

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

CURSO ENGENHARIA DE ALIMENTOS

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

RAFAELA DAL'PRÁ BRAND

**APLICAÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus* MICROENCAPSULADO COM
DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE EM PREPARADO SÓLIDO PARA
REFRESCO**

MEDIANEIRA

2019

RAFAELA DAL'PRÁ BRAND

**APLICAÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus* MICROENCAPSULADO COM
DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE EM PREPARADO SÓLIDO PARA
REFRESCO**

Trabalho de Conclusão de Curso,
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Alimentos, da
Universidade Tecnológica Federal do
Paraná, Câmpus Medianeira.

Orientadora: Prof. Dr^a. Deisy A.
Drunkler

MEDIANEIRA

2019

Dedico este trabalho aos meus pais,
Maria Aparecida e Agostinho, por
todo amor, carinho e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Aparecida Dal'Prá e Agostinho Böger Brand, que sempre acreditaram em mim, não me deixando desistir e que não mediram esforços para que se tornasse possível esta graduação. Obrigada por tudo.

A Christian Bloemer Brand, por estar sendo um irmão que não tive.

Ao meu padrinho, Nilo Bloemer Brand, por todo carinho e incentivo em todos esses anos de minha vida.

A minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Deisy Alessandra Drunkler, por todos os ensinamentos, incentivos e paciência.

A Karina de Carvalho, pela oportunidade de ter aprendido tanto na Iniciação Científica, pela amizade e por todo auxílio.

A Ivo Ramos Junior, quem esteve sempre do meu lado, suportando as lamúrias e sendo colo em momentos de muito choro. Obrigada por todos esses anos de companheirismo, amizade e amor.

A Andressa Padilha Marca, pelas conversas infinitas e amizade para uma vida toda.

A Francisco Rafael Cáceres, por preencher com tantas histórias de viagem e alegrias os espaços vazios do apartamento 05. Obrigada por ter deixado esses anos mais leves.

A todos os colegas e amigos que fiz, pois formaram comigo uma família ao longo desses 6 anos. Em especial Luiz Flávio, Danniele, Márcio, Andrieli, Pamella, Verônica, Tamiris e Angélica.

Também aos amigos de longa data, que mesmo longe nada mudou: Juliana, Daiane, Beatriz e Amanda.

Aos demais professores da UTFPR por todo conhecimento transmitido. Em especial ao Prof. Dr. Ilton Baraldi, por ser um exemplo de pessoa e profissional, por compartilhar experiências da vida e por me inspirar tanto.

Muito obrigada a todos!



Rafaela Dal'Prá Brand

**APLICAÇÃO DE *Lactobacillus acidophilus* MICROENCAPSULADO COM
DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE EM PREPARADO SÓLIDO PARA
REFRESCO**

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado às 14:00 horas do dia 18 de junho de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira de Alimentos, do Curso de Bacharelado em Engenharia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Profª Drª Deisy Alessandra Drunkler - Orientadora

Profª Drª Marinês Paula Corso - Membro da Banca

Profª Drª Rosana Aparecida da Silva Buzanello - Membro da Banca

Rafaela Dal'Prá Brand - Aluna

Medianeira, 18 de junho de 2019.

“A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso”

RESUMO

BRAND, RAFAELA DAL'PRÁ. **Aplicação de *Lactobacillus acidophilus* microencapsulado com diferentes materiais de parede em preparado sólido para refresco**. 2019. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Curso Engenharia de Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Medianeira. 2019.

Os probióticos são reconhecidamente benéficos a saúde e a viabilidade destes é um dos requisitos, que pode ser obtida mediante a microencapsulação. Nos últimos anos, vários trabalhos têm avaliado a viabilidade de probióticos, livres e microencapsulados, em alimentos, em especial nos derivados lácteos. Poucos estudos avaliam alimentos alternativos para a adição destes micro-organismos. Diante disso, o trabalho teve por objetivo elaborar um preparado sólido para refresco sabor laranja adicionado de probiótico microencapsulado por *spray drying*. Para tal, foram testadas três microcápsulas de *L. acidophilus*, que diferiram entre si pelo material de parede e parâmetros operacionais utilizados no *spray dryer* (formulação 1: 27,5 g 100mL⁻¹ de dextrina tartarato de mandioca, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; formulação 2: 12 g 100mL⁻¹ de extrato de soja e 8 g 100mL⁻¹ de maltodextrina, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; e formulação 3: 10 g 100mL⁻¹ de maltodextrina e 2,5 g 100mL⁻¹ de proteína extraída do farelo de arroz desengordurado, 78 °C e 0,58 L h⁻¹). Nestas condições, a formulação 1 foi a que apresentou menor perda de viabilidade no período de 21 dias de estocagem à temperatura ambiente (25 °C) e menor valor de atividade de água (0,5040). A formulação 3 apresentou-se menos higroscópica em relação as demais. Já a formulação 2 indicou o menor valor de umidade (2,42 ± 0,37%). Todas as formulações contendo o probiótico encapsulado apresentaram valores superiores de viabilidade e sobrevivência após simulação da digestibilidade quando comparados a formulação contendo o *L. acidophilus* livre (formulação controle), comprovando que as microcápsulas foram capazes de proteger o probiótico. Portanto, há evidência de um grande potencial de aplicação das microcápsulas no preparado sólido para refresco, que se distingue dos produtos probióticos já conhecidos.

Palavras-chave: Probiótico. *Spray drying*. Viabilidade.

ABSTRACT

BRAND, RAFAELA DAL'PRÁ. **Application of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* with different wall materials in solid preparation refreshment.** 2019. 54 f. Work of Course Conclusion. Course of Food Engineering. Federal Technological University of Paraná. Medianeira. 2019.

Probiotics are recognized to be beneficial to health and the viability of these is one of the requirements, which can be obtained through microencapsulation. In recent years, several studies have evaluated the viability of probiotics, free and microencapsulated, in foods, especially dairy products. Few studies evaluate alternative foods for the addition of these microorganisms. Therefore, the aim of this work was to elaborate a solid preparation refreshment orange flavor with microcapsulated spray drying probiotic. For this, three microcapsules of *L. acidophilus*, which differed by wall material and operational parameters used in the spray dryer (formulation 1: 27,5 g 100mL⁻¹ of manioc dextrin tartrate, 91 °C and 0,75 L h⁻¹; formulation 2: 12 g 100 ml⁻¹ of soy extract and 8 g 100 mL⁻¹ maltodextrin, 0,55 L h⁻¹ and 85 °C; and formulation 3: 10 g 100 ml⁻¹ maltodextrin and 2,5 g 100mL⁻¹ protein extracted from defatted rice bran, 78 °C and 0,58 L h⁻¹). Under these conditions, formulation 1 presented the lowest viability loss in the 21 day storage period at room temperature (25 °C) and lower water activity value (0,5040). Formulation 3 was less hygroscopic in relation to the others. Formulation 2 indicated the lowest moisture value (2,42 ± 0,37%). All formulations containing the encapsulated probiotic presented higher viability and survival values after simulation of digestibility when compared to the *L. acidophilus* free formulation (control formulation), proving that the microcapsules were able to protect the probiotic. Therefore, there is evidence of great potential for application of the microcapsules in the solid preparation refreshment, which differs from the known probiotic products.

Keywords: Probiotic. *Spray drying*. Viability.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 Objetivos Específicos	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	14
3.1.1 Probióticos	14
3.2 MICROENCAPSULAÇÃO	15
3.2.1 Microencapsulação por <i>spray drying</i>	17
3.3 MATERIAIS ENCAPSULANTES	20
3.3.1 Dextrina	20
3.3.2 Extrato de soja	21
3.3.3 Proteína extraída do farelo de arroz desengordurado	22
3.4 APLICAÇÃO DOS PROBIÓTICOS EM ALIMENTOS	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 MATÉRIAS-PRIMAS, REAGENTES E MICRO-ORGANISMO	24
4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DO <i>LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS</i> UTILIZANDO DEXTRINA, EXTRATO DE SOJA E PROTEÍNA EXTRAÍDA DO FARELO DE ARROZ DESENGORDURADO COMO AGENTES ENCAPSULANTES	24
4.3 VIABILIDADE DO MICRO-ORGANISMO LIVRE E ENCAPSULADO INCORPORADOS AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO	26
4.4 ELABORAÇÃO DO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO ADICIONADO DE <i>L. ACIDOPHILUS</i> LIVRE E MICROENCAPSULADO COM OS DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE AVALIADOS	26
4.5 ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES DO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO	27
4.6 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO <i>L. ACIDOPHILUS</i> LIVRE E MICROENCAPSULADO EM FLUÍDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS	28
4.7 DETERMINAÇÃO DA COR E DA VISCOSIDADE DOS PREPARADOS SÓLIDOS PARA REFRESCO PRONTOS PARA O CONSUMO	30
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 VIABILIDADE DO MICRO-ORGANISMO ENCAPSULADO E	

INCORPORADO AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO.....	32
5.2 ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES DO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO PROBIÓTICO.....	34
5.3 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO <i>L. ACIDOPHILLUS</i> MICROENCAPSULADO ADICIONADO AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO EM FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS.....	37
5.4 DETERMINAÇÃO DA COR E DA VISCOSIDADE DOS PÓS PARA REFRESCO PRONTOS PARA O CONSUMO.....	40
6 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

A constante evolução da humanidade, acompanhada de mudanças fundamentais e periódicas no estilo de vida refletem consideravelmente nos hábitos alimentares (DERRIEN; VEIGA, 2017). A busca por uma saúde melhor e uma qualidade de vida apropriada levam as pessoas a consumirem alimentos mais saudáveis e incentivam a indústria na criação de novos produtos, como os alimentos probióticos (SOLANKI et al., 2013).

Os probióticos são definidos como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios a saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2001). Os micro-organismos mais utilizados como probióticos pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. O consumo de culturas probióticas promove o desenvolvimento de bactérias benéficas no trato digestório, promovendo a redução do número de bactérias potencialmente nocivas e fortalece a defesa natural do hospedeiro (SOLANKI et al., 2013).

No entanto, para que exerçam efeito benéfico devem se encontrar viáveis e ativos no produto final e suportar a passagem pelo trato digestório. Porém, nem todos os probióticos são capazes de resistir às condições citadas acima (DIMITRELLOU et al., 2016).

Com o propósito de aumentar a estabilidade dos micro-organismos, a microencapsulação é uma alternativa (BUSTAMANTE et al., 2017) e consiste na técnica de “empacotamento de probióticos em cápsulas que são capazes de liberar seu conteúdo em determinado momento sob influência de condições específicas” (CAVALHEIRO et al., 2015).

Existem diversos métodos para encapsulação e, dentre estas, destaca-se a atomização ou *spray drying*, que consiste na pulverização de uma solução líquida em finas gotículas, conduzidas a um fluxo de ar quente e seco, até a obtenção do pó (HUANG et al., 2017). Essa técnica é uma das mais utilizadas devido ao fato de ser economicamente viável e possuir ampla disponibilidade de equipamento (ARSLAN et al., 2015).

Os materiais comumente utilizados como agentes microencapsulantes são os carboidratos e as proteínas, devido ao fato de possuírem produtos de

biodegradação seguros, não apresentarem citotoxicidade e não exigirem solventes orgânicos para a preparação da microcápsula (COOK et al., 2012).

Dentre os carboidratos destacam-se as dextrinas e maltodextrinas. Ambas são obtidas a partir da hidrólise parcial do amido em estado seco. Apesar de serem obtidas de forma semelhante, as mesmas podem ser diferenciadas por suas diferentes estruturas e em termos de dextrose equivalente (DE), uma medida do poder redutor total, o que leva a diferentes características em relação à higroscopicidade, doçura, estabilidade, solubilidade, viscosidade e biodisponibilidade (SILVA et al., 2014; SANTOS, 2016).

Nesterenko et al. (2013) destaca o uso frequente de carboidratos em associação com proteínas como materiais de parede, pois esta combinação resulta numa melhor propriedade emulsionante e filmogênica. Além do mais, a junção entre proteína e carboidratos ligados covalentemente pela reação de Maillard, demonstraram propriedades funcionais interessantes. As proteínas empregadas na microencapsulação podem ser advindas de inúmeras fontes, dentre elas arroz e soja (GHARSALLAOUI et al., 2007)

O concentrado proteico de farelo de arroz possui, aproximadamente, 92% de proteína cujas propriedades funcionais justificam seu emprego na microencapsulação (NESTERENKO et al., 2013). Por sua vez, Menezes et al. (2019), ressalta que o extrato de soja é composto por, aproximadamente, 40% de proteína, 20% carboidratos e 16% de fibras, além de conter compostos funcionais como oligossacarídeos e isoflavonas.

Os probióticos são comumente estudados e utilizados em produtos lácteos, no entanto observa-se um aumento de casos de alergias e intolerâncias alimentares, bem como o crescimento dos adeptos ao veganismo. Neste contexto, é evidente um vasto campo de pesquisa e desenvolvimento de novos produtos probióticos que sejam uma alternativa aos derivados lácteos.

Silva et al. (2017) aplicaram as microcápsulas de *L. acidophilus* LA 3 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1 em chocolate meio amargo, estes se mantiveram viáveis por até 120 dias a temperatura de 25 °C e apresentaram maior sobrevivência nas condições gastrointestinais simuladas quando comparados aos probióticos na forma livre.

Dias et al. (2018), ao formularem suco de maracujá adicionado de *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 microencapsulado com maltodextrina e/ou inulina observaram uma melhor sobrevivência dos probióticos quando armazenados a 4 °C por 30 dias em relação as células livres.

Logo, aplicar *L. acidophilus* La-5 microencapsulado em um preparado sólido para refresco torna-se uma alternativa aos produtos lácteos probióticos e possui a vantagem de se obter um produto de volume reduzido e fácil manuseio (PAIM et al., 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Aplicar o *L. acidophilus* microencapsulado com diferentes materiais de parede em preparado sólido para refresco sabor laranja e avaliar a melhor formulação quanto a viabilidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Encapsular o *L. acidophilus* com diferentes materiais de parede (dextrina tartarato de mandioca, extrato de soja, maltodextrina e CPFA) utilizando a técnica de *spray drying*.
- Aplicar *L. acidophilus* livre e microencapsulado com dextrina ou extrato de soja e maltodextrina ou CPFA e maltodextrina em preparado sólido para refresco sabor laranja.
- Determinar a composição química (umidade) e as propriedades físico-químicas (atividade de água, higroscopicidade, solubilidade, reidratação, pH e acidez titulável) das diferentes formulações do preparado sólido para refresco.
- Determinar a cor e a viscosidade das formulações do preparado sólido para refresco adicionado de *L. acidophilus* livre e microencapsulado pronto para o consumo.
- Avaliar a viabilidade do micro-organismo probiótico livre e encapsulado empregando os diferentes materiais de parede durante a vida útil do preparado sólido para refresco (21 dias).
- Avaliar a sobrevivência do *L. acidophilus* livre e microencapsulado adicionados no produto alimentício em fluídos gástrico e intestinal simulados no início e fim da vida útil.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

A propriedade funcional dos alimentos é definida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) como aquela que é referente “ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano” (BRASIL, 1999). Assim sendo, são ditos alimentos funcionais aqueles que além de sua propriedade nutricional, também colaboram com a eficácia do metabolismo e atuam na prevenção de doenças (KÜSTER-BOLUDA; VIDAL-CAPILLA, 2017).

De acordo com Lopes et al. (2015) os alimentos funcionais possuem como características: serem alimentos clássicos que fazem parte da dieta cotidiana; serem constituídos por componentes naturais; devem conter efeitos benéficos, como aumento da qualidade de vida, prevenção à doenças e bem estar físico das pessoas.

Fibras, ácidos graxos poli-insaturados, compostos fenólicos, aminoácidos essenciais, fitoquímicos, peptídeos ativos, prebióticos e probióticos são as principais substâncias com ação funcional (SILVA et al., 2016). Os autores ainda relatam que os ácidos graxos podem atuar na redução dos triglicérides, os fitoesteróis possuem efeito de reduzir o colesterol e as bactérias probióticas possuem efeito anti-carcinógeno, anti-infeccioso e hipocolesterolêmico.

3.1.1 Probióticos

Segundo a Organização Mundial da Saúde, probióticos são definidos como “micro-organismos vivos que quando administrados de forma correta, conferem benefícios a saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2001).

É comprovado que diversas enfermidades, como diabetes *melitus*, câncer, síndrome do intestino irritável, alergias infantis, intolerância à lactose, entre outros, podem ser prevenidas com probióticos. Podem ser eficazes também na inibição do desenvolvimento de bactérias patogênicas no intestino, aumento da imunidade do hospedeiro, em pacientes com pressão alta, doenças coronárias e infecções das vias respiratórias e urinárias (ANEKELLA, 2011; BUSTAMANTE et al., 2017).

Para que um micro-organismo possa ser utilizado como probiótico, deve-se atentar para que o mesmo não seja patogênico; possua boas qualidades tecnológicas para que resista ao processamento, armazenamento e passagem pelo trato digestório, quando aplicado a alimentos não gere características sensoriais desagradáveis e que sua cepa tenha origem humana (ROKKA; RANTAMÄKI, 2010).

Os gêneros mais utilizados como probióticos são os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Os *Lactobacillus* são bactérias que possuem propriedades gram-positivas, anaeróbicas, não formadoras de esporos e que variam no crescimento e nas características metabólicas. Obtêm energia a partir da fermentação de carboidratos, gerando como produto final o ácido lático, por este motivo, os lactobacilos sobrevivem a ambientes mais ácidos. Seu pH e temperatura ótimos de crescimento se encontram na faixa de 5,5 a 6,0 e 35 °C a 40 °C, respectivamente. Este gênero normalmente é encontrado em produtos lácteos fermentados (NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015; ROKKA; RANTAMÄKI, 2010).

No entanto, os probióticos só possuem os benefícios citados acima quando sobreviverem a passagem pelo trato digestório e serem apropriados para habitar a microbiota intestinal, e quando ingeridos com uma certa frequência (ARSLAN et al., 2015; DIMITRELLOU et al., 2016). Por isso, a microencapsulação surgiu como uma técnica capaz de aumentar a viabilidade destes frente ao processamento e armazenamento dos alimentos, bem como, durante a passagem pelo trato digestório.

3.2 MICROENCAPSULAÇÃO

No âmbito dos alimentos, a microencapsulação é definida por Bansode et al. (2010) como a “técnica pela qual gotículas líquidas, sólidas ou compostos gasosos

estão presos em filmes finos de um agente microencapsulante de qualidade alimentar”. O autor menciona ainda que o recheio, bem como o agente encapsulante, podem ser compostos de um ou mais elementos. Este processo garante uma barreira física entre o núcleo e o material encapsulante e os demais componentes do produto (SOLANKI et al., 2013), como mostrado na figura 1.

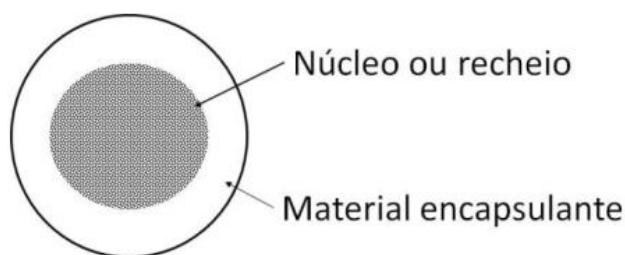


Figura 1 – Representação esquemática de uma microcápsula.

Fonte: Barreto (2015).

Pereira et al. (2018) listaram as seguintes vantagens para a utilização da microencapsulação na indústria alimentícia: reduzir a reatividade do material do núcleo com o ambiente; diminuir a velocidade de evaporação ou de transferência do material de núcleo para o meio; facilitar a manipulação do material encapsulado; promover liberação controlada; mascarar sabor e odor desagradáveis e promover a diluição homogênea do material encapsulado em uma formulação alimentícia.

Existem diversas metodologias para realizar a encapsulação. Para escolher o método mais adequado deve-se levar em conta as características do material encapsulado e do produto final, assim como as propriedades do material de parede, pois o mesmo possui grande influência na eficiência do encapsulamento (DIAS et al., 2017). Os métodos mais utilizados são divididos em três categorias: físicos (*spray drying*, *spray cooling*, recobrimento em leito fluidizado, extrusão centrífuga e pulverização em banho térmico); químicos (inclusão molecular e polimerização interfacial) e físico-químicos (coacervação, envolvimento lipossômico e pulverização em agente formador de reticulação) (BARRETO et al., 2015).

Desta forma, a microencapsulação de probióticos possui como objetivo proteger os micro-organismos do calor, oxigênio, umidade, bem como das condições do trato digestório, aumentando a sobrevivência e viabilidade das células no produto final (BUSTAMANTE et al., 2017; SOLANKI et al., 2013).

3.2.1 Microencapsulação por *spray drying*

Caracterizado por ser um dos métodos mais antigos de encapsulação, essa metodologia foi utilizada na década de 1930 para o preparo dos primeiros sabores/aromas encapsulados, utilizando como revestimento a goma acácia (SHAHIDI; HAN, 1993).

Huang et al. (2017) descreveram a microencapsulação por *spray drying* como uma operação unitária na qual uma amostra líquida (solução, emulsão ou suspensão) é atomizada com uma corrente de ar aquecido, obtendo-se instantaneamente um sólido em forma de pó.

A técnica por *spray drying* consiste basicamente na pulverização de uma suspensão contendo o material do núcleo e o agente encapsulante por meio de ar aquecido. Os equipamentos utilizados para este método geralmente são compostos por: câmara de secagem; atomizador; aquecedor de ar; exaustor e ciclone (BANSODE et al., 2010), como mostrado na figura abaixo (Figura 2).

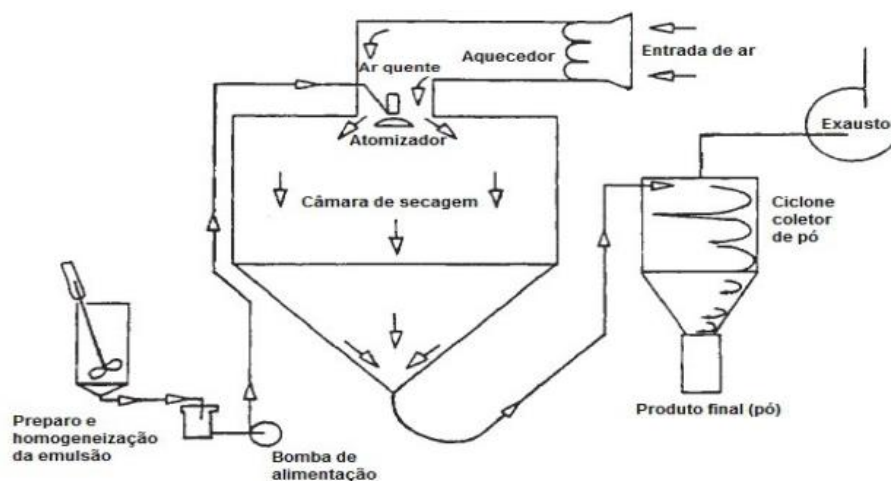


Figura 2 – Representação do funcionamento do *spray dryer*.

Fonte: CARMO et al. (2015)

A produção das microcápsulas é composta por algumas etapas fundamentais. A primeira delas consiste no preparo da suspensão, solução ou emulsão que contém o agente encapsulante selecionado e que será atomizada, em que o material do núcleo é adicionado. Então, é bombeada para o atomizador, onde ocorre a dispersão do fluido em gotículas gerando uma grande área superficial. A corrente de ar aquecido entra em contato com as gotículas, etapa na qual ocorre transferência de calor e de massa, denotando o início da secagem, na qual é possível observar a evaporação do solvente das gotículas. Finalmente, as gotículas passam por uma rápida solidificação, formando as microcápsulas que são separadas do ar de secagem por meio de um ciclone (CARMO et al., 2015; NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A qualidade do produto final e a eficiência da microencapsulação dependerá das variáveis do processo, que são: vazão de entrada da suspensão, temperatura de entrada e de saída do ar de secagem e concentração do material de entrada. A vazão de entrada da solução a ser atomizada, deve ser determinada de forma a garantir que a gotícula aspergida atinja a condição de secagem desejada antes de entrar em contato com a parede do equipamento. A temperatura de entrada do ar de secagem também é de suma importância, pois se estiver baixa, a evaporação será lenta e resultará em microcápsulas de revestimento de alta densidade, teor de umidade elevado e de fácil aglomeração. Porém, se a temperatura estiver elevada, pode ocorrer defeitos na superfície e como consequência, ocorrerá a liberação antes

do tempo esperado e danos no material do núcleo. A temperatura de saída do ar de secagem influenciará na umidade do produto final. A concentração da solução a ser atomizada, bem como a viscosidade e a tensão superficial do material a ser seco, influenciarão diretamente no tamanho da microcápsula (CARMO et al., 2015; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Fritzen-Freire et al. (2012) microencapsularam *Bifidobacterium BB-12* por *spray dryer*, utilizando leite em pó desnatado parcialmente reconstituído juntamente com inulina e oligofrutose como agentes encapsulantes. Os autores concluíram que o micro-organismo encapsulado com uma mistura de inulina, oligofrutose e leite em pó desnatado parcialmente reconstituído e a mistura de oligofrutose e leite em pó desnatado parcialmente reconstituído tiveram uma maior sobrevivência após 180 dias a 4°C.

Anekella e Orsat (2013) estudaram a microencapsulação de uma combinação de probióticos (*L. acidophilus* e *L. rhamnosus*) com suco de framboesa e utilizaram a maltodextrina como material de parede. Os autores utilizaram um pré-tratamento de temperatura sub letal nos probióticos e observaram que o mesmo foi eficaz na sobrevivência dos micro-organismos em temperaturas entre 85 °C e 90 °C. A partir da análise dos resultados, concluíram que a taxa de sobrevivência dos micro-organismos deve-se ao agente encapsulante e aos açúcares presentes no suco de framboesa.

A sobrevivência do *Lactobacillus casei* microencapsulado com leite em pó desnatado reconstituído foi avaliada por Dimitrellou et al. (2016). Os autores observaram que os componentes do leite, em especial a lactose, foram efetivos na proteção das células contra o calor e das soluções de suco gástrico e bile simuladas. Os resultados também mostraram uma taxa de sobrevivência de 17,8% dos probióticos encapsulados quando adicionados ao leite fermentado e estocados por mais de quatro semanas a 4°C, enquanto que os probióticos livres apresentaram uma taxa de 9,5%.

Essa metodologia de atomização é a mais utilizada devido ao fato de ser mais econômica, eficiente e possui fácil disponibilidade de equipamentos, quando comparada a outros métodos. Porém, se as variáveis do processo não estiverem devidamente ajustadas de acordo com o material a ser utilizado, pode ocorrer a perda

da viabilidade das células (HAFFNER et al., 2016; DIAS et al., 2017; BANSODE et al., 2010)

3.3 MATERIAIS ENCAPSULANTES

A escolha do material de parede é uma das etapas mais importantes do processo de microencapsulação, pois o agente encapsulante influencia diretamente na eficiência e estabilidade da microcápsula. O material selecionado deve ser capaz de formar uma emulsão com o material do núcleo e estabilizar o mesmo, bem como ser quimicamente compatível e não reagir com o material a ser encapsulado, ser flexível, resistente e impermeável. O custo e as propriedades físico-químicas do material, como solubilidade, peso molecular, difusibilidade e cristalinidade também devem ser considerados como critério de seleção do revestimento a ser utilizado (PRATA et al., 2013; BANSODE et al., 2010).

Os materiais geralmente utilizados são proteínas e polissacarídeos, que podem ser naturais ou sintéticos e, ainda, serem utilizados sozinhos ou em conjunto (ALVARENGA BOTREL et al., 2012; COOK et al., 2012; NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015). Os mais comuns são: as gomas naturais (alginato, goma arábica, carragena); proteínas (proteínas do leite ou soro de leite, gelatinas); carboidratos (amidos, dextrinas e sacarose); celulosas (carboximetilcelulose, acetilcelulose, nitrocelulose); lipídeos (parafina, mono e diglicerídeos, óleos e gorduras); materiais inorgânicos (sulfato de cálcio e silicatos) (CARMO et al., 2015; NUNES; MARQUES; HOLKEM, 2015; REINECCIUS, 2004; SOLANKI et al., 2013).

3.3.1 Dextrina

A dextrina é um carboidrato de baixo peso molecular obtido a partir da hidrólise parcial do amido e pode ser produzida por três diferentes métodos:

tratamento térmico; tratamento térmico juntamente com um ácido ou tratamento enzimático (SARIFUDIN; ASSIRY, 2014). De acordo com a fonte de amido e do tratamento utilizado, as dextrinas obtidas se diferenciarão quanto as propriedades para aplicações específicas (SILVA et al., 2014).

De acordo com Lotfy (2009), a dextrina assim como diversos carboidratos, possui a mesma fórmula geral do amido, entretanto, é uma molécula menos complexa e menor. É composta por moléculas de D-glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$ ou $\alpha(1\rightarrow6)$, das estruturas linear e ramificada da amilose e amilopectina, respectivamente, no entanto apresentam um grau de polimerização baixo (SILVA et al., 2014), sendo sua fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$. Quando comparada aos amidos nativos, é mais solúvel e estável em meio aquoso (QI et al., 2012).

Carvalho et al. (2018), utilizou a dextrina como agente encapsulante do *L. acidophilus* La-5 e aplicou as microcápsulas em preparado sólido para refresco. Além de destacarem que as formulações contendo o preparado sólido probiótico foram similares a amostra comercial em relação a solubilidade e cor, os autores comprovaram que a dextrina protegeu o probiótico por até 45 dias em estocagem refrigerada e observaram uma sobrevivência de até 71% após a simulação das condições gastrointestinais.

3.3.2 Extrato de soja

Diversas pesquisas relacionam o consumo de proteínas de soja com a diminuição do colesterol e a redução do risco de doenças cardiovasculares, ademais, os grãos de soja possuem os aminoácidos essenciais para o corpo humano (NISHINARI et al., 2014). Segundo Nesterenko et al. (2013), as proteínas de soja são pertinentes para a microencapsulação, pois possuem propriedades adequadas de solubilidade, absorção de água e gordura, estabilização de emulsões e formação de filme.

O extrato de soja é obtido através de emulsão aquosa de soja, sujeita a tratamento térmico para inativação de fatores antinutricionais, sendo a fração solúvel concentrada e seca (FUCHS et al., 2005).

No extrato de soja em pó, as proteínas representam cerca de 40% de sua composição total, os lipídeos 13%, fibras 16%, carboidratos 20% e os sólidos totais em torno de 90% (NILUFER-ERDIL et al., 2012).

Menezes et al. (2019) microencapsularam *Lactobacillus acidophilus* utilizando como agentes encapsulantes o extrato de soja e a maltodextrina. E concluíram que nos tratamentos que apresentavam maior concentração de extrato de soja foi observada uma maior viabilidade de células, o que pode ser devido a presença dos oligossacarídeos rafinose e estaquiose, que ajudam a proteger as células do calor, enquanto que quantidades superiores de maltodextrina em relação a quantidade de extrato não foram suficientes para proteção do micro-organismo.

3.3.3 Proteína extraída do farelo de arroz desengordurado

Fonte de proteínas, fibras, lipídeos e compostos funcionais, o farelo de arroz é um importante subproduto do beneficiamento do arroz, sendo que a partir do descascamento do arroz integral obtém-se o farelo (NESTERENKO et al., 2013).

De acordo com Fabian, Huynh e Ju (2010), a proteína do farelo de arroz além de ser hipoalergênica, é de alta qualidade, possui ótimos valores nutricionais e ainda apresenta atividade anticâncer.

A proteína do farelo de arroz juntamente com a maltodextrina demonstraram ser efetivos no rendimento e na manutenção da viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* microencapsulados por spray drying (VANISKI, 2017).

3.4 APLICAÇÃO DOS PROBIÓTICOS EM ALIMENTOS

A crescente busca por uma alimentação saudável e melhor qualidade de vida impulsiona a indústria alimentícia a desenvolver novos produtos que contenham

não apenas os seus aspectos nutricionais, mas também a alegação de benefícios à saúde, como os probióticos (SOLANKI et al., 2013).

Mestry, Mujumdar e Thorat (2011) desenvolveram suco probiótico em pó de cenoura e melancia adicionado de *Lactobacillus acidophilus* utilizando a técnica de *spray dryer* e obtiveram contagem de células viáveis entre 7,3 a 9,13 log UFC g⁻¹.

Bifidobacterium infantis e *Lactobacillus plantarum* foram encapsulados empregando a metodologia de *spray dryer* por Bustamante et al. (2017). De acordo com os autores, as culturas probióticas que foram encapsuladas com uma mistura de maltodextrina, mucilagem e proteína solúvel das sementes de chia e linhaça apresentaram uma alta sobrevivência após a secagem, bem como os protegeram das condições do trato digestório simuladas. Os probióticos microencapsulados ainda foram incorporados a suco em pó instantâneo, ocasião na qual os autores observaram uma alta viabilidade dos mesmos após 45 dias de estocagem.

Dimitrellou et al. (2016) estudaram a encapsulação do *Lactobacillus casei* utilizando leite desnatado em pó reconstituído como agente encapsulante, por meio da técnica de *spray dryer* e aplicaram o probiótico encapsulado em leite fermentado. Os autores destacaram que a microencapsulação protegeu o *Lactobacillus casei* das condições do trato digestório simuladas e quando aplicado ao leite fermentado o probiótico encapsulado sobreviveu por um tempo maior de estocagem do que as células livres.

Santos et al. (2019) aplicaram as microcápsulas de *L. acidophilus* La-5 em um mousse simbiótico. De acordo com os autores, as microcápsulas de inulina foram essenciais para garantir a sobrevivência dos probióticos após a secagem por pulverização, bem como para proteção dos mesmos as condições gastrointestinais simuladas, quando comparadas a formulação com probiótico livre.

A maioria dos produtos probióticos encontrados no mercado são de origem láctea; porém, é crescente o número de casos de intolerância a lactose e alergia a proteína do leite, bem como o número de adeptos ao veganismo (ALMEIDA, 2012; ANEKELLA; ORSAT, 2013; PAIM et al., 2016). Desta forma, o desenvolvimento de um produto probiótico aplicado em pó para refresco, será uma alternativa à problemática citada acima e atrairá um maior número de consumidores com diferentes preferências.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIAS-PRIMAS, REAGENTES E MICRO-ORGANISMO

O farelo de arroz desengordurado (FAD) foi cedido pela Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (IRGOVEL - Pelotas/RS). A dextrina tartarato de mandioca foi cedida pelo Professor Manuel V.S. Plata-Olviedo da UTFPR-CM. A proteína extraída do farelo de arroz desengordurado foi produzida na Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Câmpus Medianeira, seguindo o proposto por Bernardi (2015). O extrato de soja (Jasmine, Curitiba/PR) e o preparado sólido para refresco sabor laranja (Ajinomoto, Limeira/SP) foram obtidos no mercado local. O microrganismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* La-5 (CHR Hansen, Valinhos) foi adquirido de empresa especializada no ramo. Os reagentes empregados foram de grau analítico e os meios de cultura apresentaram padrão microbiológico adequado.

4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DO *Lactobacillus acidophilus* UTILIZANDO DEXTRINA, EXTRATO DE SOJA E PROTEÍNA EXTRAÍDA DO FARELO DE ARROZ DESENGORDURADO COMO AGENTES ENCAPSULANTES

Primeiramente, foi realizada a inoculação da cultura probiótica de *L. acidophilus* (1% m v⁻¹) em caldo MRS (De Man Rogosa and Sharpe, Merck, Darmstadt, Alemanha) e incubação a 37 °C ± 1 °C em estufa para atingir a fase estacionária (12 horas). Após esse tempo, foi realizada a centrifugação a 5783 rpm na temperatura de 4 °C durante 10 minutos (Centrífuga Refrigerada Cientec, CT-5000R, Minas Gerais, Brasil), com o objetivo de recolher a biomassa do microrganismo para futura adição à suspensão a ser atomizada.

Foram elaborados três tratamentos, que diferiram entre si quanto ao material de parede e as condições de atomização empregados, conforme descrito na tabela 1. Os materiais de paredes e as condições de secagem foram escolhidos de acordo com os melhores resultados obtidos nos trabalhos de Carvalho et al. (2018), Menezes et al. (2019) e Vaniski (2017).

Tabela 1 – Delineamento experimental dos diferentes tratamentos da microencapsulação do *L. acidophilus*.

Tratamento	Material encapsulante	Vazão de entrada (L h ⁻¹)	Temperatura de entrada (°C)
1	27,5 g 100 mL ⁻¹ Dextrina	0,75	91
2	12 g 100mL ⁻¹ de extrato de soja e 8 g 100mL ⁻¹ de maltodextrina	0,55	85
3	10 g 100 mL ⁻¹ de maltodextrina e 2,5 g 100 mL ⁻¹ de CPFA	0,58	78

Fonte: Autoria própria (2019).

Para a elaboração do tratamento 1, foi adotada a metodologia proposta por Carvalho et al. (2018). Para o preparo da suspensão a ser atomizada, foram empregados 27,5 g 100 mL⁻¹ de dextrina tartarato de mandioca. A suspensão foi homogeneizada com auxílio de um agitador magnético e o pH ajustado para 5.

O tratamento 2 foi elaborado conforme Menezes et al. (2019), onde foram utilizados 12 g 100mL⁻¹ de extrato de soja e 8 g 100mL⁻¹ de maltodextrina. O tratamento 3 foi produzido como descrito por Vaniski (2017), empregando-se 10 g 100 mL⁻¹ de maltodextrina e 2,5 g 100 mL⁻¹ de proteína extraída do farelo de arroz desengordurado. Por sua vez, as suspensões dos tratamentos 2 e 3 foram homogeneizadas em banho ultrassônico (37 °C ± 2 °C, frequência 80 kHz, potência 100 W, 15 minutos) (Elma®, Elmasonic P120H, São Paulo, Brasil).

Todas as suspensões foram adicionadas de 1% (m v⁻¹) da cultura probiótica e, com o auxílio de um agitador magnético, foram homogeneizadas por um minuto à temperatura ambiente (25 °C ± 1°C) (752A, Fisatom, São Paulo, Brasil).

As diferentes suspensões foram atomizadas em equipamento *Spray Dryer* de escala laboratorial (MSDi 1.0, Labmaq do Brasil, Ribeirão Preto, Brasil). A alimentação para a câmara de secagem foi realizada por meio de bomba peristáltica sob condições constantes de pressão do compressor do ar de secagem (2 - 4 kgf·cm⁻²

²), vazão de ar comprimido (35 kgf·cm⁻²) e diâmetro de saída do ar no sistema (1 mm) com bico duplo fluído. O tratamento 1 foi atomizado a vazão de 0,75 L h⁻¹ e 91 °C (CARVALHO et al., 2018), a suspensão 2, à vazão de 0,55 L h⁻¹ e temperatura de 85 °C (MENEZES et al., 2019), e o tratamento 3 a 78 °C e 0,58 L h⁻¹ (VANISKI, 2017). As microcápsulas produzidas foram coletadas na base do ciclone e armazenadas em recipiente de vidro hermeticamente fechados, previamente esterilizados, e mantidas sob refrigeração a 4 °C ± 1 °C.

4.3 VIABILIDADE DO MICRO-ORGANISMO LIVRE E ENCAPSULADO INCORPORADOS AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO

Os probióticos microencapsulados foram, inicialmente, diluídos em água peptonada e, a seguir, as cápsulas foram rompidas de acordo com Sheu, Marshall e Heymann (1993). Foram realizadas diluições seriadas e plaqueamento em profundidade utilizando ágar MRS tanto para as células livres como para as liberadas das microcápsulas, seguido de incubação com as placas invertidas em jarras de anaerobiose a 37°C por 48 horas. Após esse período, foi realizada a contagem das células viáveis e o resultado expresso em Log de unidades formadoras de colônia por grama (log UFC g⁻¹) (adaptado de FRITZEN-FREIRE et al., 2012).

4.4 ELABORAÇÃO DO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO ADICIONADO DE *L. acidophilus* LIVRE E MICROENCAPSULADO COM OS DIFERENTES MATERIAIS DE PAREDE AVALIADOS

Foram produzidas cinco formulações de preparado sólido para refresco, conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Formulações do preparado sólido para refresco, sabor laranja, probiótico.

Formulações	Conteúdo
Branco	Preparado sólido para refresco comercial
Controle	Preparado sólido comercial + Probiótico livre
1	Preparado sólido comercial + Tratamento 1
2	Preparado sólido comercial + Tratamento 2
3	Preparado sólido comercial + Tratamento 3

Fonte: Autoria própria (2019).

Nota: Tratamento 1: 27,5 g 100mL⁻¹ de dextrina tartarato de mandioca, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; Tratamento 2: 12 g 100mL⁻¹ de extrato de soja e 8 g 100mL⁻¹ de maltodextrina, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C e Tratamento 3: 10 g 100mL⁻¹ de maltodextrina e 2,5 g 100mL⁻¹ de proteína extraída do farelo de arroz desengordurado, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

As formulações adicionadas de probiótico (livre e microencapsulados) foram produzidas conforme Bustamante et al. (2017) com adaptações. Para a formulação controle, adicionou-se 10 g do probiótico livre e para as formulações 1, 2 e 3, 10g das microcápsulas de *L. acidophilus* a um preparado sólido para refresco (ingredientes: maltodextrina, suco de laranja desidratado, acidulante ácido cítrico, regulador de acidez citrato de sódio, antiemético fosfato tricálcico, aromatizante aroma idêntico ao natural de laranja, edulcorantes artificiais por 100 ml: aspartame: 34,9 mg e acesulfame de potássio: 3,9 mg, estabilizantes carboximetilcelulose sódica e goma xantana, corante inorgânico dióxido de titânio e corantes artificiais), sabor laranja, na proporção de 1:1 (m m⁻¹), seguido do fechamento das próprias embalagens do preparado sólido comercial e armazenamento a temperatura ambiente.

4.5 ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES DO PÓ PARA REFRESCO

Para as formulações em pó, foram realizadas as seguintes determinações: atividade de água, em equipamento determinador de atividade de água (Aqualab® 4TE, Decagon, São Paulo, Brasil) e a umidade por gravimetria, segundo metodologia descrita pela AOAC (AOAC, 1998). A higroscopicidade do pó para refresco foi determinada de acordo com Goula e Adamopoulos (2010), onde 1 g do preparado

sólido para refresco foi exposto à solução super saturada de NaCl à temperatura ambiente (umidade relativa de 75%), por 5 dias e o resultado expresso como conteúdo de água absorvida por 100 g de pó em base seca ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ em b.s). A determinação da solubilidade foi realizada de acordo com Cano-Chauca et al. (2005), na qual as formulações foram dispersas em 100 mL de água destilada em um béquer, agitadas por 5 minutos e as dispersões transferidas para um tubo de centrifugação, as quais foram centrifugadas a 3000 g durante 5 min, utilizando centrífuga refrigerada (CT-5000R, Cientec, Minas Gerais, Brasil). Uma fração de 25 mL do sobrenadante foi transferida para placas de petri pré-pesadas e secas no forno a 105 °C durante 5 horas. A reidratação do pó foi determinada de acordo com o descrito no trabalho de Goula e Adamopoulos (2010), onde 1 g de cada formulação foi adicionada à 50 mL de água destilada à 26 °C sob agitação e registrado o tempo necessário para o desaparecimento de toda a amostra do pó.

Para as formulações reconstituídas de acordo com as indicações dos fabricantes (10 g preparado sólido para refresco em 1000 mL de água), foram determinados o pH, utilizando o pHmetro HANNA (pH21 pHmV meter) e a acidez titulável, de acordo com as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

4.6 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO *L. acidophilus* LIVRE E MICROENCAPSULADO EM FLUÍDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS

A resistência do probiótico livre e microencapsulado aos fluidos gástricos e intestinais simulados foi analisada de acordo com a técnica descrita por Versantvoort et al. (2005).

Essa metodologia é baseada nas três principais etapas da digestão humana. Inicialmente foi simulada a primeira digestão, com a solução artificial de saliva, em que a amostra ficou em contato por 5 minutos. Após, ficou sob condições gástricas por 2 horas, e então realizou-se a simulação da digestão em intestino delgado por mais 2 horas. Todas essas etapas aconteceram sob temperatura de 37 °C e as soluções foram preparadas conforme a tabela abaixo.

Tabela 3 – Constituintes e concentrações das soluções de simulação dos fluidos gástricos e intestinais

	Saliva	Suco Gástrico	Suco Duodenal	Suco biliar
Solução Inorgânica	10 mL KCl 89,6 g L ⁻¹ 10 mL KSCN 20 g L ⁻¹ 10 mL NaH ₂ PO ₄ 88,8 g L ⁻¹ 10 mL NaSO ₄ 57 g L ⁻¹ 1,7 mL NaCl 175,3 g L ⁻¹ 20 mL NaHCO ₃ 84,7 g L ⁻¹	15,7 mL NaCl 175,3 g L ⁻¹ 3,0 mL NaH ₂ PO ₄ 88,8 g L ⁻¹ 9,2 mL KCl 89,6 g L ⁻¹ 18 mL CaCl ₂ · H ₂ O 22,2 g L ⁻¹ 10 mL NH ₄ Cl 30,6 g L ⁻¹ 6,5 mL HCl 37% g g ⁻¹	40 mL NaCl 175,3 g L ⁻¹ 40 mL NaHCO ₃ 84,7 g L ⁻¹ 10 mL KH ₂ PO ₄ 8 g L ⁻¹ 6,3 mL KCl 89,6 g L ⁻¹ 10 mL MgCl ₂ 5 g L ⁻¹ 180 µL HCl 37% g g ⁻¹	30 mL NaCl 175,3 g L ⁻¹ 68,3 mL NaHCO ₃ 84,7 g L ⁻¹ 150 µL HCl 37% g g ⁻¹
Solução orgânica	8 mL ureia 25 g L ⁻¹	10 mL glucose 65 g L ⁻¹ 10 mL ácido glucurônico 2 g L ⁻¹ 3,4 mL ureia 25 g L ⁻¹ 10 mL hidrocloreto de glucoseamina 33 g L ⁻¹	4 mL ureia 25 g L ⁻¹	10 mL ureia 25 g L ⁻¹
Adicionar à mistura de soluções orgânicas e inorgânicas	290 mg α-amilase 15 mg ácido úrico 25 mg Mucina	1 g BSA 2,5 g pepsina 3 g mucina	9 mL CaCl ₂ · 2H ₂ O 22,2 g L ⁻¹ 1 g BSA 9 g pancreatina 1,5 g lipase	10 mL CaCl ₂ · 2H ₂ O 22,2 g L ⁻¹ 1,8 g BSA 30 g bile
pH	6,8 ± 0,2	1,30 ± 0,02	8,1 ± 0,2	8,2 ± 0,2

Fonte: Adaptado de Versantvoort et al. (2005)

A porcentagem de bactérias sobreviventes foi calculada de acordo com Jantzen, Göpel e Beermann (2013), conforme a equação 1:

$$\%Sobrevivência = \frac{N}{N_0} \cdot 100 \quad (1)$$

Em que: N_0 representa o número de células viáveis na suspensão inicial (log UFC g⁻¹) e N o número de células viáveis após a digestão (log UFC g⁻¹).

4.7 DETERMINAÇÃO DA COR E DA VISCOSIDADE DOS PREPARADOS SÓLIDOS PARA REFRESCO PRONTOS PARA O CONSUMO.

A cor das formulações do pó para refresco reconstituído foi avaliada através dos parâmetros instrumentais de cor (L^* , a^* e b^*) de acordo com o sistema CIELAB em colorímetro (Konica Minolta Sensing, INC, Chroma Meter CR-400, Japão). Onde L^* define luminosidade e varia de preto (0) a branco (100), a^* (tonalidades de vermelho (a+) a verde (a-)) e b^* (tonalidades de amarelo (b+) a azul (b-)), de acordo com o proposto por Tonon et al. (2009).

A viscosidade das formulações do pó para refresco após a adição em água foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Raimundo et al. (2007), utilizando os equipamentos de banho termostático (Brookfield, TC-602, Middleboro, EUS) e reômetro (Brookfield, LVDV-III Ultra); com utilização do *spindle* UL número zero em 220 rpm (taxa de cisalhamento = 46,96 s⁻¹).

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos das análises foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e, quando detectada diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando o *software* STATISTICA 11.0 (STATSOFT, 2012).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VIABILIDADE DO MICRO-ORGANISMO LIVRE E ENCAPSULADO INCORPORADOS AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO

A viabilidade do probiótico livre e microencapsulado adicionado ao preparado sólido para refresco sabor laranja encontra-se descrita na Tabela 4.

Como pode ser verificado, a formulação controle apresentou a maior redução de viabilidade quando comparada as demais formulações que apresentavam o probiótico microencapsulado, sendo as contagens iniciais e finais de $14,44 \pm 0,69$ log UFC g⁻¹ e $9,47 \pm 0,88$ log UFC g⁻¹, respectivamente.

Dentre as formulações com probióticos microencapsulados, a Formulação 1 ($27,5$ g 100mL^{-1} de dextrina, 91 °C e $0,75$ L h⁻¹) foi a que apresentou menor redução da viabilidade, com contagens inicial de $6,33 \pm 0,77$ log UFC g⁻¹ e contagem final $5,5 \pm 0,86$ log UFC g⁻¹. Apesar de diversas literaturas indicarem que a combinação de uma proteína e um carboidrato são melhores agentes encapsulantes, nas condições deste estudo, a dextrina tartarato de mandioca foi a que melhor protegeu o *L. acidophilus* microencapsulado e adicionado ao preparado sólido para refresco.

Os resultados demonstram que a microencapsulação dos probióticos e o emprego destes no preparado sólido para refresco promovem uma maior viabilidade do microrganismo, conforme descreve Bustamante et al. (2017) que ao microencapsular *B. infantis* com maltodextrina e aplicar em suco instantâneo em pó obtiveram contagens de $7,3$ log UFC g⁻¹ após 45 dias de estocagem a 4 °C.

Rodrigues et al. (2012) constataram maior redução da viabilidade do *L. paracasei* L26 encapsulado com alginato e quitosana e incorporado a suco de laranja após 50 dias de estocagem ($1,78$ log UFC mL⁻¹) do que quando encapsulado com sulfato de dextrano e alginato ($0,73$ log UFC mL⁻¹). O microrganismo na sua forma livre não apresentou viabilidade no produto sob as mesmas condições.

Tabela 4: Redução da viabilidade do *L. acidophilus*, livre e microencapsulado, durante 21 dias de estocagem à 25 °C dos preparados sólidos para refresco.

Formulação*	Redução viabilidade 0-7 dias (log UFC g⁻¹)	Redução viabilidade 7-14 dias (log UFC g⁻¹)	Redução viabilidade 14-21 dias (log UFC g⁻¹)	Redução viabilidade 0-21 dias (log UFC g⁻¹)
Controle	0,85	1,97	2,15	4,97
1	0,23	0,02	0,58	0,83
2	0,68	0,96	0	1,32
3	0,56	0,29	0,76	1,61

*Formulação: Controle = preparado sólido comercial + Probiótico livre; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

Fonte: Autoria própria (2019).

A variação na viabilidade com tempo de armazenamento decorrido não foi uniforme entre os tratamentos, pois os materiais de parede utilizados têm influência direta na sobrevivência dos microrganismos e por isso a diferença nos resultados (NESTERENKO et al., 2013).

Segundo Pedroso et al. (2012) o decréscimo nas contagens pode ser explicado pelo fato de os micro-organismos serem metabolicamente ativos dentro das microcápsulas, podendo produzir ácidos metabólicos ou ainda pelo fato de perderem substratos. Rodrigues et al. (2011) e Alves et al. (2017) também relatam que a umidade, apesar de baixa em produtos secos, também pode ser prejudicial para a sobrevivência dos probióticos.

Após 21 dias de estocagem as formulações contendo o probiótico encapsulado tiveram perdas de viabilidade menores que $2 \log \text{ UFC g}^{-1}$. A literatura recomenda a ingestão diária de 10^6 UFC g^{-1} de produto (KOMATSU et al., 2008; LIMA et al., 2014). Desta forma, se uma pessoa ingerisse 200 mL da formulação 3, a ingestão de probióticos seria de 11,6 UFC, ultrapassando o valor recomendado pela literatura.

5.2 ANÁLISES QUÍMICAS E FÍSICO-QUÍMICAS DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES DO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO PROBIÓTICO

Na tabela abaixo estão descritos os resultados das análises químicas e físico-químicas das diferentes formulações do preparado sólido para refresco probiótico.

Todas as formulações deste estudo atingiram valores baixos de atividade de água, o que segundo Fritzen-Freire et al. (2012), proporciona uma melhor estabilidade das microcápsulas, pois há menos água livre disponível para reações bioquímicas, aumentando a vida de prateleira e minimizando a aglomeração e viscosidade dos pós.

Tabela 5: Atividade de água, umidade, solubilidade e higroscopicidade das diferentes formulações do preparado sólido para refresco probiótico.

Formulações*	Atividade de água	Umidade (%)	Solubilidade (%)	Higroscopicidade (%)
Branco	0,4517 ^b ± 0,026	0,85 ^c ± 0,18	98,66 ^a ± 0,36	10,33 ^c ± 0,31
Controle	0,4536 ^b ± 0,001	4,79 ^b ± 0,23	99,45 ^a ± 0,28	12,71 ^d ± 0,32
1	0,5040 ^a ± 0,01	4,53 ^b ± 0,21	99,16 ^a ± 0,28	8,45 ^a ± 0,21
2	0,5130 ^a ± 0,014	2,42 ^a ± 0,37	99,35 ^a ± 0,14	8,48 ^a ± 0,29
3	0,5265 ^a ± 0,01	2,93 ^a ± 0,28	99,19 ^a ± 0,11	6,62 ^b ± 0,71

*Formulação: Branco= preparado sólido comercial; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

¹ Valores expressos em médias seguidas de desvios-padrões. ² Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Fonte: Autoria própria (2019).

Valores inferiores de atividade de água foram relatados por Anekella (2012) em microencápsulas de *Lactobacillus acidophilus* NRRL B-4495 e *Lactobacillus rhamnosus* NRRL B-442 utilizando suco de framboesa e maltodextrina como agentes encapsulantes. Após 30 dias de estocagem em temperatura ambiente, o autor observou valores de atividade de água entre 0,259 e 0,338.

Os valores de umidade dos pós para refresco probióticos estão de acordo com os descritos por Dias et al. (2018) que utilizou a técnica de *spray drying* para encapsular suco de maracujá adicionado de *B. animalis* ssp. *lactis* BB-12 com maltodextrina e/ou inulina. Os autores observaram um valor de 4,38%, após 15 dias de estocagem e a temperatura ambiente, para as microcápsulas de maltodextrina contendo *B. animalis* ssp. *lactis* BB-12 e suco de maracujá. Sob as mesmas condições, porém utilizando inulina como agente encapsulante, os autores verificaram uma umidade de 2,53%.

Os valores de solubilidade encontrados neste estudo não variaram consideravelmente entre si. Valores superiores a 90% de solubilidade foram demonstrados por Carvalho et al. (2018) ao microencapsular o *L. acidophilus* LA 5 utilizando dextrina como agente encapsulante e adiciona-lo a preparado sólido para refresco sabor laranja. Os resultados deste estudo foram superiores aos descritos por Dias et al. (2018) que adicionou microcápsulas de *B. animalis* ssp. *lactis* BB-12 em suco de maracujá.

O encapsulamento do *L.acidophilus* com a 2,5 g 100ml⁻¹ de proteína extraída do farelo de arroz desengordurado e 10 g 100ml⁻¹ de maltodextrina

(tratamento 3) apresentou-se menos higroscópico do que tratamento 2 (8 g 100ml⁻¹ de maltodextrina e 12 g 100ml⁻¹ de extrato de soja), confirmando o expresso por Tonon et al. (2008) que verificou uma correlação entre o aumento da concentração de maltodextrina e um menor teor de higroscopicidade, devido ao fato deste agente carreador ser um material de baixa higroscopicidade.

Resultados superiores de higroscopicidade foram descritos por Kingwater et al. (2015) que utilizaram a técnica de *spray drying* para secar o *L. casei*. Os autores apresentaram valores de 21,02% para o probiótico encapsulado com goma arábica, inulina e suco de lichia e 27,65% utilizando apenas maltodextrina e suco de lichia.

Os valores de pH não variaram significativamente entre si, exceto pela formulação contendo o probiótico livre (Tabela 6). Nas condições deste trabalho, os resultados de pH foram semelhantes aos apresentados por Soares et al. (2014) que avaliaram diferentes preparados sólidos para refresco sabor laranja, observando valores entre 2,72 e 3,21. Constatando que o preparado sólido para refresco probiótico não diferiu das amostras comerciais quanto ao pH.

Tabela 6: pH, acidez titulável e tempo de reconstituição das diferentes formulações do preparado sólido para refresco probiótico.

Formulação*	pH	Acidez Titulável (%)	Reconstituição (segundos)
Branco	3,02 ^b ± 0,01	0,51 ^e ± 0,1	70
Controle	3,64 ^a ± 0,01	1,04 ^d ± 0,08	> 300
1	3,02 ^b ± 0,08	1,18 ^c ± 0,01	240
2	3,04 ^b ± 0,08	1,27 ^b ± 0,1	297
3	2,92 ^b ± 0,06	1,46 ^a ± 0,06	274

*Formulação: Branco= preparado sólido comercial; Controle = preparado sólido comercial + Probiótico livre; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

¹ Valores expressos em médias seguidas de desvios-padrões. ² Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Fonte: Autoria própria (2019).

A acidez titulável das diferentes formulações variaram significativamente entre si (tabela 6) e apresentaram-se superiores às verificadas por Cardoso et al. (2013) e Caleguer et al. (2006), que avaliaram diferentes preparados sólidos para

refresco sabor laranja e descreveram valores de 0,05% e entre 0,18 e 0,51%, respectivamente.

Os resultados superiores de acidez titulável deste estudo podem ser explicados pelo efeito tamponante dos diferentes materiais de parede utilizados nas formulações contendo o probiótico encapsulado.

Observa-se que as formulações contendo o microrganismo encapsulado necessitaram de um tempo maior para se reconstituir, quando comparadas a formulação contendo o preparado sólido para refresco comercial, enquanto que a formulação controle, não se diluiu totalmente. Essas diferenças podem ser explicadas pela composição dos diferentes materiais de parede e da cultura probiótica liofilizada utilizada.

Lima et al. (2013) desenvolveu um suco de banana em pó probiótico e observou que o mesmo levou 310,8 segundos para se reconstituir. Da mesma forma, Souza (2009) ao realizar secagem de misturas de polpas de frutas tropicais em leite de jorro obteve um resultado de 315 segundos. De acordo com os autores, o tempo que um pó leva para se reidratar, está ligado ao conteúdo e características da partícula, tais como tamanho e formato, bem como da temperatura do solvente em que o pó será reconstituído.

5.3 AVALIAÇÃO DA SOBREVIVÊNCIA DO *L. acidophilus* MICROENCAPSULADO ADICIONADO AO PREPARADO SÓLIDO PARA REFRESCO EM FLUIDOS GÁSTRICO E INTESTINAL SIMULADOS

A avaliação da sobrevivência após a digestibilidade, foi realizada na primeira e quarta semana de armazenamento e os resultados estão descritos na Tabela 7.

Observa-se tanto na primeira quanto na segunda simulação de digestibilidade, que a maior redução da viabilidade foi da formulação contendo o preparado sólido para refresco e o microrganismo livre, novamente confirmando a capacidade de proteção dos materiais de parede. Esta formulação apresentou

maiores contagens de células viáveis pelo fato de ter sido adicionado o probiótico livre na mesma proporção do microrganismo encapsulado.

De acordo com os resultados expostos acima, na primeira simulação da digestibilidade a formulação 1 apresentou menor perda de viabilidade entre as formulações contendo o probiótico encapsulado (2,77 ciclos log). Kingwatee et al (2015), ao atomizarem maltodextrina, inulina e o suco de lichia adicionado de *L. casei* 01, demonstraram que os materiais encapsulantes protegeram o probiótico das condições gastrointestinais simuladas, porém apresentaram perda da viabilidade superior a este trabalho (4,88 ciclos log).

Em condições similares a este trabalho, Carvalho et al. (2018) verificaram uma redução de 3,72 unidades logarítmicas para o *L. acidophilus* La-5 microencapsulado e incorporado a preparado sólido para refresco após simular a passagem pelo trato gastrointestinal.

Já na segunda simulação da digestibilidade (após 21 dias de armazenamento), a formulação 3 apresentou menor perda de viabilidade, apresentando uma taxa de sobrevivência de 64,25%.

Resultados semelhantes foram descritos por Dimitrellou et al. (2016) que microencapsularam o *Lactobacillus casei* ATCC 393 utilizando leite desnatado em pó reconstituído como agente encapsulante. Os autores observaram uma redução de 4,03 log UFC g⁻¹ nas células livres e de 2,10 log UFC g⁻¹ nas microencapsuladas.

Condições análogas foram aplicadas no trabalho de Silva et al. (2015) que microencapsularam por *spray drying* *Bifidobacterium animalis* e *Lactobacillus acidophilus* utilizando como agentes encapsulantes acetato ftalato de celulose, glicerol, leite em pó integral, maltodextrina, trehalose, frutoligossacarídeo, hi-maize 260 e Tween 80. Os autores não verificaram sobrevivência dos micro-organismos livres após 120 e 240 minutos de incubação nas condições gastrointestinais simuladas, no entanto notaram uma redução de aproximadamente 2,14 log UFC g⁻¹ e 2,97 log UFC g⁻¹ para as cápsulas contendo o *B. animalis* e *L. acidophilus* respectivamente, após 360 minutos de incubação.

Tabela 7: Sobrevivência do *L. acidophilus* livre e encapsulados às condições gastrointestinais simuladas após 7 e 21 dias de armazenamento.

Formulação*	Tempo (dias)	Antes simulação digestibilidade**	Após simulação digestibilidade**	Redução viabilidade (ciclos log)
Controle	7	14,44 ± 0,69	8,77 ± 0,89	5,67
	21	9,47 ± 0,88	4,43 ± 0,92	5,04
1	7	6,33 ± 0,77	3,56 ± 0,79	2,77
	21	5,50 ± 0,86	3,19 ± 0,16	2,31
2	7	7,09 ± 0,26	3,54 ± 0,01	3,55
	21	5,58 ± 0,83	3,22 ± 0,11	2,36
3	7	7,26 ± 0,36	2,94 ± 0,08	4,32
	21	5,65 ± 0,61	3,63 ± 0,21	2,02

*Formulação: Controle = preparado sólido comercial + Probiótico livre; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

** Em log UFC g⁻¹

¹ Valores expressos em médias seguidas de desvios-padrões.

Fonte: Autoria própria (2019).

Menores reduções da viabilidade foram relatadas por Maciel et al. (2014) ao microencapsularem o *L. acidophilus* La-5 com soro doce e leite desnatado. Os autores observaram, após 7 horas de simulação, uma redução de 3,11 ciclos log para o micro-organismo livre, enquanto o microencapsulado com soro doce manteve sua contagem e o *L. acidophilus* La-5 microencapsulado com leite desnatado aumentou em 1,64 ciclos log.

Constata-se uma disparidade nos resultados dos trabalhos, porém deve-se levar em conta às condições do estudo, a resistência natural dos diferentes microrganismos, diferentes valores de pH, presença ou ausência de enzimas e diferentes materiais de parede.

Portanto, os resultados acima, demonstram que a microencapsulação protegeu o micro-organismo das condições gastrointestinais simuladas.

5.4 DETERMINAÇÃO DA COR E DA VISCOSIDADE DOS PÓS PARA REFRESCO PRONTOS PARA O CONSUMO

A análise de cor foi realizada durante quatro semanas e as variações dos parâmetros L*, a* e b* estão apresentadas na Tabela 8.

A partir dos resultados desta análise foi possível observar diferenças nas propriedades de cor das formulações devido aos diferentes agentes encapsulantes utilizados.

Na tabela 8 nota-se que não houve uma diferença significativa da luminosidade entre as formulações estudadas. Os valores de L* foram maiores para as formulações 1 e 3 ao final dos dias de estocagem, este comportamento pode ser explicado pelo fato da formulação 1 ter utilizado dextrina como agente carreador e a formulação 3 conter uma quantidade maior de maltodextrina que a formulação 2, uma vez que dextrina e maltodextrina possuem coloração branca e diluem a coloração alaranjada do preparado sólido para refresco sabor laranja.

Tabela 8: Parâmetros de cor das formulações durante 21 dias.

Formulação*	Dias	Parâmetros		
		L	a*	b*
Controle	0	38,82 ^a ± 0,09	0,23 ^b ± 0,31	21,08 ^b ± 0,17
	7	39,31 ^a ± 0,33	1,09 ^b ± 0,17	20,60 ^b ± 0,56
	14	38,62 ^a ± 0,21	2,68 ^b ± 0,38	20,41 ^b ± 0,29
	21	36,54 ^a ± 0,43	3,40 ^b ± 0,74	19,24 ^b ± 0,59
1	0	37,44 ^a ± 0,10	-0,56 ^a ± 0,01	21,88 ^a ± 0,06
	7	37,49 ^a ± 0,13	-0,69 ^a ± 0,03	22,04 ^a ± 0,28
	14	37,34 ^a ± 0,04	-0,52 ^a ± 0,01	21,71 ^a ± 0,11
	21	38,64 ^a ± 0,03	-0,31 ^a ± 0,02	22,65 ^a ± 0,05
2	0	38,08 ^a ± 0,85	0,86 ^{a,b} ± 0,19	21,97 ^a ± 0,71
	7	37,41 ^a ± 0,26	0,60 ^{a,b} ± 0,01	22,51 ^a ± 0,31
	14	38,30 ^a ± 0,28	1,05 ^{a,b} ± 0,10	22,14 ^a ± 0,15
	21	38,36 ^a ± 0,18	1,02 ^{a,b} ± 0,13	22,28 ^a ± 0,17
3	0	38,38 ^a ± 0,16	0,24 ^{a,b} ± 0,10	21,96 ^a ± 0,07
	7	38,02 ^a ± 0,20	0,28 ^{a,b} ± 0,06	21,75 ^a ± 0,12
	14	38,29 ^a ± 0,15	0,43 ^{a,b} ± 0,11	21,45 ^a ± 0,23
	21	39,69 ^a ± 0,14	0,48 ^{a,b} ± 0,73	23,11 ^a ± 0,08

*Formulação: Controle = preparado sólido comercial + Probiótico livre; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

¹ Valores expressos em médias seguidas de desvios-padrões. ² Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey
Fonte: Autoria própria (2019).

Já para o parâmetro a* (tonalidades de vermelho (a+) a verde (a-)), não houve diferença significativa entre as formulações, porém ao final dos 21 dias de estocagem a formulação controle apresentou-se mais escura e avermelhada que as demais.

Em relação ao parâmetro b*, cuja variação é do amarelo (+) para o azul (-), apenas a formulação contendo o *L. acidophilus* livre diferenciou-se das demais, apresentando valores menores de b*. A cor da cultura probiótica liofilizada, pode ter sido responsável por esta leve redução da cor amarela, pois a mesma apresenta cor rósea.

As formulações contendo o micro-organismo livre e encapsulado com os diferentes materiais de parede não diferiram significativamente entre si com relação a viscosidade, conforme se observa na Tabela 9.

Tabela 9: Viscosidade das diferentes formulações de pó para refresco

Formulação*	Viscosidade (cP)
Branco	1,22 ^c ± 0,01
Controle	1,30 ^{a, b} ± 0,01
1	1,31 ^{a, b} ± 0,03
2	1,33 ^b ± 0,01
3	1,28 ^a ± 0,01

*Formulação: Branco = preparado sólido para refresco comercial; Controle = preparado sólido comercial + Probiótico livre; 1 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com dextrina, 91 °C e 0,75 L h⁻¹; 2 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com maltodextrina e extrato de soja, 0,55 L h⁻¹ e 85 °C; 3 = preparado sólido comercial + Probiótico encapsulado com CPFA e maltodextrina, 78 °C e 0,58 L h⁻¹.

¹ Valores expressos em médias seguidas de desvios-padrões. ² Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2019).

Observa-se que as formulações contendo o probiótico microencapsulado foram mais viscosas do que as amostras contendo apenas o preparado sólido para refresco, o que segundo Nesterenko et al. (2013), deve-se a uma maior quantidade de sólidos solúveis, o que resulta numa solução mais viscosa.

6. CONCLUSÃO

Adicionar o *L. acidophilus* livre e microencapsulado com os diferentes materiais de parede ao preparado sólido para refresco, proporcionou uma sobrevivência satisfatória e considerada por alguns autores como a quantidade ideal para o consumo diário de probióticos.

As formulações do preparado sólido para refresco apresentaram propriedades de atividade de água, higroscopicidade e umidade adequadas. As diferentes microcápsulas contendo o microrganismo também demonstraram-se similar ao pó para refresco comercial, quanto a sua coloração.

Os resultados obtidos demonstram a viabilidade da utilização do preparado sólido para refresco como matriz alimentícia para incorporação de probióticos, como alternativa aos produtos de origem animal probióticos.

Todas as formulações contendo o probiótico encapsulado apresentaram ótimos valores de viabilidade e sobrevivência após simulação da digestibilidade quando comparados a formulação contendo o *L. acidophilus* livre, comprovando que as microcápsulas foram capazes de proteger o probiótico.

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que a dextrina foi o melhor material de parede quanto a viabilidade do microrganismo microencapsulado em preparado sólido para refresco e que há evidência de um grande potencial de aplicação das microcápsulas no pó para refresco, que se distingue dos produtos probióticos já conhecidos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, F. D. L. **Desidratação de suco de abacaxi probiótico por spray-dryer**. 2012. Tese de Doutorado. Dissertação (Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Centro de Ciências Agrárias-Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.
- ALVARENGA BOTREL, D. et al. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 47, n. 11, p. 2289–2296, 2012.
- ALVES, N. N. et al. Spouted bed as an efficient processing for probiotic orange juice drying. **Food Research International**, v. 101, p. 54-60, 2017.
- ANEKELLA, K. **Microencapsulation of probiotics (Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus) in raspberry powder by spray drying: optimization and storage stability studies**. p. 1–128, 2011.
- ANEKELLA, K.; ORSAT, V. Optimization of microencapsulation of probiotics in raspberry juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 17–24, 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. Arlington: AOAC, 1998. v.1.
- ARSLAN, S. et al. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var: *Bouardii* with different wall materials by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 685–690, 2015.
- BANSODE, S. S.; BANARJEE, S. K.; GAIKWAD, D. D.; JADHAV, S. L.; THORAT, R. M. Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 38–43, 2010.
- BARRETO, A. R. et al. Materiais de revestimento utilizados na microencapsulação de probióticos Coating materials used in the microencapsulation of probiotics. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 164–174, 2015.
- BERNARDI, S. **Obtenção de concentrado proteico do farelo de arroz e avaliação das propriedades químicas e funcionais**. 2015. 100 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n. 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. Brasília, 1999d.
- BUSTAMANTE, M. et al. Effective *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium infantis* encapsulation with chia seed (*Salvia hispanica* L.) and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) mucilage and soluble protein by spray drying. **Food Chemistry**, v. 216, p. 97–105,

2017.

CALEGUER, V. F.; TOFFOLI, E. C.; DE TOLEDO BENASSI, M. Avaliação da aceitação de preparados sólidos comerciais para refresco sabor laranja e correlação com parâmetros físico-químicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 4, 2006.

CANO-CHAUCA, M. et al. 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, n. 4, p. 420–428, 2005.

CARDOSO, A. M. R. et al. Características físico-químicas de sucos de frutas industrializados: estudo in vitro. **Odonto**, v. 21, n. 41-42, p. 9-17, 2013.

CARMO, E. L. et al. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 1, n. 2, p. 30-44, 2015.

CAVALHEIRO, C. P. et al. Encapsulação: alternativa para a aplicação de microrganismos probióticos em alimentos termicamente processados. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, 2015.

CARVALHO, K. **Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* La-5 com dextrina de mandioca como agente encapsulante e aplicação na formulação de preparado sólido para refresco**. 2018. 80 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

COOK, M. T. et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 162, n. 1, p. 56–67, 2012.

DERRIEN, M.; VEIGA, P. Rethinking Diet to Aid Human–Microbe Symbiosis. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 2, p. 100–112, 2017.

DIAS, C. O. et al. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. **Food bioscience**, v. 24, p. 26-36, 2018.

DIAS, D. R. et al. Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. **Current Opinion in Food Science**, v. 13, p. 31–37, 2017.

DIMITRELLOU, D. et al. Survival of spray dried microencapsulated *Lactobacillus casei* ATCC 393 in simulated gastrointestinal conditions and fermented milk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 169–174, 2016.

FABIAN, C. B.; HUYNH, L. H.; JU, Y. H. Precipitation of rice bran protein using carrageenan and alginate. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 375–379, 2010.

FAO/WHO. (2001). **Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria**. Report of a Joint FAO/WHO Expert. Cordoba, Argentina Cordoba, Argentina.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. Microencapsulation of *bifidobacteria* by spray drying in

the presence of prebiotics. **Food Research International**, v. 45, n. 1, p. 306–312, 2012.

FUCHS, R. H. B. et al. “iogurte” de soja suplementado com oligofrutose e inulina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 175–181, 2005.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of *spray-drying* in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research International**, v. 40, n. 9, p. 1107–1121, 2007.

GOULA, A. M.; ADAMOPOULOS, K. G. A new technique for spray drying orange juice concentrate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 11, n. 2, p. 342–351, 2010.

HAFFNER, F. B.; DIAB, R.; PASC, A. Encapsulation of probiotics: insights into academic and industrial approaches. **AIMS Materials Science**, v. 3, n. 1, p. 114-136, 2016.

HUANG, S. et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 63, p. 1-17, 2017.

IAL. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**, p. 589–625, 2008.

JANTZEN, M.; GÖPEL, A.; BEERMANN, C. Direct spray drying and microencapsulation of probiotic *Lactobacillus reuteri* from slurry fermentation with whey. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 4, p. 1029–1036, 2013.

KINGWATEE, N. et al. Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials. **LWT-Food Science and Technology**, v. 62, n. 1, p. 847-853, 2015.

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. 329-347, 2008.

KÜSTER-BOLUDA, I.; VIDAL-CAPILLA, I. Consumer attitudes in the election of functional foods. **Spanish Journal of Marketing - ESIC**, v. 21, p. 65–79, 2017.

LIMA, D. C. N. de. **Suco de banana em pó probiótico**. 2013. 81 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/256422>>. Acesso em: 22 jan. 2019.

LIMA, J. R. et al. Incorporação de *Lactobacillus casei* microencapsulado em queijo tipo coalho. **Revista Ciência & Saúde**, v. 7, n. 1, p. 27-34, 2014.

LOPES, F. S. et al. Efeitos de farelo alimentar fibroso produzido a partir da linhaça em indivíduos com constipação intestinal. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentavel**, v. 10, n. 1, p. 213-217, 2015.

LOTFY, S. Controlling degradation of low-molecular-weight natural polymer “dextrin”

using gamma irradiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 44, n. 1, p. 57–63, 2009.

MENEZES, L. A. A. et al. Soy extract and maltodextrin as microencapsulating agents for *Lactobacillus acidophilus*: a model approach. **Journal of Microencapsulation**, n. just-accepted, p. 1-44, 2019.

MESTRY, A. P.; MUJUMDAR, A. S.; THORAT, B. N. Optimization of spray drying of an innovative functional food: Fermented mixed juice of carrot and watermelon. **Drying Technology**, v. 29, n. 10, p. 1121–1131, 2011.

MORAES, F. de. **Polpa desidratada de caju amarelo (*anacardium occidentale L.*) por atomização em spray dryer: caracterização físico-química, bioativa e estudo da vida de prateleira do produto**. 2014. 140 f. 2014. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado) -Curso de Engenharia Química, Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

NESTERENKO, A. et al. Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, n. 1, p. 469–479, 2013.

NILUFER-ERDIL, D. et al. Effect of soy milk powder addition on staling of soy bread. **Food Chemistry**, v. 131, n. 4, p. 1132–1139, 2012.

NISHINARI, K. et al. Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. **Food Hydrocolloids**, v. 39, p. 301–318, 2014.

NUNES, G. L. et al. Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de spray drying. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, 2015.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: Bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010.

PAIM, D. R. S. F. et al. Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis M.*) juice by spray drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 21–25, 2016.

PEDROSO, D. de L. et al. Protection of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* by microencapsulation using spray-chilling. **International Dairy Journal**, v. 26, n. 2, p. 127-132, 2012.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulation and release controlled by the diffusion of food ingredients produced by spray drying: a review. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2018.

PRATA, A. S. et al. Wall Material Selection for Encapsulation by Spray Drying. **Journal of Colloid Science and Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 86–92, 2013.

QI, X. et al. Applications of α -limit dextrin as a matrix forming excipient for fast disintegrating buccal dosage formats. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 15, n. 5, p. 669–679, 2012.

RAIMUNDO, É. et al. Cor, viscosidade e bactérias lácticas em suco de laranja pasteurizado e submetido ao efeito da luz durante o armazenamento. **Alimentos e Nutrição**, v. 18, n. 4, p. 449–456, 2007.

REINECCIUS, G. A. The Spray Drying of Food Flavors. **Drying Technology**, v. 22, n. 6, p. 1289–1324, 2004.

RODRIGUES, D. et al. Influence of L-cysteine, oxygen and relative humidity upon survival throughout storage of probiotic bacteria in whey protein-based microcapsules. **International Dairy Journal**, v. 21, n. 11, p. 869-876, 2011.

ROKKA, S.; RANTAMÄKI, P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 1, p. 1–12, 2010.

SANTOS, D. X. et al. Improved probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in a mousse containing *Lactobacillus acidophilus* La-5 microencapsulated with inulin by spray drying. **LWT Food Science and Technology**, v. 99, p. 404-410, 2019.

SANTOS, L. D. dos. **Influência de dextrina e maltodextrina oxidadas de amido de mandioca nas características farinográficas da farinha de trigo**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SARIFUDIN, A.; ASSIRY, A. M. Some physicochemical properties of dextrin produced by extrusion process. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 13, n. 2, p. 100–106, 2014.

SHAHIDI, F.; HAN, X. Q. Encapsulation of Food Ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, n. 6, p. 501–547, 1993.

SHEU, T. Y.; MARSHALL, R. T.; HEYMANN, H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. **Journal of dairy science**, 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8345127>

SILVA, A. C. C. et al. Alimentos contendo ingredientes funcionais em sua formulação: revisão de artigos publicados em revistas brasileiras. **Revista Conexão Ciência I**, v. 11, n. 2, p. 133-144, 2016.

SILVA, D. M. et al. Structural analysis of dextrans and characterization of dextrin-based biomedical hydrogels. **Carbohydrate Polymers**, v. 114, p. 458–466, 2014.

SILVA, M. P. et al. Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **LWT Food Science and Technology**, v. 75, p. 640-647, 2017.

SILVA, P. T. da et al. Microencapsulação de probióticos por spray drying: avaliação da sobrevivência sob condições gastrointestinais simuladas e da viabilidade sob diferentes temperaturas de armazenamento. **Ciência Rural**, v. 45, n. 7, p. 1342-1347, 2015.

SOARES, A. K.; BONVINI, Brenda; FARIAS, Maria Mercês Aquino Gouveia. Avaliação

do potencial erosivo e cariogênico de sucos artificiais em pó. **Revista de Odontologia da Universidade Cidade de São Paulo**, v. 26, n. 3, p. 197-203, 2014.

SOLANKI, H. K. et al. Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

SOUZA, J. S. **Secagem de misturas de polpas de frutas tropicais em leite de jorro**. 2009. 157 f. 2009. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Engenharia Química) -Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

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, n. 3, p. 411-418, 2008.

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

VANISKI, R. **Microencapsulação de probiótico utilizando proteína de farelo de arroz e maltodextrina como agentes encapsulantes e sua aplicação em iogurte**. 2017. 102 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2017.

VERSANTVOORT, C. H. M. et al. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 2005.