BRABET C.; HUBINGER M.D. Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 88, p. 411-418, 2008.

TONON, R.V.; GROSSO, C. R.F.; HUBINGER, M.D. Influence of emulsion composition and inlet air temperature on the microencapsulation of flaxseed oil by spray drying. **Food Research International**, v. 44, p. 282–289, 2011.

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.

VESTERLUND, S.; SALMINEN, K.; SALMINEN, S. Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, p. 319–321, 2012.

WANG, Y.; YU, R.; CHOU, C. Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage **International Journal** of Food Microbiology, v. 93, p. 209 – 217, 2004.

WANG, L.; YU, X.; XU, H.; AGUILAR, Z.P.; WEI, H. Effect of skim milk coated inulinalginate encapsulation beads on viability and gene expression of *Lactobacillus plantarum* during freezedrying. **LWT - Food Science and Technology**, v.68, p.8-13, 2016.

ANEXOS

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/ PROPEGE/



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: MICROENCAPSULAÇÃO DE REQUEIJÃO CREMOSO PROBIÓTICO POR SPRAY

Pesquisador: IRIS REGINA PIMENTEL DE LUNA

Área Temática: Versão: 2

CAAE: 68429217.0.0000.5207

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.196.966 Apresentação do Projeto:

A demanda dos consumidores por uma alimentação saudável e equilibrada e o interesse pelos produtos denominados funcionais é cada vez mais crescente. Enquadram-se como alimentos funcionais os que contenham probióticos, dentre os quais, destacam-se os do gênero Lactobacillus. Neste contexto, a microencapsulação de células probióticas tem sido amplamente estudada como uma técnica para melhorar a estabilidade destes microrganismos protegendo-os de ambientes desfavoráveis. Entre as tecnologias de microencapsulação frequentemente usadas, o spray drying é a mais efetiva para a produção industrial em larga escala por ser um processo contínuo, rápido, custo relativamente baixo e alta reprodutibilidade. É uma técnica adequada para componentes sensíveis ao calor (MISHRA; MISHRA; MAHANTA, 2014), e melhora a sobrevivência dos probióticos na alimentação durante o processamento e armazenamento, além de conferir proteção dos probióticos contra subsequente exposição às duras condições do trato gastrointestinal (KENT; DOHERTY, 2014), porque este processo confere um revestimento às células bacterianas protegendo-as do meio exterior. O desenvolvimento do requeijão probiótico em pó resultará em um produto com potencial funcional, preservando suas características sensoriais e nutricionais.

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010

UF: PE Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.196.966

O preparo do inóculo de Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 será realizado no Departamento de Tecnologia Rural da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A secagem por atomização será realizada no Laboratório de Processamento de Alimentos do Departamento de Ciências Domésticas / UFRPE. As análises físico-químicas serão realizadas no Laboratório de Análises FísicoQuímicas de Alimentos (LAFQA) do Departamento de Ciências Domésticas/UFRPE.

O requeijão cremoso será obtido no comércio local na cidade do Recife-PE, e mantido sob refrigeração. A estirpe de Lactobacillus rhamnosus ATCC 9595 será cedida pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. A análise sensorial será realizada após aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFPE/CCS e todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Serão selecionados 120 provadores voluntários não treinados com idades acima de 18 anos, que refiram interesse e/ou hábito de consumir requeijão. Indivíduos com alergia ao leite ou com intolerância a lactose não serão selecionados para participar da análise.

O Teste de aceitação será realizado utilizando-se uma escala hedônica estruturada de nove pontos, variando de "desgostei extremamente (1)" a "gostei muitíssimo (9)", onde os provadores avaliaram os atributos sensoriais de cor, aroma, sabor e aparência. Será calculado o Índice de Aceitabilidade (IA) para todos os atributos avaliados, sendo consideradas as notas obtidas 6 que representam na escala hedônica a variação de "gostei ligeiramente" a "gostei muitíssimo" e o percentual calculado de acordo com a quantidade total de provadores. Já para o cálculo do IA Global, será utilizada a média dos IA de cada atributo. A intenção de compra será investigada empregando-se uma escala estruturada de cinco pontos, variando de "certamente eu não compraria (1)" a "certamente eu compraria (5)". O teste de preferência por comparação múltipla será realizado utilizando-se uma escala hedônica estruturada de sete pontos, variando de "extremamente menos preferido que o padrão (1)" a "extremamente mais preferido que o padrão (7)".

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral

Obter um requeijão probiótico em pó por spray dryer.

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010

UF: PE Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

Página 02 de 05

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.196.966

Objetivos específicos

- Avaliar a viabilidade de Lactobacillus rhamnosus no requeijão em pó;
- •Avaliar características físicas, físico-químicas e químicas do requeijão em pó;
- Analisar sensorialmente os atributos de qualidade, aceitação, intenção de compra e a preferência do requeijão em pó reconstituído.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O principal risco consiste em alergias que o participante possua a algum dos componentes da amostra. Por este motivo, indivíduos com alergia a leite ou com intolerância a lactose não devem participar da análise. Este risco será amenizado através de esclarecimento sobre as substâncias constituintes do requeijão. Também há um pequeno risco quanto ao desconforto sensorial. O participante receberá água para minimizar o risco, bem como para aliviar o desconforto, caso haja.

O provador será beneficiado por degustar um produto com efeitos positivos na sua saúde, atividade probiótica.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. Os dados coletados nesta pesquisa, ficarão armazenados em pastas de arquivo, sob a responsabilidade da Orientadora, no Departamento de Ciências Domésticas da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Importante para os pesquisadores, como um novo método de uma alimentação saudável.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos Obrigatórios estão presentes.

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010

UF: PE Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

Página 03 de 05

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.196.966

Recomendações:

Sem recomendações

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

O pleno acompanha o parecer do colegiado

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	27/06/2017		Aceito
do Projeto	ROJETO 911251.pdf	10:44:22		
Projeto Detalhado /	PROJETO2.docx	27/06/2017	IRIS REGINA	Aceito
Brochura		10:44:06	PIMENTEL DE LUNA	
Investigador				
Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	27/06/2017	IRIS REGINA	Aceito
	<u>l</u>	10:19:34	PIMENTEL DE LUNA	
Declaração de	carta_anuencia.pdf	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
Instituição e		19:05:39	PIMENTEL DE LUNA	
Infraestrutura				
Outros	termo confidencialidade.pdf	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
		19:04:39	PIMENTEL DE LUNA	
TCLE / Termos de	TCLE maiores18.doc	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
Assentimento /	_	19:03:14	PIMENTEL DE LUNA	
Justificativa de				
Ausência				
Outros	Curriculo Iris.pdf	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
	_ '	19:01:15	PIMENTEL DE LUNA	
Outros	Curriculo Erilane.pdf	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
	_ '	19:00:54	PIMENTEL DE LUNA	
Outros	Curriculo Celiane.pdf	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
	_ '	19:00:33	PIMENTEL DE LUNA	
Projeto Detalhado /	PROJETO.docx	16/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
Brochura		18:56:53	PIMENTEL DE LUNA	
Investigador				
Folha de Rosto	Folha rosto.pdf	12/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
	- '	09:17:41	PIMENTEL DE LUNA	
Outros	comprovante matricula.pdf	11/05/2017	IRIS REGINA	Aceito
		15:55:43	PIMENTEL DE LUNA	

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010

UF: PE Município: RECIFE

Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

Página 04 de 05

UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO/ PROPEGE/



Continuação do Parecer: 2.196.966

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 01 de Agosto de 2017

Assinado por: Marco Aurélio de Valois Correia Junior (Coordenador)

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº

Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010

UF: PE Município: RECIFE

Página 05 de 05

Anexo 2 — Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e Ficha de Consentimento da Participação da Pessoa como Voluntário(a)

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DOMÉSTICAS PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa "Microencapsulação de requeijão cremoso probiótico por *spray dryer*", que está sob a responsabilidade da pesquisadora Iris Regina Pimentel de Luna. Esta pesquisa está sob a orientação de Celiane Gomes Maia da Silva e co-orientação de Erilane de Castro Lima Machado.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

- Esta pesquisa consiste na adição do probiótico (bactéria benéfica à saúde)
 Lactobacillus rhamnosus ao requeijão e posterior atomização (microencapsulação).
 O objetivo é obter um requeijão probiótico em pó e através da análise sensorial avaliar a aceitação, a intenção de compra e a preferência deste novo produto.
- ❖ Os participantes deverão fazer uma avaliação dos atributos sensoriais de cor, aroma, sabor e aparência para os testes de Aceitação e Intenção de Compra do requeijão probiótico em pó reconstituído. No teste de Preferência os participantes deverão avaliar os atributos sensoriais de sabor e aparência para o requeijão probiótico em pó reconstituído em relação ao requeijão cremoso tradicional. As amostras dos produtos serão servidas, aos provadores, em cabines individuais, iluminadas com luz branca, à temperatura de 08 °C, em copos descartáveis, aleatoriamente codificados e fichas para testes de aceitação, intenção de compra e de preferência serão disponibilizadas. Será necessária apenas uma única participação do voluntário no laboratório, em data e horário pré-estabelecido e em comum acordo entre este e os condutores da pesquisa.
- * RISCOS: O principal risco consiste em alergias que o participante possua a algum dos componentes da amostra. Por este motivo, indivíduos com alergia ao leite ou com intolerância a lactose não devem participar da análise. Este risco será amenizado através de esclarecimento sobre as substâncias constituintes do requeijão. Também há um pequeno risco quanto ao desconforto sensorial. O participante receberá água para minimizar o risco, bem como para aliviar o desconforto, caso haja.
- ❖ **BENEFÍCIOS**: O provador será beneficiado por degustar um produto com atividade probiótica e efeitos positivos na sua saúde.
- ❖ Esclarecemos que manteremos em anonimato, sob sigilo absoluto, durante e após o término do estudo, todos os dados que identifiquem o sujeito da pesquisa usando apenas, para divulgação, os dados inerentes ao desenvolvimento do estudo. Informamos também que após o término da pesquisa, serão destruídos de todo e qualquer tipo de mídia que possa vir a identificá-lo tais como filmagens, fotos, gravações, etc., não restando nada que venha a comprometer o anonimato de sua participação agora ou futuramente.

O (A) senhor (a) terá os seguintes direitos: a garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; a liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento sem prejuízo para si; a garantia de que em caso haja algum dano a sua pessoa (ou o dependente), os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou pela instituição responsável. Inclusive, acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso). Caso haja gastos adicionais, os mesmos serão absorvidos pelo pesquisador. Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar os pesquisadores 1. Iris Regina Pimentel de Luna, rua Dom João Moura nº 462, Engenho do Meio, Recife-PE, CEP 50730-030 – (81) 98799-3399; 2- Celiane Gomes Maia da Silva, Departamento de Ciências Domésticas da UFRPE, rua Dom Manoel de Medeiros s/n - Dois Irmãos - CEP 52171-900 - (81) 99977-3991; 3 - Erilane de Castro Lima Machado, Centro Acadêmico de Vitória – UFPE, Rua Alto do Reservatório, S/N – Bela Vista CEP: 55608-680 - (81) 98834-4067.

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do email comite.etica@upe.br.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu,	, CPF, após te
	os meus direitos, concordo em participar desta
pesquisa, bem como autorizo a divulgação	e a publicação de toda informação por min
transmitida, exceto dados pessoais, em publ	icações e eventos de caráter científico. Desta
forma, assino este termo, juntamente com o p uma via sob meu poder e outra em poder do(s	esquisador, em duas vias de igual teor, ficandos) pesquisador (es).
Recife, de de 201	7.
A sein stem de (a) Wellentérie (a)	A sein sterne De series de la Deservacion
Assinatura do (a) Voluntário (a)	Assinatura Pesquisador Responsáve

Anexo 3 – Ficha para o teste triangular

T	Teste Triangular					
Nome:	Idade:	Data://2017				
Você está recebendo três amostras codificadas, sendo duas iguais e uma						
diferente. Deguste cuidadosamente cada uma das amostras, da esquerda para a						
direita, e faça um círculo em volta da amostra diferente.						
Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3				
Comentários:						

Anexo 4 – Ficha para os testes de aceitação e intenção de compra

Teste de aceitação e intenção de compra O PGCTA						
Nome: Idade: Data:// 2017 Avalie amostra e use a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto, levando em consideração os aspectos de cor, aroma, sabor, consistência e aparência.						
9 - Gostei muitíssimo 8 - Gostei muito 7 - Gostei moderadamente 6 - Gostei ligeiramente 5 - Nem gostei/ nem desgostei (Indiferente) 4 - Desgostei ligeiramente 3 - Desgostei moderadamente 2 - Desgostei muito 1 - Desgostei extremamente	Código da amostra Cor Aroma Sabor Consistência Aparência					
Por favor, agora analise sua intenção de compra e escreva o valor da escala abaixo que você considera correspondente à amostra. 5 — Certamente eu compraria 4 — Provavelmente eu compraria 3 — Talvez eu compraria / Talvez eu não compraria 2 — Provavelmente eu não compraria 1 — certamente eu não compraria						