

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS
CURSO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LAURA LUISI ANTUNES

**VIABILIDADE DE *Lactobacillus acidophilus* LIVRE E
MICROENCAPSULADO EM SUCOS FUNCIONAIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MEDIANEIRA

2018

LAURA LUISI ANTUNES

**VIABILIDADE DE *Lactobacillus acidophilus* LIVRE E
MICROENCAPSULADO EM SUCOS FUNCIONAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Medianeira.

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

MEDIANEIRA

2018



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Medianeira
Diretoria de Graduação e Educação Profissional
Coordenação Engenharia de Alimentos

Laura Luisi Antunes

Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em sucos funcionais

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado às 14:00 horas do dia 19 de novembro de 2018 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.

Prof^ª. Dr^ª Deisy Alessandra Drunkler
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª Celeide Pereira
Membro da Banca

Prof^ª. Dr^ª Marinês Paula Corso
Membro da Banca

Laura Luisi Antunes
Aluna

Medianeira, 19 de novembro de 2018.

¹ A folha de aprovação assinada encontra-se na coordenação do curso.

A minha família, pelo incentivo, compreensão,
apoio e por sempre acreditarem em mim.

Com muito amor, DEDICO!

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Silvia e Evando, por estarem sempre do meu lado, principalmente nos momentos difíceis, pela compreensão, pela paciência, pelo apoio, pelo incentivo, pelas palavras de consolo, pelos conselhos, e claro pelo amor, por sempre acreditar que este sonho tornaria realidade. Sem vocês nada seria possível.

À minha irmã Mariany que mesmo longe me apoiou em todos os momentos, e muitas vezes fez o possível e o impossível para me ajudar. Obrigada por estar sempre ao meu lado.

À minha professora orientadora Dr^a. Deisy A. Drunkler pela dedicação e ajuda para que este trabalho pudesse ser concluído.

Aos professores por todo conhecimento passado, que puderam enriquecer os meus estudos e a minha vida de acadêmica.

Aos amigos conquistados durante o curso, pela amizade, pelo apoio e pelos momentos de descontração.

À todas as pessoas que de alguma forma, diretamente ou indiretamente, fizeram parte desse momento tão importante da minha vida.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

ANTUNES, Laura Luisi. **Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em sucos funcionais**. 2018. 80 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia De Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

O aumento no interesse e consumo de alimentos funcionais, em especial os contendo micro-organismos probióticos, deve-se a conscientização da importância que o alimento tem sobre a saúde. Entretanto, a maioria desses produtos são de origem láctea, resultando em um impedimento do consumo por parte da população, como intolerantes à lactose, alérgicos à proteína do leite e hipercolesterolêmicos. A partir deste problema, os sucos de frutas surgem como promissores veículos de culturas probióticas. A técnica da microencapsulação contribui para aumentar a sobrevivência dos micro-organismos por formar uma barreira física contra condições desfavoráveis. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo elaborar bebidas funcionais a partir dos sucos comerciais de laranja, uva e limonada adicionados de *Lactobacillus acidophilus*, livre ou microencapsulado pelo método de *spray drying* utilizando como material de parede extrato de soja e maltodextrina. Os sucos de frutas controle, com células probióticas livres e microencapsuladas foram armazenados sob refrigeração a 8 °C por 28 dias, as análises físico-químicas e de viabilidade foram realizadas nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias. As bebidas tiveram sua composição centesimal detalhada no 7º dia de armazenamento. As simulações gastrointestinais (SGI) *in vitro*, foram realizadas no início e final do armazenamento, para avaliar a taxa de sobrevivência das células. O suco que apresentou melhores resultados em relação a viabilidade durante a vida útil e sobrevivência ao sistema de digestibilidade *in vitro* foi submetido à análise sensorial, microbiológica, reológica e de cor. Após 28 dias de estocagem, as bebidas contendo microcápsulas e células livres de *L. acidophilus* apresentaram 6,72 e 3,03 log UFC.mL⁻¹ de viabilidade, respectivamente, no suco de laranja e 6,18 e 2,28 log UFC.mL⁻¹, respectivamente, no suco de uva. A limonada não apresentou células viáveis no 28º dia para nenhum dos tratamentos analisados. Durante as SGI, *L. acidophilus* livre presente nos sucos de frutas perdeu em média 3,06 ciclos log de viabilidade, enquanto que células encapsuladas mostraram resistência, reduzindo 1,24 log UFC.mL⁻¹ após simulação gastrointestinal *in vitro* no 1º dia de armazenamento. Ao final do armazenamento, o probiótico livre perdeu toda viabilidade, enquanto o microencapsulado, apresentou uma redução de 1,74 log UFC.mL⁻¹ nos sucos de laranja e uva, já a limonada não apresentou células viáveis. Apesar das alterações físico-químicas e na composição centesimal dos sucos adicionados de *L. acidophilus* livre e microencapsulado, essas não foram perceptíveis sensorialmente. Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas mostraram-se dentro dos parâmetros de normalidade exigidos pela legislação vigente, qualificando os produtos como aptos para o consumo. Todas as todas as formulações dos sucos de laranja obtiveram uma aceitação superior a 70 % e as médias dos atributos analisados (aparência, consistência, textura, cor, sabor, aroma e avaliação global) não diferiram para nenhum dos três tratamentos, assim como os valores encontrados pela análise de cor e viscosidade. Em relação a intenção de compra, mais de 60 % dos provadores comprariam as amostras avaliadas. Conclui-se que os sucos de laranja e uva foram considerados veículos promissores de culturas probióticas, especialmente quando microencapsuladas.

Palavras-chave: Alimentos funcionais. *Lactobacillus acidophilus*. Probióticos. Suco de frutas.

ABSTRACT

ANTUNES, Laura Luisi. **Viability of free and microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* in functional juices**. 2018. 80 f. Course Conclusion Work (Food Engineering) – The Federal University of Technology - Paraná, Medianeira, 2018.

Increasing in interested and consumption of functional foods, in particular the type that have probiotics microorganisms is an effect of food awareness with regard to health. However, most of these products are milk origin that not allow part of the population to consume, like lactose intolerant, milk protein allergic and hypercholesterolemia. Considering these problems, the fruit juice could be a promising alternative to probiotic cultures. The microencapsulation technique contributes to increase the microorganism survival because it establishes a physical barrier against unfavorable conditions. Therefore, this research project aims to develop functional drinks based on commercial orange, grape and lemon juices embedded with *Lactobacillus acidophilus*, free or microencapsulated by spray drying method using soybean extract and maltodextrin as wall material. The control fruit juice, with free and microencapsulated probiotic cells were kept in cold storage at 8 °C for 28 days and the physical-chemical analysis, as well as the feasibility analysis, were performed for 1, 7, 14, 21 and 28 days. The beverages centesimal compositions were detailed on the 7th day of storage. The *in vitro* gastrointestinal simulations (GIS) were carried out at the beginning and at the end of the storage period in order to assess the survival rate of the cells. The juice with the best results, in terms of lifespan feasibility and the survivability into the *in vitro* digestibility system, was subjected to color, sensorial, microbiological and rheological analysis. After 28 days of storage, the beverages comprising the microcapsules and free cells of *L. acidophilus* presented a feasibility of 6.72 and 3.03 log UFC.mL⁻¹, respectively, for the orange juice and 6.18 and 2.28 log UFC.mL⁻¹, respectively, for the grape juice. The lemon juice did not show viable cells on the 28th day for none of the analyzed cases. During the GIS, the free *L. acidophilus* included in the fruit juices lost, on average, 3.06 log cycles of viability, while the encapsulated cells presented resistance, reducing 1.24 log UFC.mL⁻¹ after the *in vitro* GIS obtained on the first day of storage. At the end of the storage, the free probiotic lost all its viability, while the microencapsulated one presented a reduction of 1.74 log UFC.mL⁻¹ for the orange and grape juice. The lemon juice did not show viable cells. Physical and chemical influences and centesimal composition of healthy *L. acidophilus* free and microencapsulated juices were not sensorially perceptible. The results of the microbiological and physical-chemical analysis were in accordance to the standard parameters required by the current legislation, qualifying the products as suitable for consumption. All orange juice formulations obtained level of acceptance above 70 % and the average of the analyzed features (appearance, consistency, texture, color, flavor, smell and overall evaluation) did not differ for any of the three process, as well as the values obtained by the color and viscosity analysis. Regarding the purchase intention, more than 60 % the tasters would buy the analyzed samples. The conclusion is that orange and grape juices were considered promising medium for probiotic cultures, in special when microencapsulated.

Keywords: Functional foods. *Lactobacillus acidophilus*. Probiotics. Fruit Juices.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Suco de laranja controle (à esquerda), com <i>L. acidophilus</i> microencapsulado (ao centro) e livre (à direita). (A) Vista de frente; (B) Vista de cima.....	50
Figura 2 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja controle entre 10 °C a 60 °C.....	52
Figura 3 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja adicionado de <i>L. acidophilus</i> microencapsulado entre 10 °C a 60 °C.....	52
Figura 4 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja adicionado de <i>L. acidophilus</i> livre entre 10 °C a 60 °C.	53
Figura 5 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja controle entre 10 °C a 60 °C.	53
Figura 6 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja adicionado de <i>L. acidophilus</i> microencapsulado entre 10 °C a 60 °C.	54
Figura 7 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja adicionado de <i>L. acidophilus</i> livre entre 10 °C a 60 °C.....	54
Figura 8 - Gráfico para avaliação global das três amostras de suco de laranja (controle, livre e microencapsulado) obtido pela escala hedônica.....	57
Figura 9 - Gráfico de intenção de compra dos sucos de laranja controle, com <i>L. acidophilus</i> livre e microencapsulado).....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Contagem de células viáveis (média ± desvio padrão) em log UFC.mL ⁻¹ do micro-organismo probiótico <i>L. acidophilus</i> microencapsulado (M) e livre (L) ao longo de 28 dias de armazenamento dos sucos de laranja, uva e limonada.	36
Tabela 2 - Contagem de células viáveis (média ± desvio padrão) do micro-organismo probiótico <i>L. acidophilus</i> microencapsulado (M) e livre (L) em log UFC.mL ⁻¹ durante a simulação gastrointestinal <i>in vitro</i> no 1º e 28º dia de armazenamento.	39
Tabela 3 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem dos sucos de laranja controle (C), com células livres (L) e microencapsuladas (M) de <i>L. acidophilus</i>	42
Tabela 4 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem dos sucos de uva controle (C), células livres (L) e microencapsuladas (M) de <i>L. acidophilus</i>	43
Tabela 5 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem das limonadas controle (C), células livres (L) e microencapsuladas (M) de <i>L. acidophilus</i>	43
Tabela 6 - Composição química dos sucos de laranja, uva e limonada.	46
Tabela 7 - Resultados médios das coordenadas das amostras de sucos de laranja controle, com <i>L. acidophilus</i> livre e microencapsulado levado a análise sensorial.	50
Tabela 8 - Dados reológicos dos sucos de laranja controle (C), adicionado de <i>L. acidophilus</i> livre e microencapsulado (M) ajustado pelo modelo Lei da Potência nas temperaturas de 10 °C a 60 °C.	51
Tabela 9 - Viscosidades aparente em função das diferentes temperaturas para o suco de laranja.	55
Tabela 10 - Média das notas atribuídas na análise sensorial por meio da escala hedônica.	56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS	15
3.2 PROBIÓTICOS	16
3.2.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	18
3.3 MICROENCAPSULAÇÃO	20
3.3.1 Material de parede	21
3.3.2 Atomização	22
3.4 SUCOS DE FRUTAS	23
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 MATERIAIS	25
4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DOS PROBIÓTICOS UTILIZANDO EXTRATO DE SOJA E MALTODEXTRINA	25
4.2.1 Preparo da cultura probiótica	25
4.2.2 Preparo do material encapsulante	26
4.2.3 Microencapsulação utilizando <i>spray dryer</i>	26
4.3 ELABORAÇÃO DOS SUCOS FUNCIONAIS	26
4.3.1 Sucos de frutas adicionados de <i>L. acidophilus</i> microencapsulado	26
4.3.2 Sucos de frutas adicionados de <i>L. acidophilus</i> livre	27
4.4 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> LIVRE E MICROENCAPSULADO NOS SUCOS DE FRUTAS	27
4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO <i>L. acidophilus</i> MICROENCAPSULADO E LIVRE ADICIONADO NOS SUCOS EM SISTEMA DE DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	28
4.6 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	28
4.6.1 pH	29
4.6.2 Acidez total titulável	29
4.6.3 Sólidos solúveis totais	29
4.6.4 Ratio	30
4.6.5 Umidade	30
4.6.6 Sólidos totais	30

4.6.7 Determinação de cinzas	30
4.6.8 Proteínas	31
4.6.9 Lipídios.....	31
4.6.10 Carboidratos	32
4.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS	32
4.8 ANÁLISE SENSORIAL	32
4.9 ANÁLISE REOLÓGICA.....	33
4.10 DETERMINAÇÃO DE COR.....	34
4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE <i>Lactobacillus acidophilus</i> NOS SUCOS DE FRUTAS.....	36
5.2 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO <i>L. acidophilus</i> MICROENCAPSULADO E LIVRE ADICIONADO NOS SUCOS EM SISTEMA DE DIGESTIBILIDADE <i>IN VITRO</i>	39
5.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	42
5.4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS SUCOS DE FRUTAS	46
5.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICA, DE COR, REOLÓGICA E SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA.....	48
5.5.1 Qualidade microbiológica.....	49
5.5.2 Avaliação da cor	49
5.5.3 Análise reológica	50
5.5.4 Análise sensorial.....	55
6 CONCLUSÃO.....	59
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE A	76
APÊNDICE B.....	80

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, nota-se uma crescente preocupação das pessoas em relação aos alimentos que ingerem, isso porque elas estão mais conscientes da importância que uma boa alimentação tem sobre a saúde (ANSELMO, 2018). Dessa forma, tem-se intensificado a busca por alimentos que além de seu aporte nutritivo, também contribuam com benefícios e promovam o bem-estar de quem os consome (ALVES, 2012; SIMEONI et al., 2014). Devido as novas necessidades que os consumidores vêm apresentando o mercado de alimentos funcionais está ganhando cada vez mais destaque na indústria alimentícia (ALVES, 2016).

Dentre os alimentos funcionais, um grupo que se destaca é o dos probióticos, micro-organismos vivos que proporcionam efeitos benéficos à saúde do hospedeiro quando ingeridos em quantidades adequadas (BARROS, 2018). Uma ampla variedade de bactérias é utilizada e estudada sob alegação de propriedades funcionais; entretanto, as cepas com maior destaque comercialmente são as de bactérias ácido lácticas e as bifidobactérias (ANSELMO, 2018).

A utilização de bactérias probióticas em alimentos vem aumentando como forma de satisfazer as novas exigências do mercado. Hoje, os probióticos são aplicados em diversos alimentos, em sua grande maioria derivados lácteos como iogurtes, leites fermentados e queijos. Dessa forma, são poucas as opções de produtos de origem vegetal (BAKR, 2015; TEBERGA, 2017).

Vários problemas têm sido relatados sobre a incorporação de bactérias probióticas em produtos lácteos, relacionados à acidez, pH, concentração de oxigênio, interação dos micro-organismos adicionados com os empregados na elaboração do produto, entre outros (COOK et al., 2012; MENEZES et al., 2013).

Como alternativa, os sucos de fruta podem ser utilizados como veículo desses micro-organismos, já que apresentam características distintas às dos derivados lácteos, sobretudo por não apresentar uma cultura iniciadora que compete com os probióticos. Além disso, possuem a qualidade de serem bem aceitos pelos consumidores, em especial por serem ricos em nutrientes (DING; SHAH, 2008; FARIAS, 2016). Um dos principais motivos para a aplicação dos probióticos em alimentos não lácteos está relacionado com o intuito de atender a um distinto grupo, ou seja, pessoas que não podem por algum motivo de saúde consumir este tipo de produto, ou até mesmo por uma questão de preferência (BAKR, 2015; SOARES, 2016).

Por serem instáveis, alguns problemas são encontrados pelas indústrias na hora da adição de probióticos em produtos, como por exemplo, manter estas células viáveis e estáveis durante todo processamento e vida útil do produto (PRATES, 2017). Distintas técnicas têm sido utilizadas para contribuir na proteção dos micro-organismos, tanto no produto, como para aumentar a resistência deles, permitindo assim que os mesmos consigam sobreviver as condições adversas que estão submetidos no trato digestório, como acidez estomacal, presença de sais biliares e enzimas digestivas, e chegarem viáveis ao intestino onde atuarão e proporcionarão efeitos benéficos a saúde do consumidor (SILVA et al., 2015; VANISKI et al. 2017).

A microencapsulação é uma técnica utilizada com o intuito de conferir uma maior proteção as células probióticas em relação às condições adversas que estas estão expostas, como pH, temperatura, oxigênio, solucionando ou pelo menos reduzindo significativamente os problemas relacionados a instabilidade e viabilidade apresentados por elas (TRIPATHI; GIRI, 2014; CHAMPAGNE et al., 2015). Consiste no revestimento dos micro-organismos, em pequenas cápsulas seladas, capazes de liberar seu conteúdo de forma gradual, sob certos estímulos (FRITZEN-FREIRE et al., 2013).

O desenvolvimento de produtos probióticos distintos aos lácteos visa contribuir com a ampliação da oferta de alimentos funcionais e, conseqüentemente, colaborar para que uma maior parte da população possa usufruir dos efeitos benéficos desses micro-organismos. A partir disso, este trabalho buscou elaborar bebidas probióticas a partir dos sucos de laranja, uva e limonada, adicionados de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado, com o intuito de determinar se estes podem ser utilizados como veículos de probióticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver bebidas funcionais a partir de sucos de frutas (uva, laranja e limonada) adicionadas do micro-organismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* na forma livre e microencapsulada por meio da técnica de *spray drying*, utilizando extrato de soja e maltodextrina como material de parede.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a viabilidade das células probióticas livres e microencapsuladas nos sucos de frutas ao longo de seu armazenamento a 8 ± 1 °C.
- Avaliar a sobrevivência do *L. acidophilus* livre e microencapsulado presentes nos sucos funcionais quando submetidos as condições do trato digestório simuladas *in vitro*, no início e ao final do armazenamento;
- Caracterizar os sucos de uva, laranja e limonada quanto a composição centesimal e propriedades físico-químicas;
- Identificar alterações na composição centesimal e nas propriedades físico-químicas nos sucos, com os micro-organismos livres e microencapsulados durante armazenamento;
- Realizar análises microbiológicas nos sucos submetidos à análise sensorial;
- Avaliar os atributos de qualidade sensorial da bebida controle, com *L. acidophilus* livre ou microencapsulado;
- Determinar a cor e a viscosidade dos sucos submetidos à análise sensorial.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS

Já faz anos desde a época em que os seres humanos perceberam a relação que a alimentação tem com a saúde através de observações quanto sua utilização como forma terapêutica ou ainda na prevenção de doenças (VECCHIO et al., 2016; BARROS, 2018).

O aumento da expectativa de vida e de doenças como obesidade, diabetes, hipertensão e problemas cardiovasculares, decorrente dos últimos anos, ocasionou um aumento na procura dos consumidores por uma alimentação saudável, onde além de nutritivos, os alimentos devem promover benefícios a saúde de quem os consomem (OLIVEIRA, 2015; CARDOSO, 2016).

Com o intuito de atender as novas necessidades dos consumidores a indústria alimentícia e a comunidade científica vêm intensificando os esforços para desenvolver novos produtos, que se enquadrem no mercado de alimentos funcionais (ALVES, 2016).

Em meados de 1980 no Japão, o termo “alimento funcional” foi utilizado pela primeira vez para definir produtos fortificados com compostos específicos que ocasionavam efeitos fisiológicos benéficos (SALLES, 2013; MOTTA, 2017). Esse termo surgiu a partir de um programa do governo que visava oferecer para uma população que envelhecia e apresentava uma elevada expectativa de vida alimentos saudáveis, possibilitando assim uma redução de gastos com a saúde pública (FARIAS, 2016; TEBERGA, 2017). Entretanto, só a partir de 1994, quando teve início o processo de regulamentação dos suplementos dietéticos pela *Food and Drug Administration* (FDA), que os alimentos funcionais passaram a impactar de forma significativa sobre a saúde e o mercado (SALLES, 2013).

Há uma grande gama de definições para alimentos funcionais, variando de acordo com cada país e sua legislação, e com a opinião de profissionais da área.

Segundo Sanders (1998), alimentos funcionais são aqueles que além de oferecerem a nutrição básica, promovem saúde. Podem ainda ser definidos como um alimento que faz parte da dieta, que fornece os nutrientes primordiais para mesma e apresentam efeitos benéficos sobre a saúde geral e física, promove uma melhora no funcionamento fisiológico e metabólico, e ainda diminui o risco de doenças (ALVES, 2012; TEBERGA, 2017).

No Brasil, a legislação não apresenta a definição de alimentos funcionais e sim a alegação de propriedade funcional e/ou saúde, estabelecendo as diretrizes para sua utilização.

Desde do ano 1999 esses produtos são regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que determina normas e procedimentos que regularizam a produção, rotulagem e registro dos mesmos (BRASIL, 1999a, 1999b).

3.2 PROBIÓTICOS

No segmento de alimentos funcionais destacam-se os produtos contendo micro-organismos vivos denominados probióticos, representando cerca de 60 a 70 % destes (OLIVEIRA, 2015).

Nos 10 anos até 2012, houve um aumento mundial nas vendas de produtos contendo bactérias probióticas, apresentando um crescimento anual de 8,6 % (OLIVEIRA, 2015). Estima-se que o mercado global de probióticos desde 2013 até 2018 teve um crescimento anual de 6,8 %, impulsionado principalmente por uma região da Ásia-Pacífico, o qual se espera ser o mercado mais proeminente no futuro. Em termos de vendas, o mercado tem previsão de atingir US \$ 44,9 bilhões (€ 33,6 bilhões) em 2018 (STARLING, 2013).

Os probióticos são definidos como micro-organismos vivos que, quando administrados na quantidade correta, conferem benefícios a saúde e bem-estar do hospedeiro (FAO/WHO, 2001; BRASIL, 2002).

Os probióticos atuam no equilíbrio da microbiota intestinal humana, e através da competição, da promoção de efeitos antagônicos e imunológicos, acarretam o aumento da resistência frente aos micro-organismos patogênicos (MENEZES et al., 2013). Em outras palavras, a utilização de probióticos promove um reforço nos mecanismos de defesas do ser humano, uma vez que ocasiona proliferação de bactérias benéficas em contrapartida das patogênicas no organismo, enfraquecendo assim a microbiota prejudicial (FARIA, 2017).

Vários são os efeitos benéficos relatados sobre a utilização de bactérias probióticas no organismo, como: o fortalecimento do sistema imunológico (YAN; POLK, 2011; PALOMAR et al., 2017), a capacidade de decomposição dos ácidos biliares (RAMASAMY et al., 2010), a diminuição dos níveis de colesterol sérico (JONES; MARTONI; PRAKASH, 2012) e pressão sanguínea (MAHBOOBI et al., 2014) e, por consequência, redução da incidência de doenças coronárias, a melhora na absorção de minerais, como ferro e cálcio (DUBEY; PATEL, 2018), produção de vitaminas (LEBLANC et al., 2015), facilitação da digestão, reduzindo até a intolerância a lactose, já que favorece o metabolismo dessa substância (OJETTI et al., 2010;

ALMEIDA et al., 2012), possui atividade anticarcinogênica (NAMI et al., 2014; ZENE et al., 2017), entre outros (UPADRASTA; MADEMPUDI, 2016).

Um micro-organismo considerado probiótico só exerce efeitos benéficos à saúde quando se mantém viável durante toda a vida útil do produto, é capaz de sobreviver a passagem pelo estômago, sob condições ácidas, e na presença das enzimas pancreáticas e das altas concentrações de sais biliares, mantendo sua viabilidade e atividade no intestino e, por fim, serem capazes de se multiplicarem no hospedeiro (MENEZES et al., 2013; FARIAS, 2017; FURTADO, 2017).

A sobrevivência e proliferação desses micro-organismos no organismo está diretamente relacionada com o tipo de dieta ingerida pelo consumidor. Para se obter resultados vantajosos contínuos para o hospedeiro, o consumo de probióticos deve ser diário, e este deve ser associado a uma alimentação balanceada e a hábitos de vida saudáveis (MENEZES et al., 2013; SOARES, 2016).

No Brasil, até 2016, a quantidade mínima de probióticos a serem ingeridos para garantir sua funcionalidade sobre o organismo recomendada pela ANVISA era de, no mínimo, 10^8 a 10^9 UFC na porção diária do produto, sendo obrigatória a comprovação por meio de laudos que atestassem a quantidade mínima viável do micro-organismo até o prazo final de validade e a resistência da cultura frente à acidez gástrica e aos sais biliares (BRASIL, 2008). Após 2016 houve uma atualização da Lista de Alegação de Propriedades Funcionais e de Saúde e, em especial para os probióticos a desobrigação de concentração mínima de células viáveis, mas a exigência dos efeitos benéficos na concentração em que aparece no alimento.

Apesar de não existir um consenso sobre a concentração mínima de probióticos a serem ingeridos para garantir sua funcionalidade sobre o organismo (MARTINS et al., 2016), a maioria da literatura consultada diz que o alimento deve conter, no mínimo, 10^6 a 10^7 UFC/g ou mL de células viáveis probióticas para que possa ser vendido sob alegações de efeitos benéficos à saúde, uma vez que o consumo de 100 g do produto respeitaria a quantidade mínima diária anteriormente determinada pela legislação (BADARÓ et al., 2009; MADUREIRA et al., 2011; RIBEIRO, 2011). Apesar disso, os níveis reais detectados nos produtos são muitas vezes mais baixos devido às condições adversas a que os micro-organismos estão sujeitos durante o armazenamento do produto (CAVALHEIRO et al., 2015).

Entre os micro-organismos probióticos mais comumente utilizados e comercializados em alimentos, destacam-se os pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (MARTINS et al., 2013). Segundo ANVISA os probióticos aprovados são: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* variedades *shirota*, *rhamnosus* e *defensis*, *Lactobacillus*

paracasei, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium* (BRASIL, 2008).

Embora as informações disponíveis sobre os benefícios para a saúde dos probióticos sejam muitas, o desenvolvimento de sistemas de proteção para probióticos nos alimentos ainda é um grande desafio (ETCHEPARE et al., 2015). Distintos procedimentos são realizados com o intuito de aumentar a resistência e, conseqüentemente, a sobrevivência dessas bactérias em condições adversas, como a seleção correta na presença de ácido estomacal, incorporação de peptídeos e aminoácidos, microencapsulação, entre outros (MENEZES et al., 2013; CHAMPAGNE et al., 2015; MARTÍN et al., 2015; SOARES, 2016).

Os produtos lácteos abrangem a maior parcela do mercado de alimentos probióticos, pois além de apresentarem grande popularidade entre os consumidores, a composição química do leite favorece o emprego desses micro-organismos (ALVES, 2012; SIMEONI et al., 2014). As proteínas e os lipídios existentes nesses tipos de alimentos podem atuar como uma matriz protetora, auxiliando na sobrevivência das bactérias probióticas às condições adversas do estômago e do trato intestinal (FURTADO, 2017). Entretanto, vários problemas que afetam a viabilidade dos probióticos têm sido relatados em alimentos de origem láctea, como acidez, pH e peróxido de hidrogênio, temperatura de armazenamento, concentração de oxigênio dissolvido, de proteínas, de ácido láctico e acético e a interação com outros micro-organismos contidos nos produtos (MENEZES et al., 2013; ETCHEPARE et al., 2015).

Os crescentes problemas de saúde relacionados à intolerância à lactose, alergia às proteínas do leite e colesterol, estão resultando em estudos que buscam matrizes alimentícias diferente das lácteas para carrear probióticos e, dentre essas, os produtos de origem vegetal como os sucos de fruta vêm se destacando (SANTOS et al., 2008; COELHO, 2009; LIMA, 2013; BAKR, 2015; SOARES, 2016; FURTADO, 2017).

3.2.1 *Lactobacillus acidophilus*

O gênero *Lactobacillus* foi isolado pela primeira vez pelo alemão Ernest Moro no ano de 1900, a partir das fezes de lactentes amamentadas com leite materno, e receberam o nome de *Bacillus acidophilus* (SANTOS et al., 2011; LIMA, 2013).

Estes micro-organismos são caracterizados como bastonetes regulares, gram-positivos, não esporulados, desprovidos de flagelos, anaeróbios ou anaeróbios facultativos

(VASCONCELOS, 2016). Eles habitam o trato digestório e o genital feminino de mulheres saudáveis, constituindo a maior parte da microbiota endógena vaginal e endocervical (NORONHA, 2014).

O gênero é descrito como um grupo heterogêneo, compreende cerca 80 espécies reconhecidas, sendo as mais utilizadas os *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. casei* (STEFE et al., 2008; LIMA, 2013).

L. acidophilus são bacilos, gram-positivos, não formadores de esporos, homofermentativo de catalase negativa, com as extremidades arredondadas que ocorrem isoladamente, em pares e em cadeias curtas, com tamanho típico de 0,6 a 0,9 µm de largura e 1,5 a 6 µm de comprimento (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

As bactérias dessa espécie têm sua sobrevivência afetada por fatores ambientais de pH, interações com outros micro-organismos e teor de oxigênio. As condições ótimas para sua multiplicação são temperaturas de 35 °C a 40 °C, e pH entre 5,5 e 6,2. Sua tolerância em termos de acidez do meio varia entre 0,3 % e 1,9 % de acidez titulável (v/v) (SANTOS et al., 2011; FARIAS, 2017).

Esta espécie é pouco tolerante à salinidade do meio e é microaerofílica, com o crescimento em meio sólido favorecido por anaerobiose ou pressão reduzida de oxigênio (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011).

O *L. acidophilus* habita a parede do intestino delgado e a parede da vagina, protegendo contra a entrada e proliferação de micro-organismos patogênicos que podem causar danos e ocasionar doenças de média a alta gravidade como, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Cândida albicans*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e entre outros, por meio da produção do ácido lático que cria um ambiente desfavorável ao crescimento desses fungos e bactérias e favorece uma flora de característica ácida (SANTOS et al., 2011; VILELA, 2013).

Além disso, ainda auxilia na manutenção da microbiota bacteriana intestinal, na estabilização do pH, na síntese de vitamina K e vitaminas do complexo B, melhora a digestão dos alimentos, a biodisponibilidade dos nutrientes, e reduz a intolerância a lactose por produzir a enzima lactase que quebra o açúcar do leite, denominado lactose (SANTOS et al., 2011; FLESCHE et al., 2014).

Esses micro-organismos se enquadram no quesito probiótico pois além de apresentarem efeitos benéficos ao organismo, são capazes de sobreviver a passagem pelo trato digestório, resistindo aos ácidos, as enzimas pancreáticas e os sais biliares presentes na região (SANTOS et al., 2011).

O *Lactobacillus acidophilus* é uma cepa utilizada na elaboração de produtos probióticos, tais como iogurtes (RIBEIRO, 2011), *frozen yogurt* (GON, 2014), sucos (DING; SHAH, 2008; SANTOS et al., 2008; LIMA, 2013; FURTADO, 2017), mixes (VASCONCELOS, 2010), sorvetes (LORENZ, 2009), salada de frutas (MARTINS, 2012) e queijos (ALVES et al., 2011; TENÓRIO, 2012).

3.3 MICROENCAPSULAÇÃO

A microencapsulação é uma técnica que consiste no revestimento de partículas, material ativo, com um material encapsulante, formando cápsulas em miniaturas e seladas, que tem a capacidade de liberar seu conteúdo de forma controlada sob a influência de estímulos específicos (FRITZEN-FREIRE et al., 2013; MENEZES et al., 2013; PEREIRA et al., 2018).

A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está relacionada ao tamanho da cápsula (GON, 2014). As microcápsulas apresentam características variadas relacionadas diretamente com o método e agente encapsulante utilizado, seu tamanho encontra-se na faixa entre micrômetros a milímetros, mais especificamente entre 0,2 - 5000 μm (CAVALHEIRO et al., 2015; MENEZES et al., 2016). Em geral, as cápsulas são esféricas, semipermeáveis e apresentam uma membrana envoltória resistente (ANAL; SINGH, 2007).

Distintas áreas utilizam a tecnologia de microencapsulação para a elaboração de seus produtos, como a farmacêutica, cosmética e alimentícia, uma vez que é uma alternativa viável para resolução de problemas relacionados a instabilidade de certos componentes quando incorporados ao produto (SILVA et al., 2015).

Na indústria de alimentos, certos materiais podem ser aplicados sob forma encapsulada, como ácidos, bases, sais, gases, óleos, vitaminas, minerais, aminoácidos, *flavors*, corantes, enzimas e micro-organismos (MENEZES et al., 2013).

A técnica de microencapsulação possui diversas aplicações, podendo ser utilizada para realizar a separação de materiais reativos, reduzir a reatividade e toxicidade do mesmo, promover sua estabilidade, controlar a liberação do material, diminuir a volatilidade de líquidos ou a transferência do material de núcleo com o ambiente, facilitar a manipulação do material encapsulado, mascarar o odor, cor e o sabor indesejáveis, promover a diluição homogênea do material encapsulado em uma formulação alimentícia, aumentar a vida útil, proteger contra

condições ambientais desfavoráveis e contra a degradação química ou biológica durante seu processamento, armazenamento ou utilização (BOSCARIOLI, 2010; GRAY et al., 2016).

A microencapsulação de probióticos consiste na imobilização de células bacterianas em um material encapsulante, formando cápsulas que deverão resistir as condições adversas que estarão expostas no alimento e no organismo durante a passagem pelo trato digestório, liberando seu material ativo de forma gradual em áreas específicas do organismo (CHAMPAGNE et al., 2011; ILHA, 2015; DIMITRELLOU et al., 2016). Uma vez no sistema intestinal os micro-organismos devem ser completamente liberados de diferentes maneiras, como de acordo com o pH, atividade enzimática, temperatura, tempo e força osmótica (GEBARA, et al., 2013; SOARES, 2016).

Em outras palavras, o micro-organismo quando microencapsulado recebe uma proteção adicional, já que o revestimento funciona como uma barreira entre o probiótico e as condições externas, proporcionando assim, maior funcionalidade e viabilidade dos mesmos (KRASAEKOOPT; WATCHARAPOKA, 2014; CHAMPAGNE et al., 2015).

3.3.1 Material de parede

O material de revestimento utilizado para a encapsulação tem uma grande importância na eficiência do processo a ser utilizado, além disso, deve cumprir uma série de requisitos específicos antes de sua seleção, dentre eles ser seguro e compatível tanto com o material a ser encapsulado, como com o método a ser utilizado, ou seja, não apresentar reatividade com o material ativo e resistir ao método a ser utilizado. Deve ainda, prover máxima proteção para o material a ser encapsulado contra condições desfavoráveis, promover a liberação do material encapsulado no local correto e ser economicamente viável, entre outros (SOARES, 2016; VANISKI et al., 2017).

Os agentes encapsulantes mais empregados são carboidratos (maltodextrina, goma arábica, alginatos, carragena, pectina, quitosana) e as proteínas (gelatina, caseinato de sódio, proteínas de leite e do soro do leite, proteínas vegetais) (VANISKI et al., 2017).

As proteínas da soja vêm sendo cada vez mais empregadas como material de parede em substituição as proteínas de origem animal, devido ao seu baixo custo, elevado valor nutricional, propriedades funcionais como a gelificação, a capacidade de emulsificação e

formação de filmes e sua menor alergenicidade em comparação às proteínas do leite (MENEZES, 2015).

A maltodextrina é um tipo de carboidrato complexo obtido a partir da hidrólise ácida ou enzimática do amido de milho. É considerada um bom agente encapsulante por apresentar baixa higroscopicidade, evitando a aglomeração das partículas, boa solubilidade e baixa viscosidade mesmo em alta concentração de sólidos (VANISKI et al., 2017). Ela tem sido associada a proteínas como agente encapsulante por melhorar as propriedades de secagem (MENEZES, 2015).

O extrato de soja, comumente conhecido como “leite de soja”, é o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação, total ou parcial (BRASIL, 2005). É um produto de baixo custo e de alta qualidade proteica e energética (PEREIRA, 2010).

O extrato de soja em pó contém aproximadamente 40 % de proteína, 13 % de lipídios, 16 % de fibras, 20 % de carboidratos e seu conteúdo de sólidos totais é de aproximadamente 90 %. No extrato estão presentes todos os componentes das sementes de soja, incluindo compostos funcionais tais como fibras alimentares solúveis e insolúveis e isoflavonas, além de oligossacarídeos e minerais como cálcio e ferro (MENEZES, 2015).

3.3.2 Atomização

A secagem por atomização ou *spray drying* é conhecida e utilizada há muito tempo, sendo aplicada em probióticos, vitaminas, aditivos e pigmentos naturais, produtos alimentícios e farmacêuticos (CARMO et al., 2015). Na indústria de alimentos, é usado principalmente para converter líquidos em pós secos, como em sopas e sucos (ALMEIDA, 2017).

São várias as técnicas de microencapsulação existentes, as utilizadas para encapsular probióticos dividem-se, basicamente, em três categorias, dentre essas pode-se destacar atomização ou *spray drying*, uma vez, que é de fácil operação e apresenta uma boa relação custo-benefício, sendo dessa forma adequada para aplicação na indústria. As outras duas categorias são: extrusão e emulsão (COOK et al., 2012; CARMO et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Os primeiros relatos sobre compostos encapsulados por *spray drying* foram na década de 30 (NUNES et al., 2015). O processo envolve uma etapa que consiste na dispersão e homogeneização do agente encapsulante, formando uma emulsão ou suspensão com o material ativo e de revestimento, em seguida passa por uma câmara de secagem contendo ar quente circulante, onde o solvente será evaporado, e os sólidos restantes do material de parede envolvem o conteúdo ativo, que por fim, serão recolhidas no ciclone (MARTIN et al., 2015; NUNES et al., 2015; SOARES, 2016).

A técnica de microencapsulação por *spray drying* tem como vantagem ser uma operação de baixo custo, com grande rendimento, além disso, quando encapsulados os microorganismos apresentam uma melhor estabilidade de armazenamento do que culturas congeladas ou novas (MACIEL, 2013; ECKERT, 2016).

3.4 SUCOS DE FRUTAS

A conscientização dos consumidores advinda do acesso de informações referente à estudos que demonstram a relação da alimentação com saúde, ocasionou uma crescente procura por bebidas saudáveis e funcionais, fazendo com que as indústrias passassem a investir mais fortemente nessa área (PRATES, 2017).

Segundo Bezerra et al. (2013), a inclusão de frutas e sucos de frutas na dieta é um fator importante na prevenção de doenças e essenciais para uma melhor da qualidade de vida.

O suco de fruta é um produto apreciado e consumido no mundo inteiro, destacando-se não apenas por suas características sensoriais, mas também por seu valor nutricional, como seu teor de vitaminas, minerais e antioxidantes (BEZERRA et al., 2013; ANDRADE, 2017).

A partir da década de 90 o mercado de suco de fruta industrializado sofreu um grande impulso, procurando atender uma população que buscava bebidas saudáveis, saborosas e prontas, uma vez que a produção de suco a partir de frutas *in natura* se tornara inviável a uma sociedade que apresentava uma vida acelerada (CARMO et al., 2015; CARDOSO et al. 2015).

Por ser um produto amplamente consumido pela população o suco de fruta é uma alternativa aos alimentos lácteos utilizados como veículos de probióticos (SOUZA, 2014). Apesar da disponibilidade de produtos não lácteos probióticos ainda ser reduzida no mercado, estudos relacionados as cepas bacterianas em produtos de origem vegetal vêm sendo realizados

(DING; SHAH, 2008; COELHO, 2009; RODRIGUES, 2012; LIMA, 2013; SOARES, 2016; ANDRADE, 2017; FURTADO, 2017).

O desenvolvimento de sucos funcionais contendo probióticos tem como intuito oferecer um alimento nutritivo e benéfico à saúde, a uma maior parte da população, incluindo os intolerantes a lactose, alérgicos a proteína do leite e hipercolesterolêmicos (NUALKAEKUL; CHARALAMPOPOULOS, 2011; SOARES, 2016).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Os sucos de laranja, uva e limonada (Prat's[®], Paranavaí, Paraná, Brasil), bem como o extrato aquoso de soja (Kinino[®], São José do Rio Preto, São Paul, Brasil) foram adquiridos no comércio local. A cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Chr. Hansen[®], Hørsholm, Dinamarca) e a maltodextrina (ED 20, Maltogill[®], Cargill[®], São Miguel do Iguaçu, Paraná, Brasil) foram adquiridas de empresas especializadas no ramo.

4.2 MICROENCAPSULAÇÃO DOS PROBIÓTICOS UTILIZANDO EXTRATO DE SOJA E MALTODEXTRINA

4.2.1 Preparo da cultura probiótica

O preparo da cultura probiótica foi realizado conforme descrito por Menezes (2015). Para tanto, o probiótico *Lactobacillus acidophilus* La-5 (2 % m/v) (Chr. Hansen[®], Hørsholm, Dinamarca) foi pesado em balança analítica (AY 220, Marte[®], São Paulo, São Paulo, Brasil), inoculado em caldo MRS (10 % v/v) (Acumedia[®], Indaiatuba, São Paulo, Brasil), e incubado a 37 °C por 12 horas em estufa bacteriológica (403/3 N, Nova ética[®], Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil), até atingir a fase estacionária. Em seguida, a biomassa do probiótico foi recolhida por centrifugação empregando centrífuga refrigerada (Rotina 420R, Hettich[®], Kirchlengern, Alemanha) a 3000 rpm por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o concentrado de células posteriormente transferido para a suspensão contendo o material de parede.

Os materiais de laboratório utilizados para a produção das microcápsulas foram previamente esterilizados na autoclave (CS-18, Primatec[®], Itu, São Paulo, Brasil) a 121 °C por 15 minutos.

4.2.2 Preparo do material encapsulante

O extrato de soja e a maltodextrina (3:2 m/m) foram dispersos em água estéril (10 % v/v), formando uma suspensão que foi homogeneizada em banho ultrassônico (37 ± 2 °C, 80 kHz, 100 W, 15 min) (Elmasonic P120H, Elma[®], Singen, Alemanha). Com auxílio de parte da água estéril a ser utilizada no preparo da suspensão, a cultura centrifugada foi adicionada à solução do material de parede e homogeneizada em agitador magnético (25 ± 1 °C, 1 min) (753, Fisatom[®], São Paulo, São Paulo, Brasil) (MENEZES, 2015).

4.2.3 Microencapsulação utilizando *spray dryer*

A microencapsulação do probiótico utilizando a técnica *spray drying* seguiu os procedimentos descritos por Menezes (2015).

A suspensão foi submetida à secagem em *spray dryer* (MSDi 1.0, Labmaq do Brasil[®], Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil), mantida sob agitação constante à temperatura ambiente e alimentada para a câmara de secagem por meio de bomba peristáltica, sob condições constantes de pressão do compressor do ar de secagem (2 - 4 kgf.cm⁻²), vazão de ar comprimido (35 kgf.cm⁻²), temperatura de entrada do ar (85 °C), vazão de entrada de suspensão de alimentação (0,55 L.h⁻¹) e diâmetro de saída do ar no sistema (1 mm) com bico duplo fluído. As microcápsulas produzidas foram coletadas na base do ciclone e armazenadas a 8 ± 1 °C em recipientes de vidro hermeticamente fechados, previamente esterilizados na autoclave (CS-18, Prismatec[®], Itu, São Paulo, Brasil) a 121 °C por 15 minutos.

4.3 ELABORAÇÃO DOS SUCOS FUNCIONAIS

4.3.1 Sucos de frutas adicionados de *L. acidophilus* microencapsulado

As bebidas contendo os probióticos microencapsulados foram formuladas a partir da adição das microcápsulas contendo *L. acidophilus* obtidas após a atomização da solução de

extrato de soja e maltodextrina, conforme o descrito no item 4.2.3, nos sucos comerciais de laranja, uva e limonada. Em seguida, os sucos foram homogeneizados, acondicionados em garrafas plásticas com tampas e armazenados sob refrigeração a 8 ± 1 °C até o início das análises.

4.3.2 Sucos de frutas adicionados de *L. acidophilus* livre

A cultura probiótica de *Lactobacillus acidophilus* La-5 não precisou ser ativada, uma vez que a mesma era liofilizada e de uso direto. O inóculo (1 % m/v) foi pesado utilizando a balança analítica (AY 220, Marte[®], São Paulo, São Paulo, Brasil), adicionado aos sucos de laranja, uva e limonada, que por sua vez foram acondicionados em garrafas plásticas com tampa, agitados para obtenção de uma melhor homogeneização, e armazenados sob refrigeração a 8 ± 1 °C até o início das análises.

4.4 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE *Lactobacillus acidophilus* LIVRE E MICROENCAPSULADO NOS SUCOS DE FRUTAS

A viabilidade dos micro-organismos presentes nos sucos foi determinada por meio da enumeração das células viáveis, conforme o descrito por Lima (2013), com adaptações. Foram realizadas diluições sucessivas, que foram vigorosamente agitadas em um agitador de tubos tipo vortex (LSM56/4, Logen Scientific[®], Londres, Reino Unido), com o intuito de homogeneizar as diluições e romper as cápsulas, promovendo a liberação dos micro-organismos encapsulados. Em seguida, foi realizado o plaqueamento em profundidade utilizando ágar MRS (Ágar de Man, Rogosa e Sharpe, Merck[®], Darmstadt, Alemanha). As placas foram incubadas invertidas em estufa bacteriológica (403/3 N, Nova ética[®], Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) a 37 °C por 72 horas em jarras de anaerobiose (Permutation[®], Curitiba, Paraná, Brasil) com posterior contagem de micro-organismos probióticos. A contagem de células viáveis foi expressa em log UFC.mL⁻¹. A viabilidade do micro-organismo, livre e microencapsulado, foi realizada em duplicata após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado a 8 ± 1 °C.

4.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO *L. acidophilus* MICROENCAPSULADO E LIVRE ADICIONADO NOS SUCOS EM SISTEMA DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

Os sucos de laranja, uva e limonada contendo os micro-organismos livres e microencapsulados foram submetidos a passagem pelas condições do trato digestório simuladas *in vitro*, segundo a metodologia descrita por Furtado (2017) com modificações. A análise foi realizada em duplicada nos tempos 1 e 28 dias de armazenamento refrigerado.

A simulação de digestibilidade teve início com a fase gástrica, onde 10 mL de amostra foram acidificadas com HCl 1 M até atingirem pH 2,0 – 2,5, em sequência foram adicionadas de 3 g.L⁻¹ de pepsina isolada de mucosa gástrica de porco (Sigma-Aldrich[®], Darmstadt, Alemanha) e 0,9 mg.L⁻¹ de lipase (Amano lipase G, isolada de *Penicillium Camemberti*, Sigma-Aldrich[®], Darmstadt, Alemanha) e incubadas a 37 °C por 2 horas a 150 rpm em uma incubadora com agitação mecânica (TE – 424, Tecnal[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) para simular os movimentos peristálticos. Passado o período de incubação, teve início a simulação do intestino delgado (fase entérica I), onde o pH foi ajustado para 4,5 - 5,5, utilizando-se uma solução alcalina, preparada a partir de uma mistura contendo 150 mL de NaOH 1 M, 14 g de NaH₂PO₄.2H₂O (SigmaAldrich[®], Darmstadt, Alemanha), água destilada para completar 1000 mL, 10 g.L⁻¹ de bile (bile bovina, Sigma-Aldrich[®], Darmstadt, Alemanha) e 1 g.L⁻¹ de pancreatina isolada do pâncreas de suíno (Sigma-Aldrich[®], Darmstadt, Alemanha), incubou-se a 37 °C por 2 horas, com agitação de 150 rpm. Por fim, foi simulado o intestino grosso (fase entérica II), onde o pH foi ajustado utilizando a mesma solução alcalina para 6,8 – 7,2, e incubando novamente nas mesmas condições e durante o mesmo tempo que nas fases anteriores.

Ao final de cada fase (gástrica, entérica I e entérica II) foram realizadas contagens padrão em placa das amostras por plaqueamento em profundidade em ágar MRS (Ágar de Man, Rogosa e Sharpe, Merck[®], Darmstadt, Alemanha) para verificar a viabilidade do probiótico. As placas de Petri foram incubadas em estufa bacteriológica (403/3 N, Nova ética[®], Vargem Grande Paulista, Brasil) a 37 °C por 72 horas em jarras de anaerobiose (Permutation[®], Curitiba, Paraná, Brasil). Os resultados das contagens em placa foram expressos em log UFC.mL⁻¹.

4.6 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As amostras de sucos controle, ou seja, sem adição de probióticos, de sucos adicionados de probiótico na forma livre e microencapsulada foram caracterizados, em duplicata, por meio da determinação dos teores de proteínas, lipídios, carboidratos, umidade, cinzas e sólidos totais. As análises de sólidos solúveis totais, pH e acidez total titulável foram realizadas em duplicata, após 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento refrigerado a 8 ± 1 °C.

4.6.1 pH

A análise de pH foi realizada pelo método eletrométrico (IAL, 2008) utilizando o pHmetro digital (Ph21, Hanna[®], Barueri, São Paulo, Brasil).

4.6.2 Acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada por volumetria potenciométrica (BRASIL, 1986a) utilizando o pHmetro digital (Ph21, Hanna[®], Barueri, São Paulo, Brasil).

4.6.3 Sólidos solúveis totais

A análise de sólidos solúveis totais (IAL, 2008) foi realizada utilizando o refratômetro analógico (RHB32, AKSO[®], São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil), a partir da leitura refratométrica do °Brix a 20°C.

4.6.4 Ratio

O valor de ratio foi obtido dividindo-se o teor de sólidos solúveis totais pela acidez total titulável (IAL, 2008).

4.6.5 Umidade

A umidade das amostras foi obtida pelo método gravimétrico, empregando secagem em estufa convencional (Q317M, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) a 105°C até peso constante (IAL, 2008).

4.6.6 Sólidos totais

Os teores de sólidos totais foram determinados por meio da diferença entre o peso total da amostra e o peso da água (IAL, 2008).

4.6.7 Determinação de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada pelo método de incineração em forno mufla (Q318M, Quimis[®], Diadema, São Paulo, Brasil) à 525 °C, a partir do resíduo obtido na análise de umidade, até a obtenção de cinzas com coloração branca ou acinzentada, resultantes da destruição total da matéria orgânica (IAL, 2008).

4.6.8 Proteínas

A análise de quantificação de proteínas foi realizada pelo método de micro-Kjeldahl, a partir da determinação de nitrogênio total (MA 036, Marconi[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil) e multiplicação pelo fator de conversão de 5,75 (BRASIL, 1986b).

4.6.9 Lipídios

A determinação de lipídios foi realizada pelo método Bligh & Dyer (BLIGH; DYER, 1959; IAL, 2008), com modificações. Inicialmente, 90 g da amostra foi misturada com 200 mL de metanol e 100 mL de clorofórmio, em uma proporção que forma uma só fase com a amostra, e esta foi agitada, com o auxílio de um agitador mecânico (713D, Fisatom[®], São Paulo, São Paulo, Brasil), por 15 minutos, em capela química. Em seguida, adicionou-se mais 100 mL de clorofórmio e após a mistura por 30 segundos, foram adicionados 100 mL de água destilada e misturou-se por mais 30 segundos. O material homogeneizado foi filtrado utilizando funil de vidro com papel de filtro contendo sulfato de sódio anidro, transferido para um funil de separação e deixou-se separar as camadas de forma natural, uma de clorofórmio (inferior), contendo os lipídios, e a outra de metanol mais água (superior), contendo as substâncias não lipídicas. Retirou-se a camada de clorofórmio em um béquer previamente tarado e este foi levado a estufa a 105 °C, até evaporação do solvente e obtenção de peso constante. Em seguida, o béquer foi colocado em dessecador até atingir a temperatura ambiente e pesado em balança analítica (AY 220, Marte[®], São Paulo, São Paulo, Brasil). A porcentagem de lipídios foi determinada pela equação 1.

$$LT \% = \frac{100 \times N}{P} \quad (1)$$

Sendo:

LT % = teor de lipídios (g.100 mL⁻¹);

P = massa da amostra (g);

N = (massa do béquer + massa óleo) – massa do béquer.

4.6.10 Carboidratos

O conteúdo de açúcares redutores, açúcares não redutores e açúcares totais foi determinado pelo método titulométrico de Fehling (BRASIL, 1986c).

4.7 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS

As análises microbiológicas foram realizadas em duplicata nas amostras que foram submetidas à análise sensorial, conforme estabelecido pela RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001, o qual determina as análises para coliformes a 35 °C e a 45 °C e ausência ou presença de *Salmonella sp.* em 25 mL (BRASIL, 2001). A metodologia seguiu o disposto em Silva et al. (2017).

4.8 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da UTFPR (CAAE n° 63469516.0.0000.5547) e todos os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que consta no Apêndice A.

Baseado nos resultados, levando em conta a maior viabilidade do *L. acidophilus* durante o armazenamento e a sobrevivência nas condições de digestibilidade *in vitro*, foi selecionado para a análise sensorial as amostras de suco de laranja controle, com células livres e microencapsuladas.

O teste de aceitabilidade foi realizado utilizando a escala hedônica de nove pontos, onde os extremos variavam entre desgostei muitíssimo (1) e gostei muitíssimo (9). Foram avaliados os atributos aparência, consistência, textura, cor, sabor, aroma e avaliação global (Apêndice B). Juntamente foi verificada a intenção de compra do produto com a escala estruturada de cinco pontos, com 1 correspondendo a “certamente compraria” e 5 a “certamente não compraria” (IAL, 2008).

Foram selecionados ao acaso 120 provadores não treinados, de ambos os sexos, com faixa etária superior a 18 anos. As amostras foram servidas de forma balanceada, com a temperatura de, aproximadamente, 8 °C, em copos plásticos descartáveis de 50 mL de cor branca codificados com números aleatórios de três dígitos, em cabines individuais sob luz branca. Foi fornecido juntamente um copo de água em temperatura ambiente para a remoção de sabores residuais da boca entre a avaliação de uma amostra e outra. A análise sensorial foi realizada no laboratório de análise sensorial da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Medianeira.

4.9 ANÁLISE REOLÓGICA

A análise reológica foi realizada nas amostras que foram submetidas a análise sensorial (suco de laranja controle, com células livres e microencapsuladas). A determinação do comportamento reológico dos sucos de laranja seguiu a metodologia proposta por Piccoli (2015).

As propriedades reológicas foram determinadas empregando viscosímetro Brookfield, modelo LVDV-III ultra (Brookfield Engineering Laboratories, Middleborough, Massachusetts, EUA), conectado a um sistema computadorizado de aquisição de dados Rheocalc (versão V3.1-1, Brookfield Engineering Laboratories, Middleborough, Massachusetts, EUA) para registrar a viscosidade aparente (η_{ap}), tensão de cisalhamento (σ) e taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). O rotor (spindle) utilizado foi SC4-18 com adaptador para pequena quantidade de amostra, com taxas de deformação variando de 0 a 330 s⁻¹.

O comportamento reológico dos sucos de laranja foi estudado nas temperaturas de 10 °C, 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C e 60 °C, uma vez que segundo Ferreira et al. (2008) estas temperaturas são típicas de prateleira do produto acabado e a representativa de pasteurização nas indústrias. Para o ajuste das temperaturas das amostras foi utilizado um banho termostático Tecnal T-184 (Tecnal[®], Piracicaba, São Paulo, Brasil).

O comportamento reológico de todas as amostras foi realizado em duplicada, onde para cada medida foi utilizada 10 mL de amostra, sendo utilizadas novas amostras em cada repetição para evitar possíveis efeitos do tempo. As medidas foram realizadas de ida e volta, resultando em uma curva ascendente e outra descendente por amostra, onde foram obtidos 25 pontos de tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento por curva, resultando em 50

pontos, dos quais foi calculado o valor médio da tensão de cisalhamento para cada taxa de cisalhamento. O valor final dos parâmetros foi a média resultante das duas leituras.

Para o ajuste dos dados experimentais obtidos foi utilizado o modelo de Ostwald-de-Waele (Lei da Potência) pelas equações 2 e 3, modelo adotado para interpretar o comportamento do suco de abacaxi com yacon (VICENTE, 2015), sucos de uva (PICCOLI, 2015), sucos mistos de manga, goiaba e acerola adicionados de fitoquímicos (FARAONI et al., 2013) e suco misto elaborado com frutas tropicais (BEZERRA et al., 2013).

$$\sigma = K \dot{\gamma}^n \quad (2)$$

$$\eta_{ap} = K \dot{\gamma}^{(n-1)} \quad (3)$$

Sendo:

σ = Tensão de cisalhamento (Pa);

$\dot{\gamma}$ = Taxa de deformação (s^{-1});

K = Índice de consistência ($Pa \cdot s^n$);

n = Índice de comportamento de fluxo (adimensional);

η_{ap} = viscosidade aparente ($mpa \cdot s$).

4.10 DETERMINAÇÃO DE COR

A análise de cor foi realizada nas amostras submetidas a análise sensorial (suco de laranja controle, com células livres e microencapsuladas). A cor das amostras foi determinada utilizando colorímetro (Minolta CR-400, Osaka, Japão) com fonte de luz D65 e a escala L^* , a^* e b^* no sistema de cor CIELAB, proposto por Commission Internationale de l'Eclairage (1978). Seguindo as instruções do fabricante, realizou-se a calibração do equipamento com o auxílio da placa branca padrão. No espaço colorimétrico CIELab, definido por L^* , a^* , b^* , a coordenada L^* corresponde a luminosidade e seus valores variam do claro ao escuro, sendo 0 (preto) e 100 (branco). As coordenadas a^* e b^* referem-se às coordenadas de cromaticidade verde (-)/vermelho(+) e azul(-)/amarelo(+), respectivamente. Os valores de cromaticidade denotam a

saturação e a tonalidade. As determinações foram realizadas em triplicada diretamente na superfície das amostras.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software Minitab Statistical* versão 18 (Minitab® 18, State College, Pensilvânia, EUA) e *Excel* 2016 (Microsoft® office, Redmond, Washington, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE *Lactobacillus acidophilus* NOS SUCOS DE FRUTAS

A viabilidade do *Lactobacillus acidophilus* adicionado na forma livre e microencapsulada aos sucos de laranja, uva e limonada foi analisada durante a vida útil dos produtos e estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Contagem de células viáveis (média \pm desvio padrão) em log UFC.mL⁻¹ do microorganismo probiótico *L. acidophilus* microencapsulado (M) e livre (L) ao longo de 28 dias de armazenamento dos sucos de laranja, uva e limonada.

Amostras		Tempo de estocagem (dias)				
		1	7	14	21	28
Laranja	M	7,94 \pm 0,03 ^{Ac}	7,18 \pm 0,07 ^{Ba}	7,02 \pm 0,04 ^{Ca}	6,76 \pm 0,05 ^{Da}	6,72 \pm 0,03 ^{Da}
	L	8,67 \pm 0,04 ^{Aa}	6,85 \pm 0,03 ^{Bb}	4,65 \pm 0,02 ^{Cc}	4,22 \pm 0,03 ^{Dc}	3,03 \pm 0,01 ^{Ec}
Uva	M	7,57 \pm 0,06 ^{Ad}	6,45 \pm 0,05 ^{Bc}	6,35 \pm 0,03 ^{Cb}	6,25 \pm 0,02 ^{Db}	6,18 \pm 0,02 ^{Eb}
	L	8,13 \pm 0,04 ^{Ab}	6,23 \pm 0,02 ^{Bd}	3,93 \pm 0,02 ^{Cd}	3,58 \pm 0,01 ^{Dd}	2,28 \pm 0,02 ^{Ed}
Limonada	M	7,25 \pm 0,05 ^{Ae}	5,34 \pm 0,08 ^{Be}	1,99 \pm 0,01 ^{Ce}	-	-
	L	7,28 \pm 0,02 ^{Ae}	2,90 \pm 0,03 ^{Af}	-	-	-

Notas: ^{a,b,c} Valores (médias \pm desvio padrão) seguidas por letras iguais minúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey; ^{A,B,C} Valores (médias \pm desvio padrão) acompanhados por letras iguais maiúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2018).

Observou-se, na Tabela 1, que a viabilidade do *L. acidophilus* La-5 adicionado de forma livre nos sucos de frutas reduziu significativamente ($p < 0,05$) durante os dias de armazenamento, chegando a contagem de 3,03 log UFC.mL⁻¹ e 2,28 log UFC.mL⁻¹ para os sucos de laranja e uva, respectivamente, ao final dos 28 dias de vida útil dos sucos, representando uma perda de 5,64 log UFC.mL⁻¹ e 5,85 log UFC.mL⁻¹ para esses mesmos sucos. A taxa de sobrevivência dos probióticos ao final do armazenamento foi de 34,9 % e 28,0 % nos

sucos de laranja e uva, respectivamente. A limonada não apresentou células viáveis a partir do 14º dia de armazenamento.

A viabilidade do *L. acidophilus* na forma microencapsulada apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) durante os 28 dias de armazenamento. Foi observada uma taxa de sobrevivência de 84,6 % das bactérias presentes no suco de laranja, 81,6 % no suco de uva, enquanto a limonada não apresentou células viáveis a partir do 21º dia de estocagem. A enumeração dos probióticos microencapsulados ao fim do armazenamento resultou em valores superiores a 6,72 log UFC.mL⁻¹ e 6,18 log UFC.mL⁻¹ representando uma perda de 1,22 log UFC.mL⁻¹ e 1,39 log UFC.mL⁻¹ nos sucos de laranja e uva, respectivamente.

Embora não exista um consenso sobre a concentração mínima de probióticos a serem ingeridos para garantir sua funcionalidade sobre o organismo (MARTINS et al., 2016), a maioria da literatura consultada diz que o alimento deve conter, no mínimo, 10⁶ a 10⁷ UFC.g⁻¹ ou mL⁻¹ de células viáveis probióticas para que possa ser vendido sob alegações de efeitos benéficos à saúde (BADARÓ et al., 2008; MADUREIRA et al., 2011; RIBEIRO, 2011), valor este que deve permanecer até o prazo de validade do mesmo, para que os efeitos benéficos sejam obtidos. Dessa forma, apenas os sucos de laranja e uva contendo *L. acidophilus* microencapsulado atendem ao final da vida útil do produto, a quantidade mínima recomendada pela literatura, apresentando contagens médias de 1,05x10⁹ e 3,03x10⁸ UFC em 200 mL de suco, respectivamente, porção diária esta recomendada do produto.

Furtado (2017) ao analisar a viabilidade do *L. acidophilus* adicionado na forma livre ao suco de manga verificou que a contagem de células viáveis reduziram significativamente ($p < 0,05$) após os 21 dias de armazenamento, chegando a 3,81 log UFC.mL⁻¹ ao final dos 28 dias de estocagem, valor este superior ao encontrado por este trabalho para os sucos de laranja, uva e limonada após o mesmo período de tempo, entretanto, apresentando, assim mesmo, quantidade inferior a mínima para que o produto possa proporcionar os efeitos probióticos.

O presente estudo encontrou uma maior viabilidade de *L. acidophilus* livre e microencapsulado, por meio da técnica de *spray drying* utilizando como material de parede maltodextrina e extrato de soja, presentes nos sucos de laranja e uva em comparação aos valores observados por Nualkaekul et al. (2012) e Ding e Shah (2008) após as 5 semanas de estocagem.

Nualkaekul et al. (2012), ao adicionar *L. plantarum* no suco de romã, identificaram perda total da viabilidade do micro-organismo livre após 4 semanas sob refrigeração. Enquanto as células encapsuladas em alginato e quitosana, apresentaram após 5 semanas de armazenamento uma concentração de células igual a 6,0 ± 0,1 log UFC.mL⁻¹.

Ding e Shah (2008) ao estudar a sobrevivência de diferentes cepas de bactérias probióticas (*L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. paracasei*, *B. lactis* Bi-04 e *B. lactis* Bi-07) livres e microencapsuladas em sucos de laranja e maçã, observaram que as células livres perderam sua viabilidade dentro de 5 semanas, nos dois sucos analisados, chegando a uma redução superior a $7 \log \text{ UFC.mL}^{-1}$ no número de células. Já os micro-organismos microencapsulados em alginato de sódio pelo método de emulsão, ao longo das 5 semanas de armazenamento apresentaram uma contagem final $<10^6 \text{ UFC.mL}^{-1}$.

De acordo com Tripathi e Giri (2014) o pH é um dos fatores mais importantes que afetam o crescimento e a viabilidade dos probióticos. Em geral, o gênero *Lactobacillus* sobrevivem em sucos com pH entre 3,7 a 4,3. Embora o baixo pH encontrados nos sucos de frutas seja um desafio para a sobrevivência dos micro-organismos, pode aumentar a resistência destes às condições ácidas estressantes encontradas no trato digestório (RANADHEERA; PRASANNA; VIDANARACHCH, 2014).

Champagne e Gardner (2008) ao correlacionarem a viabilidade com o pH de sucos de frutas adicionado de diferentes espécies do gênero *Lactobacillus*, verificaram que em sucos com pH de 4,2 o crescimento dos micro-organismos probióticos é maior do que nos sucos com pH de 3,6, 3,8 e 4,0, mostrando que quanto maior o pH do suco, maior o número de células viáveis. O mesmo foi observado neste estudo, a viabilidade do *L. acidophilus* no suco de laranja para o mesmo tratamento permaneceu superior em comparação a do suco de uva e da limonada, uma vez que apresentavam um pH mais elevado de 3,20. Por sua vez, o probiótico adicionado no suco de uva com pH 2,38 apresentou um maior número de células viáveis que a limonada com pH 1,75.

Os resultados desse trabalho quanto à viabilidade do micro-organismo probiótico vêm a corroborar com os dados da literatura que comparam a sobrevivência de células livres e encapsuladas em sucos de fruta que indicam, em sua maioria, que os micro-organismos encapsulados apresentam maior resistência, promovendo maior viabilidade durante uma vida útil mais longa (DING; SHAH, 2008; NUALKAEKUL et al. 2012; YING et al., 2013). As microcápsulas podem fornecer um ambiente anaeróbico mais favorável para as bactérias probióticas sensíveis, bem como barreira física as condições ácidas do suco de frutas (DING; SHAH, 2008).

5.2 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO *L. acidophilus* MICROENCAPSULADO E LIVRE ADICIONADO NOS SUCOS EM SISTEMA DE DIGESTIBILIDADE *IN VITRO*

A sobrevivência de *L. acidophilus* La-05 em sucos de laranja, uva e limonada foi avaliada sob condições do trato digestório simuladas *in vitro*, no tempo 1 e 28 dias de armazenamento, para as diferentes formas de adição (livre e microencapsulado). O ensaio incluiu as diferentes fases (gástrica, entérica I e entérica II) de simulação do trato gastrointestinal e valores obtidos no 1º dia e 28º dia de estocagem estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 - Contagem de células viáveis (média ± desvio padrão) do micro-organismo probiótico *L. acidophilus* microencapsulado (M) e livre (L) em log UFC.mL⁻¹ durante a simulação do sistema de digestibilidade *in vitro* no 1º e 28º dia de armazenamento.

Amostras		Incubação sequencial			
		Início	Gástrica	Entérica I	Entérica II
Laranja	M1	7,94 ± 0,03 ^{Ba}	7,52 ± 0,05 ^{Bb}	6,79 ± 0,03 ^{Ac}	6,73 ± 0,19 ^{Ac}
	L1	8,67 ± 0,04 ^{Aa}	7,64 ± 0,03 ^{Ab}	5,81 ± 0,09 ^{Bc}	5,63 ± 0,18 ^{Bc}
	M28	6,72 ± 0,03 ^{Ca}	5,99 ± 0,08 ^{Cb}	5,07 ± 0,03 ^{Cc}	4,98 ± 0,03 ^{Cd}
	L28	3,03 ± 0,01 ^{Da}	1,30 ± 0,07 ^{Db}	-	-
Uva	M1	7,57 ± 0,06 ^{Ba}	7,18 ± 0,09 ^{Ab}	6,41 ± 0,09 ^{Ac}	6,33 ± 0,21 ^{Ac}
	L1	8,13 ± 0,04 ^{Aa}	7,12 ± 0,02 ^{Ab}	5,25 ± 0,13 ^{Bc}	5,08 ± 0,04 ^{Bc}
	M28	6,18 ± 0,02 ^{Ca}	5,48 ± 0,04 ^{Bb}	4,53 ± 0,02 ^{Cc}	4,44 ± 0,04 ^{Cd}
	L28	2,28 ± 0,02 ^{Da}	-	-	-
Limonada	M1	7,25 ± 0,05 ^{Aa}	6,80 ± 0,03 ^{Ab}	6,04 ± 0,05 ^{Ac}	6,00 ± 0,07 ^{Ac}
	L1	7,28 ± 0,02 ^{Aa}	6,29 ± 0,18 ^{Bb}	4,37 ± 0,16 ^{Bc}	4,19 ± 0,04 ^{Bc}
	M28	-	-	-	-
	L28	-	-	-	-

Notas: M1 e L1: *L. acidophilus* microencapsulado e livre no 1º dia de armazenamento; M28 e L28: *L. acidophilus* microencapsulado e livre no 28º dia de armazenamento; ^{a,b,c} Valores (médias ± desvio padrão) seguidas por letras iguais minúsculas na mesma linha não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade (p<0,05) pelo teste de Tukey; ^{A,B,C} Valores (médias ± desvio padrão) acompanhados por letras iguais maiúsculas na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5 % de probabilidade (p>0,05) pelo teste de Tukey, separadamente para cada sabor de suco.

Fonte: Aatoria própria (2018).

Observou-se, na Tabela 2, que as populações probióticas decresceram significativamente ($p < 0,05$) após as duas horas iniciais do ensaio *in vitro* e ainda foi verificada diferença significativa ($p < 0,05$) da fase gástrica para as fases entéricas I e II, nos diferentes sucos e tratamentos, durante o 1º dia de armazenamento. Enquanto no 28º dia de estocagem a viabilidade das células reduziram significativamente ($p < 0,05$) após todas as etapas da simulação da digestibilidade *in vitro*.

Ao final da simulação *in vitro* nos tempos analisados (1 e 28 dias) verificou-se que os micro-organismos encapsulados obtiveram um melhor desempenho, com resultados superiores de sobreviventes quando comparados as células livres.

As células livres de *L. acidophilus* apresentaram uma redução de 3,04 log UFC.mL⁻¹ no suco de laranja, 3,05 log UFC.mL⁻¹ no suco de uva e 3,09 log UFC.mL⁻¹ na limonada, com um percentual de sobrevivência de 64,9 %, 62,5 % e 57,5 %, respectivamente ao final da simulação gastrointestinal no 1º dia de armazenamento. Já no 28º dia de estocagem não se verificou a presença de células sobreviventes às condições do trato digestório em nenhum dos sucos analisados.

As células probióticas microencapsuladas apresentaram maior estabilidade com um percentual de sobrevivência de 84,8 % no suco de laranja, 83,6 % no suco de uva e 82,6 % na limonada, apresentando uma redução de 1,21 log UFC.mL⁻¹, 1,24 log UFC.mL⁻¹, 1,26 log UFC.mL⁻¹, respectivamente, ao final da etapa intestinal no 1º dia de armazenamento, obtendo-se uma contagem média acima de 6 log UFC.mL⁻¹ para todos os sucos analisados. No 28º dia, ao final da etapa gastrointestinal, as células encapsuladas presentes na limonada não apresentaram viabilidade. Enquanto nesse mesmo tempo o suco de laranja e de uva apresentaram uma redução no número de células viáveis de 1,74 log UFC.mL⁻¹, e taxa de sobrevivência de 74,1 % e 71,8 %, respectivamente.

Como pode-se perceber, os micro-organismos probióticos não encapsulados são muito instáveis em matrizes vegetais, o que resulta em uma baixa sobrevivência dos mesmos ao final do processo digestivo. A avaliação dos efeitos do trato digestório sob a sobrevivência dos probióticos é de extrema importância, uma vez que no Brasil exige-se a inclusão de testes de resistência da cultura utilizada no produto à acidez gástrica e aos sais biliares, como forma de comprovar a eficácia do micro-organismo probiótico, sendo este um requisito para a inserção do mesmo em uma matriz alimentar (BRASIL, 2008; PELAIS, 2014).

No que diz respeito as células livres adicionadas em sucos de fruta, estudos vêm demonstrando que apenas os probióticos microencapsulados têm a capacidade de se manter

viáveis nas condições de digestibilidade simuladas (CHÁVARRI et al., 2010; NUALKAEKUL et al., 2012; SOARES, 2016; FARIAS, 2017).

Furtado (2017) ao analisar a sobrevivência de bactérias probióticas adicionadas ao suco de manga frente às condições digestibilidade simuladas *in vitro*, verificou que o *L. acidophilus* apresentou uma redução $>10^3$ UFC.mL⁻¹ no dia 0 de armazenamento, não sendo encontradas células viáveis a partir do 14º dia. Resultados semelhantes ao encontrado neste estudo para o suco de laranja, uva e limonada adicionados de células livres que no 1º dia apresentaram uma redução $>3,04$ ciclos log e no 28º dia não foram encontradas viabilidade celular.

Champagne; Gardner (2008) verificaram que as culturas de *L. acidophilus* e *L. rhamnosus* presentes nos sucos de frutas (abacaxi, maçã, laranja, pêra, maracujá e limão) no 35º dia de armazenamento a 4 °C apresentaram uma perda média de 1,2 ciclo log a mais em relação as culturas no dia 1, após a exposição por 2 horas ao suco gástrico com pH 2,0. Este aumento na redução de viabilidade durante a fase gástrica decorrente do tempo de estocagem foi também constatada neste trabalho, representando uma perda média de 0,7 ciclo log a mais no suco de laranja no último dia de estocagem em relação ao primeiro, uma vez que o suco de uva e limonada não apresentaram células livres viáveis após as 2 horas iniciais da simulação de digestibilidade *in vitro* no 28º dia de armazenamento.

A melhora significativa na sobrevida do probiótico quando comparado com bactérias livres, encontrados no presente estudo, foi semelhante ao resultado obtido por Chávarri et al. (2010) ao verificarem que *L. gasseri* e *B. bifidum* microencapsulados com alginato e um revestimento de quitosana foram mais resistentes as condições gástricas simuladas (pH 2,0, 2 h) e solução biliar (3 %, 2 h) quando comparados as células livres . Demonstrando que a microencapsulação oferece um meio efetivo para a presença de células bacterianas viáveis no cólon e manutenção de sua sobrevivência durante o suco gástrico e intestinal simulado.

Assim como Farias (2017), que verificou que o *L. casei* ATCC 334 reduziu 2,54 log UFC.mL⁻¹ após 2 horas de simulação gástrica no formato livre, enquanto as células microencapsuladas sofreram uma perda de apenas 0,79 log UFC.mL⁻¹. Após 4 horas da simulação *in vitro* as bactérias encapsuladas com alginato e quitosana apresentaram uma contagem de $8,22 \pm 0,08$ log UFC.mL⁻¹, quase 2 ciclos logarítmicos a mais que as células livres, que ao final da simulação do trato digestório apresentou uma redução média de 4,61 log UFC.mL⁻¹ de *L. casei* livres.

Vale ressaltar que, algumas pesquisas demonstram que mesmo as células probióticas mortas são capazes de proporcionar benefícios ao organismo, principalmente, no que se refere

ao estímulo as respostas anti-inflamatórias, indicando que a viabilidade não é obrigatória para conferir os efeitos terapêuticos (ADAMS, 2010; ORLANDO et al., 2012; KISO et al., 2013; FANG et al., 2014; HABIL et al., 2014; SANG et al., 2015).

5.3 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As Tabelas 3, 4 e 5 apresentam os valores referentes aos parâmetros físico-químicos obtidos durante armazenamento dos sucos de laranja, uva e limonada sob refrigeração (8 ± 1 °C).

Tabela 3 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem dos sucos de laranja controle (C), com células livres (L) e microencapsuladas (M) de *L. acidophilus*.

Parâmetros		Tempo de armazenamento				
		1	7	14	21	28
pH	C	3,20±0,01 ^{Aa}	3,17±0,02 ^{Aa}	3,19±0,01 ^{Aa}	3,20±0,02 ^{Aa}	3,17±0,00 ^{Aa}
	L	3,15±0,01 ^{Ba}	3,13±0,00 ^{Ba}	3,13±0,00 ^{Ba}	3,15±0,01 ^{Ba}	3,13±0,01 ^{Ba}
	M	3,24±0,03 ^{Aa}	3,20±0,01 ^{Aa}	3,20±0,00 ^{Aa}	3,22±0,01 ^{Aa}	3,20±0,02 ^{Aa}
SST	C	12,7±0,1 ^{Ba}	12,7±0,1 ^{Ba}	12,5±0,1 ^{Ba}	12,5±0,1 ^{Ba}	12,5±0,1 ^{Ba}
	L	12,5±0,1 ^{Ba}	12,5±0,1 ^{Ba}	12,5±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}
	M	13,1±0,1 ^{Aa}	13,0±0,0 ^{Aa}	12,9±0,1 ^{Aa}	13,0±0,0 ^{Aa}	12,9±0,1 ^{Aa}
Acidez	C	0,704±0,013 ^{Ac}	0,704±0,013 ^{Ac}	0,730±0,006 ^{Ab}	0,787±0,013 ^{Aa}	0,787±0,006 ^{Aa}
	L	0,707±0,016 ^{Ac}	0,723±0,013 ^{Ac}	0,768±0,019 ^{Ab}	0,807±0,013 ^{Aa}	0,807±0,006 ^{Aa}
	M	0,698±0,013 ^{Ac}	0,698±0,013 ^{Ac}	0,743±0,019 ^{Ab}	0,787±0,006 ^{Aa}	0,787±0,013 ^{Aa}
Ratio	C	18,04±0,33 ^{ABa}	18,04±0,33 ^{ABa}	17,40±0,14 ^{Aa}	15,89±0,26 ^{Bb}	15,88±0,12 ^{Bb}
	L	17,69±0,40 ^{Ba}	17,29±0,31 ^{Ba}	16,28±0,40 ^{Bb}	15,24±0,25 ^{Cc}	15,24±0,11 ^{Cc}
	M	18,77±0,35 ^{Aa}	18,63±0,35 ^{Aa}	17,37±0,44 ^{Ab}	16,52±0,13 ^{Abc}	16,39±0,27 ^{Ac}

Notas: SST: Sólidos solúveis totais (°Brix); Acidez titulável (g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico); Ratio (°Brix/g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico); ^{a,b,c} Amostras seguidas pelas mesmas letras minúsculas na mesma linha não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey; ^{A,B} Amostras seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na mesma coluna não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 4 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem dos sucos de uva controle (C), células livres (L) e microencapsuladas (M) de *L. acidophilus*.

Parâmetros		Tempo de armazenamento				
		1	7	14	21	28
pH	C	2,38±0,02 ^{Aa}	2,35±0,02 ^{Aa}	2,37±0,02 ^{Aa}	2,38±0,02 ^{Aa}	2,35±0,03 ^{Aa}
	L	2,28±0,01 ^{Ba}	2,23±0,03 ^{Ba}	2,24±0,03 ^{Ba}	2,27±0,01 ^{Ba}	2,27±0,01 ^{Ba}
	M	2,42±0,02 ^{Aa}	2,38±0,02 ^{Aa}	2,40±0,02 ^{Aa}	2,42±0,02 ^{Aa}	2,38±0,02 ^{Aa}
SST	C	15,0±0,0 ^{Ba}	14,9±0,1 ^{Ba}	14,9±0,1 ^{Ba}	14,9±0,1 ^{Ba}	15,0±0,0 ^{Ba}
	L	14,9±0,1 ^{Ba}	14,7±0,1 ^{Ba}	14,7±0,1 ^{Ba}	14,7±0,1 ^{Ba}	14,9±0,1 ^{Ba}
	M	15,3±0,1 ^{Aa}	15,3±0,1 ^{Aa}	15,3±0,1 ^{Aa}	15,2±0,0 ^{Aa}	15,3±0,1 ^{Aa}
Acidez	C	0,563±0,015 ^{Ac}	0,570±0,013 ^{Ac}	0,607±0,007 ^{Ab}	0,650±0,009 ^{Aa}	0,650±0,009 ^{Aa}
	L	0,573±0,009 ^{Ac}	0,578±0,000 ^{Ac}	0,630±0,013 ^{Ab}	0,668±0,007 ^{Aa}	0,675±0,007 ^{Aa}
	M	0,569±0,009 ^{Ac}	0,578±0,000 ^{Ac}	0,620±0,004 ^{Ab}	0,653±0,007 ^{Aa}	0,660±0,015 ^{Aa}
Ratio	C	26,66±0,71 ^{Aa}	26,15±0,60 ^{Ab}	24,55±0,28 ^{Ab}	22,93±0,32 ^{Ac}	23,08±0,32 ^{Ac}
	L	26,01±0,41 ^{Aa}	25,43±0,00 ^{Ba}	23,34±0,48 ^{Bb}	22,01±0,23 ^{Bc}	22,08±0,23 ^{Bc}
	M	26,89±0,43 ^{Aa}	26,47±0,00 ^{Aa}	24,68±0,16 ^{Ab}	23,28±0,25 ^{Ac}	23,19±0,53 ^{Ac}

Notas: SST: Sólidos solúveis totais (°Brix); Acidez titulável (g.100 mL⁻¹ de ácido tartárico); Ratio (°Brix/g.100 mL⁻¹ de ácido tartárico); ^{a,b,c} Amostras seguidas pelas mesmas letras minúsculas na mesma linha não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey; ^{A,B} Amostras seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na mesma coluna não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

Fonte: Aatoria própria (2018).

Tabela 5 - Resultado das análises físico-químicas obtidos durante estocagem das limonadas controle (C), células livres (L) e microencapsuladas (M) de *L. acidophilus*.

Parâmetros		Tempo de armazenamento				
		1	7	14	21	28
pH	C	1,75±0,01 ^{Aa}	1,72±0,00 ^{Aa}	1,73±0,01 ^{Aa}	1,74±0,03 ^{Aa}	1,70±0,03 ^{Aa}
	L	1,68±0,03 ^{Ba}	1,68±0,01 ^{Ba}	1,67±0,01 ^{Ba}	1,68±0,02 ^{Ba}	1,63±0,02 ^{Ba}
	M	1,79±0,03 ^{Aa}	1,74±0,02 ^{Aa}	1,75±0,02 ^{Aa}	1,78±0,00 ^{Aa}	1,76±0,03 ^{Aa}
SST	C	12,2±0,0 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}	12,1±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}
	L	12,1±0,1 ^{Ba}	12,1±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}	12,3±0,1 ^{Ba}	12,1±0,1 ^{Ba}
	M	12,7±0,1 ^{Aa}	12,7±0,1 ^{Aa}	12,8±0,0 ^{Aa}	12,7±0,1 ^{Aa}	12,7±0,1 ^{Aa}
Acidez	C	0,576±0,013 ^{Ac}	0,583±0,006 ^{Ac}	0,608±0,000 ^{Ab}	0,653±0,006 ^{Aa}	0,659±0,006 ^{Aa}
	L	0,589±0,006 ^{Ac}	0,595±0,006 ^{Ac}	0,621±0,006 ^{Ab}	0,666±0,006 ^{Aa}	0,672±0,000 ^{Aa}
	M	0,582±0,006 ^{Ac}	0,589±0,000 ^{Ac}	0,621±0,006 ^{Ab}	0,672±0,013 ^{Aa}	0,672±0,006 ^{Aa}

Ratio	C	21,19±0,48 ^{ABa}	21,10±0,22 ^{Ba}	19,90±0,00 ^{Bb}	18,84±0,17 ^{Ac}	18,66±0,17 ^{Ac}
	L	20,55±0,21 ^{Ba}	20,34±0,21 ^{Ca}	19,81±0,19 ^{Bb}	18,47±0,17 ^{Ac}	18,01±0,00 ^{Bc}
	M	21,82±0,23 ^{Aa}	21,56±0,00 ^{Aa}	20,61±0,20 ^{Ab}	18,90±0,37 ^{Ac}	18,90±0,17 ^{Ac}

Notas: SST: Sólidos solúveis totais (°Brix); Acidez titulável (g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico); Ratio(°Brix/g.100 mL⁻¹ de ácido cítrico); ^{a,b,c} Amostras seguidas pelas mesmas letras minúsculas na mesma linha não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey; ^{A,B} Amostras seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na mesma coluna não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2018).

Os valores de pH, sólidos solúveis totais e acidez titulável apresentaram o mesmo padrão de comportamento para todos os sabores de sucos analisados.

Os resultados médios para o pH do suco controle e adicionado de *L. acidophilus* com células microencapsuladas não diferiram significativamente ($p>0,05$) entre si, durante todo o armazenamento. Em contrapartida, o suco com células livres do probiótico foi diferente ($p<0,05$) das demais, apresentando pH menor. As amostras de sucos não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) no valor do pH durante os 28 dias de estocagem, independentemente do tempo de armazenamento.

Resultados diferentes dos encontrados por Soares (2016), apesar de utilizar outro método de microencapsulação (emulsão) e outro material de parede (cápsulas de alginato de cálcio revestidas de quitosana), destinada a adição a suco de caju, observou que a bebida controle e aquela adicionada de *L. casei* na forma de células livres não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$) entre si, durante todo o armazenamento. Enquanto a bebida de caju com adição de microesferas, foi diferente das demais, apresentando pH mais elevado. Segundo o autor o pH mais elevado é resultante do material encapsulante e de revestimento, uma vez que o pH final das esferas era em torno de 5,8-6,0. Neste mesmo estudo, não foram observadas diminuições expressivas de pH para o mesmo tratamento durante os 28 dias de armazenamento. Nualkaekul et al. (2012) por sua vez, atribui o aumento do pH do suco com microcápsulas ao revestimento de quitosana, devido a sua solubilidade em ácidos orgânicos, tal como o cítrico, que estão também presentes no caju.

Em contrapartida, Rodrigues et al. (2012), ao analisar a adição de *L. paracasei* em sucos de laranja e pêsego, verificou que é esperado que ocorra uma menor variação do pH em sucos com células probióticas encapsuladas, uma vez que a membrana da cápsula provavelmente limita a difusão de açúcares, dificultando a atividade fermentativa dessas bactérias.

As amostras de suco controle e com *L. acidophilus* na forma livre não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) entre si durante os 28 dias de estocagem para os valores de sólidos solúveis totais. Enquanto as amostras adicionadas de *L. acidophilus* microencapsulado apresentaram uma quantidade de sólidos solúveis mais elevado, provavelmente devido ao material encapsulante composto de maltodextrina e extrato de soja. Para o mesmo tratamento, as médias dos valores de sólidos solúveis totais presentes nas amostras não diferiram significativamente ($p>0,05$) independentemente do tempo de armazenamento.

Em relação a acidez, os sucos controle, com probióticos livres e microencapsulados não diferiam significativamente ($p>0,05$) entre si durante toda a estocagem. De acordo com o tempo, todas as amostras apresentaram uma diferença significativa ($p>0,05$) a partir do 14º dia de armazenamento.

Não foram observadas alterações expressivas de pH e/ou de sólidos solúveis totais dependentes do tempo, assim como, o aumento da acidez total titulável durante a estocagem sob refrigeração (8 ± 1 °C) ocorreu conforme na amostra controle, demonstrando que as células probióticas microencapsuladas como as células livres apresentaram baixa atividade metabólica nas bebidas. Entretanto, pela diminuição de pH encontrado no suco com *L. acidophilus* livre, pode-se concluir que a bactéria probiótica imobilizada pela microencapsulação possui maior estabilidade no produto, quando comparadas as células livres no suco.

Resultados semelhantes aos encontrados por Antunes et al. (2013) e Soares (2016) ao estudarem a adição de probióticos livres e encapsulados em sucos de acerola e caju, respectivamente, não verificaram alterações significativas no pH, sólidos solúveis e acidez titulável durante o armazenamento refrigerado, sugerindo também a baixa ação metabólica das células bacterianas livres ou encapsuladas.

Soares (2016) observou que os valores de acidez total titulável e conteúdo de sólidos solúveis durante os 28 dias de estocagem não apresentaram diferenças significantes ($p>0,05$), independentemente do tipo de amostra e do tempo de armazenamento para o suco de caju adicionado ou não de *L. casei* na forma livre ou encapsulada.

Ding e Shah (2008) verificaram que o pH médio no final do período de armazenamento de seis semanas do suco de laranja com bactérias probióticas encapsuladas foi maior do que aquele inoculado com bactérias probióticas livres, como o encontrado neste trabalho. O pH médio diminuiu de 2,81 para 2,57 em suco de laranja contendo bactérias probióticas livres após seis semanas de armazenamento, enquanto o pH declinou de 2,81 para 2,74 no suco contendo probióticos encapsulados após o período de armazenamento. Ao avaliar o suco de maçã perceberam no final das seis semanas que o pH apresentou o mesmo comportamento encontrado

no suco de laranja. O pH no suco de maçã contendo bactérias probióticas livres mudou de 2,98 para o pH final de 2,39, enquanto o suco de maçã com as bactérias probióticas encapsuladas teve um pH inicial de 2,98 e mudou para um pH final de 2,82 no final do período de armazenamento. Estes autores, observaram que a diminuição do pH nos sucos de laranja e maçã foram acompanhadas pela redução na concentração de sólidos solúveis, onde o suco com bactérias probióticas encapsuladas resultou em uma menor diminuição neste valor enquanto comparadas ao suco com micro-organismos livre; e pelo aumento da acidez, superior pelo suco com células livres em relação ao microencapsulado. Apesar dos valores de pH, acidez e sólidos solúveis terem apresentado uma diferença significativa de acordo com tempo entre as amostras, os resultados demonstraram que a microencapsulação de bactérias probióticas produziu um produto mais estável durante um período de armazenamento mais longo, assim como o encontrado neste estudo.

Os sucos de laranja, uva e limonada analisados estão de acordo com os padrões exigidos pela legislação brasileira que preconiza o valor mínimo de 10,5 °Brix de sólidos solúveis totais e 7,0 de sólidos solúveis em °Brix/acidez em g.100 mL⁻¹ ácido cítrico anidro de ratio para o suco de laranja, o teor mínimo de 14 °Brix e de 0,41 g.100 mL⁻¹, para SST e acidez total expressa em ácido tartárico, respectivamente (BRASIL, 2000) e uma acidez titulável em ácido cítrico mínima de 0,25 g.100 mL⁻¹ para limonada (BRASIL, 1998).

5.4 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS SUCOS DE FRUTAS

Os valores médios referentes à composição química dos sucos de laranja, uva e limonada, realizados no 7º dia de armazenamento, encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6 - Composição química dos sucos de laranja, uva e limonada.

	C	L	M
Umidade (%)	89,92±0,06 ^a	89,87±0,05 ^a	89,30±0,06 ^b
Cinzas (%)	0,42±0,03 ^b	0,44±0,03 ^b	0,52±0,03 ^a
Sólidos totais (%)	10,08±0,06 ^b	10,13±0,05 ^b	10,70±0,06 ^a
Laranja			
Lipídios (g.100 mL ⁻¹)	0,09±0,00 ^b	0,08±0,00 ^b	0,11±0,01 ^a
Proteínas (g.100 mL ⁻¹)	0,68±0,01 ^b	0,68±0,01 ^b	0,73±0,02 ^a
Açúcares totais (g.100 mL ⁻¹)*	9,01±0,09 ^a	8,71±0,10 ^b	9,16±0,13 ^a

	Açúcares redutores (g.100 mL ⁻¹)*	5,07±0,07 ^a	4,75±0,08 ^b	5,10±0,09 ^a
	Umidade (%)	86,93±0,07 ^a	86,87±0,04 ^a	86,12±0,05 ^b
	Cinzas (%)	0,12±0,02 ^b	0,14±0,03 ^b	0,22±0,03 ^a
	Sólidos totais (%)	13,07±0,07 ^b	13,13±0,04 ^b	13,88±0,05 ^b
Uva	Lipídios (g.100 mL ⁻¹)	0,06±0,00 ^b	0,05±0,00 ^b	0,08±0,01 ^a
	Proteínas (g.100 mL ⁻¹)	0,22±0,01 ^b	0,23±0,01 ^b	0,27±0,00 ^a
	Açúcares totais (g.100 mL ⁻¹)*	12,54±0,21 ^a	12,10±0,12 ^b	12,79±0,15 ^a
	Açúcares redutores (g.100 mL ⁻¹)*	9,73±0,09 ^a	9,32±0,06 ^b	9,85±0,12 ^a
	Umidade (%)	89,80±0,04 ^a	89,78±0,04 ^a	89,25±0,03 ^b
	Cinzas (%)	0,03±0,00 ^b	0,03±0,00 ^b	0,04±0,00 ^a
	Sólidos totais (%)	10,2±0,04 ^b	10,22±0,04 ^b	10,75±0,03 ^a
Limonada	Lipídios (g.100 mL ⁻¹)	0,05±0,01 ^b	0,05±0,01 ^b	0,07±0,00 ^a
	Proteínas (g.100 mL ⁻¹)	0,46±0,01 ^b	0,46±0,01 ^b	0,51±0,01 ^a
	Açúcares totais (g.100 mL ⁻¹)*	9,80±0,14 ^a	9,36±0,11 ^b	10,07±0,18 ^a
	Açúcares redutores (g.100 mL ⁻¹)*	6,05±0,09 ^a	5,71±0,11 ^b	6,15±0,07 ^a

Notas: C = Suco controle; L = Suco adicionado de *L. acidophilus* na forma livre; M = Suco adicionado de *L. acidophilus* microencapsulado; * Média de valores de açúcares totais e redutores obtidos nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 de armazenamento, uma vez que não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) dependente do tempo; ^{a,b} Amostras seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem ao nível de 5 % pelo teste de Tukey. Fonte: Autorial própria (2018).

Os diferentes sabores de sucos apresentaram um comportamento semelhante quanto os tratamentos recebidos (controle, com *L. acidophilus* livre e microencapsulado).

Os valores de açúcares totais e redutores foram obtidos nos tempos 1, 7, 14, 21 e 28 dias de armazenamento, estes não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) dependentes do tempo, para os tratamentos dos sucos analisados, indicando que tanto o *L. acidophilus* microencapsulado como as células livres apresentaram baixa atividade metabólica nas bebidas. A média dos valores de açúcares totais e redutores obtidos ao longo do tempo de estocagem estão representados na Tabela 6, para os sucos de laranja, uva e limonada.

As bebidas controle e adicionadas de *L. acidophilus* microencapsulados não diferiram ($p > 0,05$) entre si, para as médias de açúcares totais e redutores, em um mesmo tipo de suco. Segundo Rodrigues et al. (2012) isso ocorre porque a membrana da cápsula presente nas células probióticas encapsuladas possivelmente limita a difusão de açúcares, dificultando a atividade fermentativa dessas bactérias. Os sucos com células livres diferiram dos outros dois

tratamentos, apresentando valores menores de açúcar, provavelmente devido ao consumo do mesmo pelo micro-organismo presente.

Os valores de açúcares totais encontrados nos sucos de laranja e uva, estão de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2000) que estabelece um valor máximo de 13 g.100mL⁻¹ para o suco de laranja e 30 g.100 mL⁻¹ para o suco de uva. Não há valores mínimo e/ou máximos de açúcares totais para a limonada preconizados pela legislação (BRASIL, 1998).

As amostras de suco controle e adicionado de *L. acidophilus* na forma livre não diferiram ($p>0,05$) entre si, para os valores de umidade, sólidos totais, cinzas, lipídios, proteínas. Enquanto o suco com probiótico microencapsulado, foi diferente das demais, para todos os parâmetros analisados. Essa diferença pode ser justificada pela presença dos materiais de parede, como a maltodextrina que é composta praticamente de 100 % de carboidratos e o extrato de soja, uma vez que contém cerca de 40 % de proteínas, 13 % de lipídios, 16 % de fibras e 20 % de carboidratos em sua composição (MENEZES, 2015).

Pimentel et al. (2011) verificaram que a adição de *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* aos néctares de pêssago não alterou a composição química (umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos totais) dos produtos quando comparados à formulação controle ($p>0,05$). Enquanto a adição do prebiótico inulina promoveu uma redução nos teores de umidade e um aumento de carboidratos totais nos néctares.

A legislação brasileira (BRASIL, 2000) não estabelece os valores para os parâmetros analisados, com exceção dos açúcares totais. Não foram encontrados na literatura trabalhos que tenham realizado a caracterização da composição química de sucos de frutas probióticos adicionados de bactérias livres ou microencapsuladas, para que seja feita uma análise comparativa com os resultados obtidos nesse trabalho.

5.5 ANÁLISES MICROBIOLÓGICA, DE COR, REOLÓGICA E SENSORIAL DO SUCO DE LARANJA

Baseado nos resultados, levando em conta a maior viabilidade do *L. acidophilus* durante o armazenamento e a sobrevivência nas condições do sistema de digestibilidade *in vitro*, as amostras de suco de laranja controle, com células livres e microencapsuladas foram submetidas a análise microbiológica, de cor, reológica e sensorial.

5.5.1 Qualidade microbiológica

Os diferentes tratamentos dos sucos de laranja atenderam a RDC nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001) que estabelece padrões de segurança microbiológica para sucos, refrescos, refrigerantes e outras bebidas não alcoólicas de, no máximo, 10 NMP.mL⁻¹ de coliformes a 45 °C e ausência de *Salmonella* sp. em 25 mL do produto.

No presente estudo, verificou-se <3,0 NMP.mL⁻¹ para coliformes totais e termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp. em 25 mL das amostras analisadas, indicando que os sucos estavam microbiologicamente seguros para consumo humano.

5.5.2 Avaliação da cor

A cor é um importante atributo na avaliação da qualidade sensorial do produto, embora não interfira necessariamente no valor nutricional ou no sabor, pode influenciar sobre a aceitação ou a rejeição do alimento, visto que a apreciação visual é o primeiro dos sentidos usados pelos consumidores (OLIVEIRA, 2015).

A coloração dos sucos de laranja das formulações controle, com células de *L. acidophilus* livres e microencapsuladas foram avaliadas pelos parâmetros de cor L*, a* e b*. A Figura 1 demonstra a coloração dos sucos no dia da análise sensorial.

Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) entre a amostra controle e os tratamentos com células livres e microencapsuladas de *L. acidophilus*, quando comparados o valor médio de luminosidade (L*), cor verde (-a*) e amarela (b*), conforme o demonstrado na Tabela 7. Isto indica que a adição dos probióticos ao suco de laranja independentemente de estar na forma livre ou microencapsulada não alterou a cor do produto.

Resultados semelhantes foram encontrados por Soares (2016) que ao avaliar a diferença de coloração no suco de caju, não encontrou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre a amostra controle e as com *L. casei* na forma livre e microencapsulada, quando comparadas em cada estágio de tempo, evidenciando que não houve alteração na cor das amostras de sucos analisados.

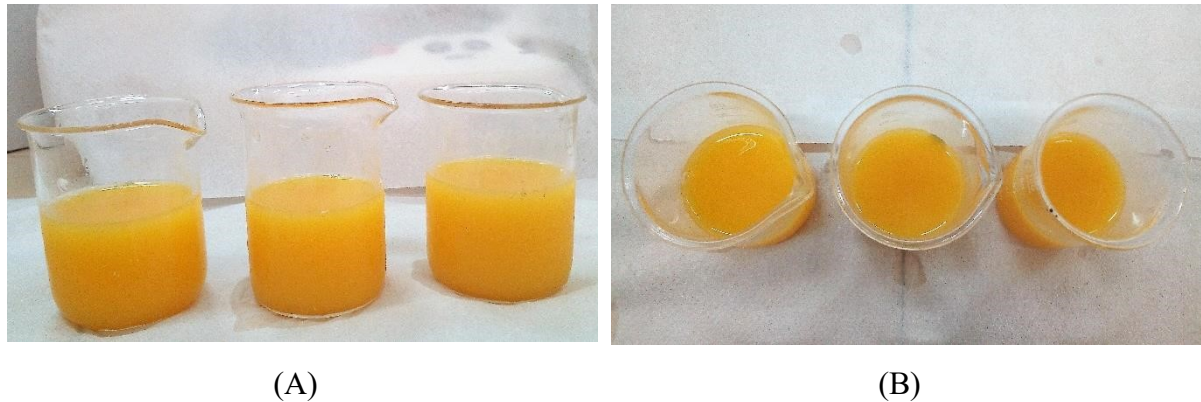


Figura 1 – Suco de laranja controle (à esquerda), com *L. acidophilus* microencapsulado (ao centro) e livre (à direita). (A) Vista de frente; (B) Vista de cima.
Fonte: Autoria própria (2018).

Tabela 7 - Resultados médios das coordenadas das amostras de sucos de laranja controle, com *L. acidophilus* livre e microencapsulado analisados sensorialmente.

Coordenadas	Amostras		
	Controle	Livre	Microencapsulado
L*	29,36±1,28 ^a	28,06±0,83 ^a	29,72±1,61 ^a
a*	- 3,34±0,30 ^a	- 2,94±0,24 ^a	- 3,25±0,41 ^a
b*	19,86±0,75 ^a	19,18±0,62 ^a	19,52±0,59 ^a

Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2018).

5.5.3 Análise reológica

Os dados de tensão de cisalhamento e taxa de deformação obtidos experimentalmente, foram ajustados ao modelo reológico da Lei da Potência. Com o objetivo de descrever o comportamento reológico dos sucos de laranja controle, e probiótico com células livres e microencapsuladas foram obtidos os parâmetros matemáticos na faixa de temperatura entre 10 °C a 60 °C, valores estes representados na Tabela 8.

Tabela 8 - Dados reológicos dos sucos de laranja controle (C), adicionado de *L. acidophilus* livre e microencapsulado (M) ajustado pelo modelo Lei da Potência nas temperaturas de 10 °C a 60 °C.

Parâmetros		Temperaturas					
		10 °C	20 °C	30 °C	40 °C	50 °C	60 °C
C	K (Pa.s ⁿ)	0,002279	0,002234	0,001631	0,001094	0,000646	0,000222
	N	1,038415	1,027474	0,992684	0,994643	0,996861	1,060984
	R ²	0,9998	0,9999	1,0000	1,0000	1,0000	0,9995
M	K (Pa.s ⁿ)	0,002609	0,002574	0,001758	0,001252	0,000669	0,000234
	N	1,037815	1,001274	1,000484	0,990143	1,013361	1,077484
	R ²	0,9998	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,9993
L	K (Pa.s ⁿ)	0,002514	0,002478	0,001703	0,001194	0,000662	0,000227
	N	1,038115	1,020274	1,004584	0,999343	1,006661	1,071360
	R ²	0,9998	0,9999	1,0000	1,0000	1,0000	0,9994

Fonte: Autoria própria (2018).

De acordo com os valores dos parâmetros de coeficiente de determinação (R^2), os dados experimentais das três amostras de sucos ajustaram-se adequadamente ao modelo da Lei da Potência, uma vez que apresentaram valores maiores que 0,999 para o R^2 .

O índice de comportamento do fluido (n) obtido pelo ajuste não linear dos dados de taxa de deformação por tensão de cisalhamento caracterizou todas as amostras como fluidos newtonianos, pois para todos os tratamentos o valor de n foi próximo a 1, apresentando assim uma relação diretamente proporcional entre tensão de cisalhamento e taxa de cisalhamento, ou seja, com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada observou-se aumento da tensão de cisalhamento.

Varshney e Kumbar (1978) e Vandresen (2007) observaram o comportamento reológico do suco de laranja natural, e verificaram também um comportamento praticamente newtoniano. Comportamentos semelhantes também foram observados por Ibarz et al. (1994) no estudo do comportamento reológico de suco de laranja despectinizado nas temperaturas entre 5 e 70 °C e nas concentrações de 30,7 a 63,5 °Brix e por Kar e Kaya (2014) ao determinar as propriedades reológicas do suco de laranja nas temperaturas de 15 a 60 °C e nas concentrações de 25 a 34 °Brix, onde os resultados indicaram que o suco se comporta como um fluido de Newton.

Nas Figura 2, 3 e 4 são mostrados os comportamentos reológicos dos sucos de laranja controle, adicionado de *L. acidophilus* microencapsulado e livre, respectivamente. Para os ajustes foram utilizadas as curvas ascendentes e descendentes, tomando os pontos que representam o valor médio dos dados experimentais dos reogramas, enquanto as linhas contínuas são os resultados dos ajustes ao modelo da Lei da Potência.

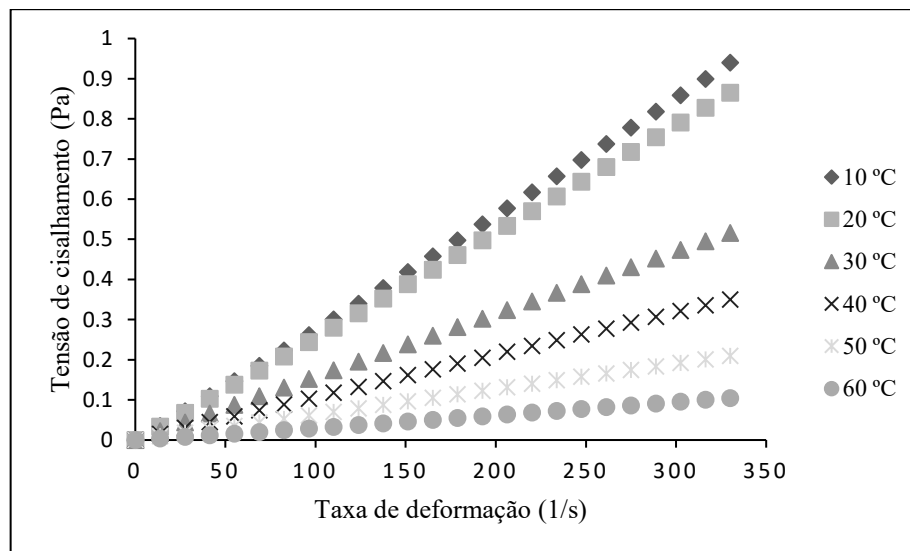


Figura 2 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja controle entre 10 °C a 60 °C.

Fonte: Autoria própria (2018).

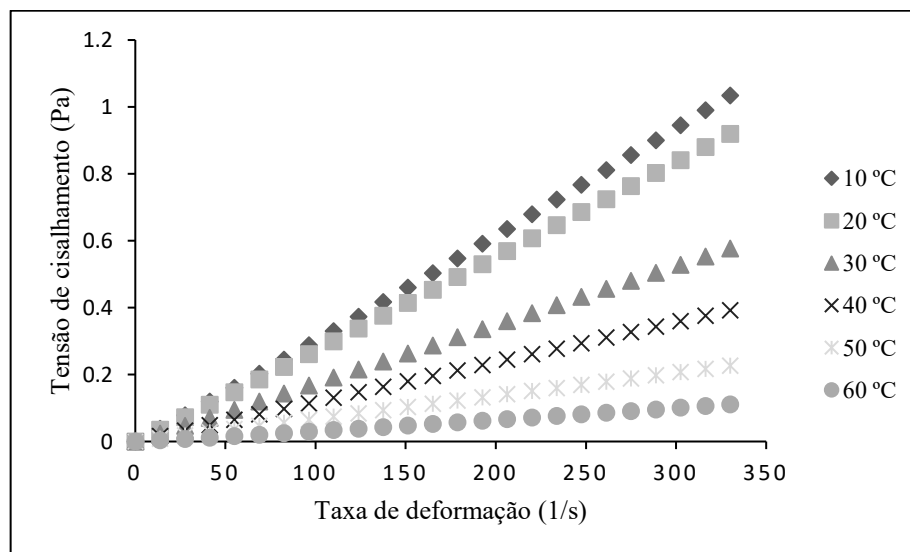


Figura 3 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja adicionado de *L. acidophilus* microencapsulado entre 10 °C a 60 °C. Fonte: Autoria própria (2018).

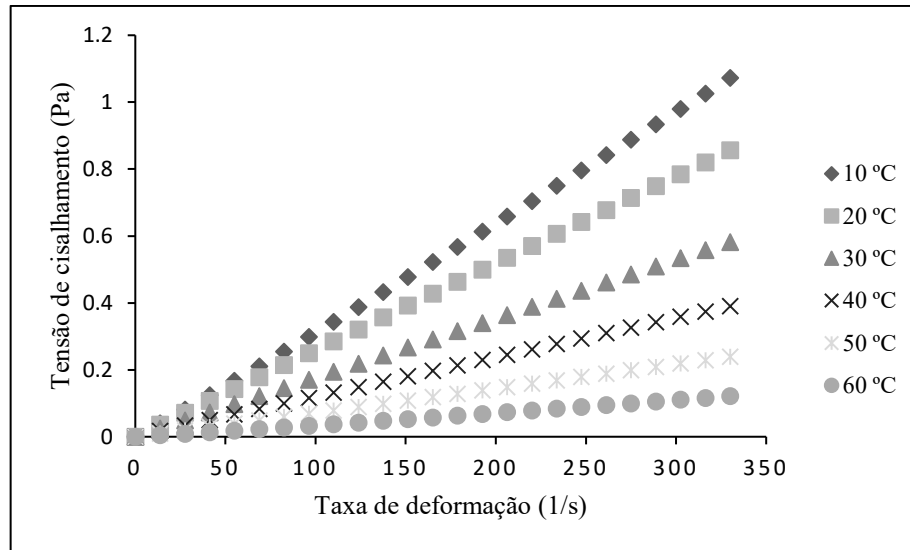


Figura 4 - Relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento descrita pelo modelo de Lei da Potência para o suco de laranja adicionado de *L. acidophilus* livre entre 10 °C a 60 °C. Fonte: A autoria própria (2018).

Nas Figuras 5, 6 e 7, observa-se a variação da viscosidade aparente em função da taxa de cisalhamento dos sucos de laranja controle, com *L. acidophilus* microencapsulado e livre, respectivamente.

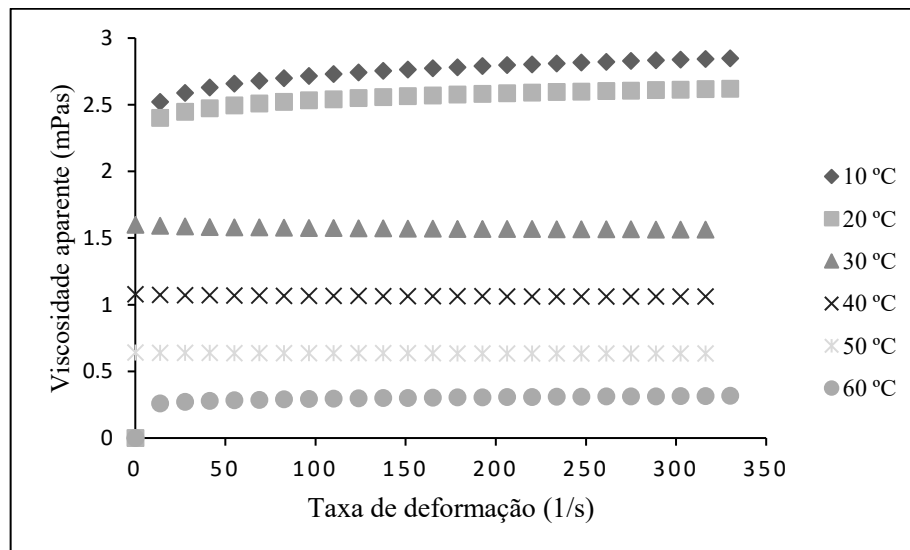


Figura 5 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja controle entre 10 °C a 60 °C. Fonte: A autoria própria (2018).

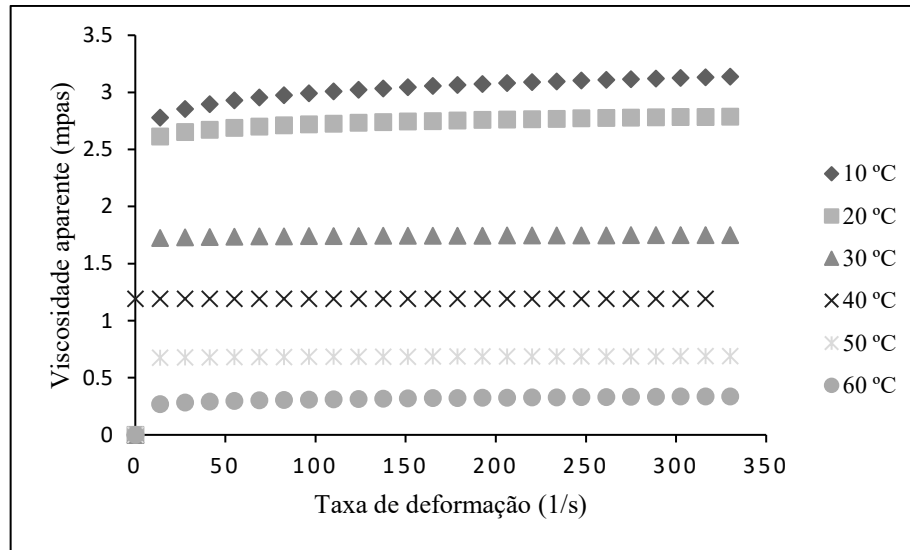


Figura 6 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja adicionado de *L. acidophilus* microencapsulado entre 10 °C a 60 °C.

Fonte: Autoria própria (2018).

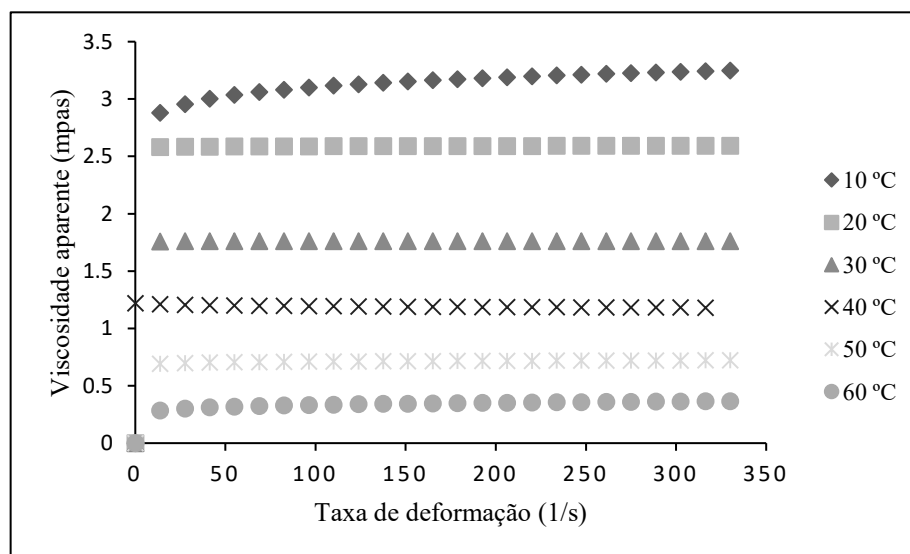


Figura 7 - Curva da viscosidade aparente do suco de laranja adicionado de *L. acidophilus* livre entre 10 °C a 60 °C.

Fonte: Autoria própria (2018).

Em todos os experimentos, observa-se a que a viscosidade aparente dos sucos tendem a ficar constante, indicando dessa forma um comportamento newtoniano para as três amostras.

Na Tabela 9, são apresentados os resultados de viscosidade aparente dos diferentes tratamentos de sucos de laranja.

Tabela 9 - Viscosidades aparente em função das diferentes temperaturas para o suco de laranja.

T (°C)	Controle	Livre	Microencapsulado
	η (mPas)	η (mPas)	η (mPas)
10	2,7729±0,5457 ^a	3,0541±0,6010 ^a	3,1647±0,6226 ^a
20	2,5704±0,5041 ^a	2,7483±0,5382 ^a	2,5908±0,5076 ^a
30	1,5707±0,0093 ^a	1,7433±0,3414 ^a	1,7623±0,3453 ^a
40	1,0643±0,0046 ^a	1,1900±0,1006 ^a	1,1901±0,1096 ^a
50	0,6356±0,0016 ^a	0,6849±0,1341 ^a	0,7162±0,1402 ^a
60	0,3010±0,0604 ^a	0,3206±0,0644 ^a	0,3476±0,0702 ^a

Nota: Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Fonte: A autoria própria (2018).

A adição de probióticos tanto na forma livre como microencapsulada ao suco de laranja não alterou significativamente ($p>0,05$) a viscosidade aparente dos produtos quando comparados à formulação controle. As amostras com *L. acidophilus* livres e microencapsuladas também não apresentaram uma diferença significativa ($p>0,05$) entre si. Resultado semelhante ao encontrado por Pimentel et al. (2011), que observou que a viscosidade aparente do néctar de pêssigo com *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* não diferiu significativamente ($p>0,05$) da amostra controle.

Não foram encontrados na literatura estudos que tenham realizado a caracterização da viscosidade de sucos de frutas probióticos adicionados de bactérias livres e microencapsuladas, para que seja feita uma análise comparativa com os resultados obtidos nesse trabalho.

5.5.4 Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial das três formulações de sucos de laranja, controle (sem probióticos), com células de *L. acidophilus* livre e microencapsuladas foram obtidos por meio da avaliação dos atributos, aparência, consistência, textura, cor, aroma, sabor e avaliação global, utilizando a escala hedônica no 7º dia de armazenamento (Tabela 10).

Tabela 10 - Média das notas atribuídas na análise sensorial por meio da escala hedônica.

Atributos sensoriais	Controle	Livre	Microencapsulado
Aparência	7,39±1,25 ^a	7,41±1,12 ^a	7,28±1,29 ^a
Consistência	7,12±1,30 ^a	7,23±1,28 ^a	7,02±1,47 ^a
Textura	7,20±1,37 ^a	7,21±1,32 ^a	7,01±1,57 ^a
Cor	7,55±1,24 ^a	7,59±1,29 ^a	7,46±1,37 ^a
Sabor	6,90±1,71 ^a	6,89±1,82 ^a	6,81±2,12 ^a
Aroma	7,09±1,46 ^a	7,01±1,74 ^a	6,62±1,82 ^a
Avaliação global	7,15±1,31 ^a	7,22±1,39 ^a	7,06±1,60 ^a

Nota: Médias seguidas por letras iguais nas linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade ($p>0,05$) pelo teste de Tukey, referentes a escala de 9 pontos (1 = desgostei muitíssimo; 2 = desgostei muito; 3 = desgostei moderadamente; 4 = desgostei ligeiramente; 5 = indiferente; 6 = Gostei ligeiramente; 7 = Gostei moderadamente; 8 = Gostei muito; 9 = Gostei muitíssimo), $n = 120$.

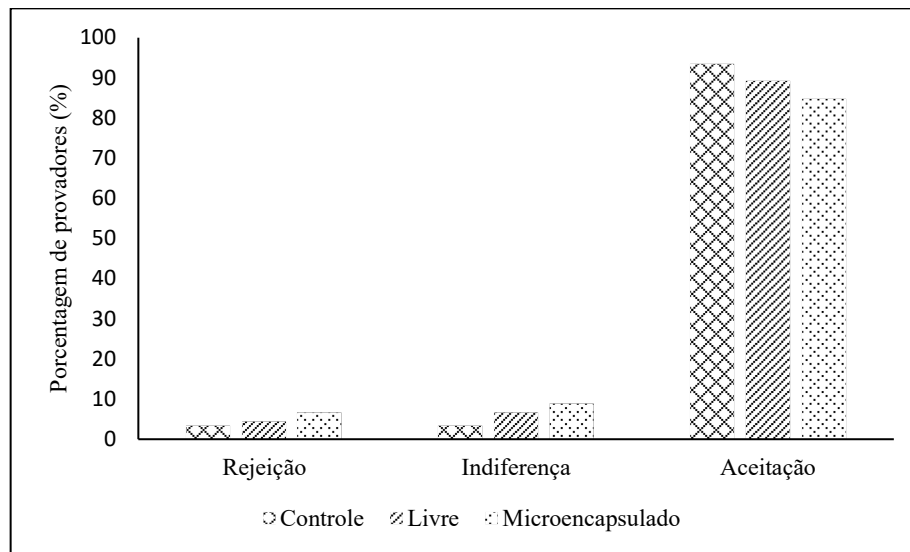
Fonte: A autoria própria (2018).

Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) entre as três amostras, para nenhum dos atributos avaliados, por meio da escala hedônica, fator esse que corrobora com os resultados obtidos por este estudo, em especial para a cor, textura e consistência, uma vez que por meio da análise de cor e reológica as amostras também não apresentaram uma diferença significativa ($p>0,05$) entre si. Apesar da adição do *L. acidophilus* livre e microencapsulado ter proporcionado alterações nas propriedades físico-químicas e na composição centesimal do produto, essas não foram perceptíveis sensorialmente no suco de laranja.

Os sucos obtiveram médias referentes as notas de “gostei moderadamente” e “gostei muito” nos parâmetros avaliados com exceção do sabor que foi classificado com valores entre “gostei ligeiramente” e “gostei moderadamente”.

Todas as formulações conseguiram obter uma aceitação superior a 70 %, em relação a avaliação global pela escala hedônica, que de acordo com Minin (2013) demonstra que o produto foi bem aceito pelo consumidor. O suco controle apresentou um percentual superior de aceitação (93,4 %) quando comparado as outras formulações, que foram de 89,0 % e 84,6 %, para os sucos contendo *L. acidophilus* na forma livre e microencapsulada, respectivamente. Em relação a rejeição, nenhuma das amostras atingiu 10 % de rejeição, conforme o demonstrado na Figura 8.

Figura 8 - Gráfico para avaliação global das três amostras de suco de laranja (controle, livre e microencapsulado) obtido pela escala hedônica.



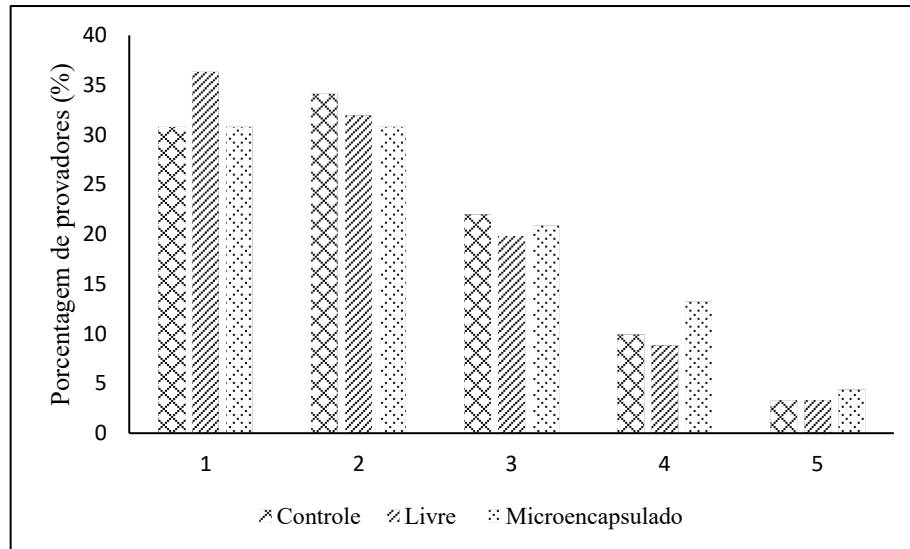
Nota: Rejeição: entre 1 e 4 (desgostei muitíssimo e desgostei ligeiramente); Indiferença: 5 (nem gostei nem desgostei); Aceitação: entre 6 e 9 (gostei ligeiramente e gostei muitíssimo).

Fonte: Autoria própria (2018).

A Figura 9 representa os valores de intenção de compra dos sucos de laranja. A maioria dos provadores apontaram que certamente e possivelmente comprariam o produto controle (64,8 %), com células livres (68,1 %) e com células microencapsuladas (61,5 %).

Dentre os provadores que certamente ou possivelmente não compraria os produtos, o suco com *L. acidophilus* microencapsulado apresentou uma maior rejeição com 17,6 % dos participantes, seguido do suco controle que teve uma recusa de 13,2 % e do com *L. acidophilus* livre (12,1 %).

Figura 9 - Gráfico de intenção de compra dos sucos de laranja controle, com *L. acidophilus* livre e microencapsulado).



Nota: 1 – Certamente compraria; 2 – Possivelmente compraria; 3 – Talvez comprasse/talvez não comprasse; 4 - Possivelmente não compraria; 5 – Certamente não compraria.

Fonte: Autoria própria (2018).

6 CONCLUSÃO

O método de *spray drying* foi efetivo na formação de microesferas de extrato de soja e maltodextrina, proporcionando uma maior resistência as células de *L. acidophilus* aprisionadas, as quais apresentaram uma viabilidade e sobrevivência superior em sucos de frutas, em comparação com sucos contendo *Lactobacillus acidophilus* livre, durante a vida útil do produto e principalmente durante as simulações de digestibilidade, uma vez que houve perda total da viabilidade dos micro-organismos livres no 28º dia de armazenamento.

O pH foi um dos fatores que mais afetaram a viabilidade da bactéria probiótica, no qual o suco de laranja, com pH mais elevado foi o que apresentou resultados mais satisfatórios, levando em conta a maior viabilidade do *L. acidophilus* durante o armazenamento e a sobrevivência nas condições do trato digestório *in vitro*.

A adição de *L. acidophilus* na forma livre ou microencapsulada alteraram as características físico-químicas da bebida controle (sem probióticos) com exceção da acidez que permaneceu constante para os tratamentos analisados, enquanto o conteúdo de sólidos solúveis totais exibiu um aumento ocasionado pela adição das microesferas, possivelmente em decorrência da composição do material de parede e o pH apresentou uma redução pelo acréscimo das células livres do probiótico, concluindo que a bactéria probiótica imobilizada pela microencapsulação possui maior estabilidade no produto, quando comparadas as células livres no suco.

As células probióticas livres e microencapsuladas apresentaram baixa atividade metabólica nos sucos funcionais, uma vez que as características físico-químicas como, pH e sólidos solúveis totais das bebidas não mostraram uma diferença significativa decorrentes do tempo de armazenamento, já o aumento da acidez total titulável encontrado durante a estocagem foi semelhante ao da bebida controle.

Os sucos adicionados de microcápsulas contendo *L. acidophilus* apresentaram uma alteração na composição centesimal dos sucos de frutas, com a exceção dos teores de açúcares totais e redutores, quando comparados as amostras controle e com probióticos livres. Enquanto os sucos com células livres se diferiram significativamente das amostras controle e adicionadas de *L. acidophilus* microencapsulado apenas nas quantidades de açúcares totais e redutores.

A qualidade microbiológica dos sucos de laranja atendeu o padrão estabelecido pela legislação brasileira, encontrando-se seguro para consumo humano.

A adição de probióticos livres ou microencapsulados a bebida de laranja não refletiu em alterações da cor e viscosidade do produto.

Apesar das alterações físico-químicas e na composição centesimal dos sucos de frutas ocasionadas pela adição do *L. acidophilus* livre e microencapsulado, essas não foram perceptíveis sensorialmente no suco de laranja, uma vez que os três tratamentos avaliados não apresentaram diferença significativa entre si para nenhum dos atributos analisados.

A avaliação dos sucos de laranja controle, com células livres e microencapsuladas de *L. acidophilus* pelos provadores foi positiva, apresentando uma aceitação superior a 70 % e uma intenção de compra superior a 60 % para todas amostras analisadas.

Os sucos de laranja e uva se portaram como bons veículos para *L. acidophilus* desde que associados à tecnologia de microencapsulação a fim de promover o crescimento e manutenção da cultura no produto, apresentando uma maior viabilidade em um maior tempo de armazenamento e após a simulação da digestibilidade *in vitro*. Enquanto a limonada não se apresentou como bom condutor da bactéria probiótica livre e microencapsulada, uma vez que as células não permaneceram viáveis até o 28º dia de armazenamento.

REFERÊNCIAS

ADAMS, C. A. The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. **Nutrition Research Reviews**, v. 23, p. 37- 46, 2010.

ALMEIDA, C. C. et al. Beneficial effects of long-term consumption of a probiotic combination of *Lactobacillus casei* Shirota and *Bifidobacterium breve* Yakult may persist after suspension of therapy in lactose-intolerant patients. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 27, n. 2, p. 247-251, 2012.

ALMEIDA, I. P. **Secagem por *spray drying* de suco de abacaxi com hortelã e avaliação sensorial do suco reconstituído**. 2017. 65 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/21262/1/SecagemSprayDrying.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2018.

ALVES, A. T. S. et al. Pasteurised, microfiltered and lactose-hydrolysed skimmed milk with added probiotics: Development and storage stability. **Int J Dairy Technol**, v. 69, p. 22–30, 2016.

ALVES, C. C. C. et al. Utilização de *Lactobacillus acidophilus* e de acidificação direta na fabricação de queijo de minas frescal. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v. 63 n. 6, Belo Horizonte, 2011.

ALVES, N. N. **Desidratação de suco de laranja probiótico por *spray-dryer***. 2012. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2012. Disponível em: <http://www.ppgcta.ufc.br/Disserta%E7%E3o_de_Niedila_Nascimento_Alves.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

ANAL, A. K.; SINGH, K. Recents advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. **Trends in Food Science & Technology**, v.18, n. 5, p.240-251, 2007.

ANDRADE, R. H. C. **Estabilidade e aceitabilidade de sucos probióticos de goiaba (*Psidium guajava* L.) contendo *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469**. 2017. 76 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em:<<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/25164>>. Acesso em: 26 out. 2018.

ANSELMO, P. T. **Desenvolvimento de flan probiótico à base de proteínas do soro de leite e açaí**. 2018. 62 f. Dissertação (Ciências e Tecnologia de Leite e Derivados) - Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu, Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, 2018. Disponível em: <<http://repositorio.pgsskroton.com.br/bitstream/123456789/19592/1/PAULYNE%20TOLENTINO%20ANSELMO.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2018.

ANTUNES, A. E. C. et al. Acerola nectar with added microencapsulation probiotic. **Food Science and Technology**, v. 54, p. 125-131, 2013.

BADARÓ, A. C. L. et al. Alimentos probióticos: aplicações como promotores de saúde humana. **Revista Digital de Nutrição**, Ipatinga, v. 3, n. 4, p. 396-416, 2009.

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, n. 4, p. 423-431, 2015.

BARROS, T. T. A. S. **Propriedades benéficas do kefir para o controle da saúde: um estudo de revisão**. 2018. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco. Vitória de Santo Antão. 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/23913/1/BARROS%2c%20T%20C3%A2mara%20Tamyres%20Angela%20Silva%20de.pdf>>. Acesso em: 24 out. 2018.

BEZERRA C. V. et al. Comportamento reológico de suco misto elaborado com frutas tropicais. **Braz. J. Food Techno**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 155-162, 2013.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. v. 37, n. 8, p. 911-917.

BOSCARIOLI, M. P. **Influência de probióticos na encapsulação de bactérias probióticas adicionadas em sorvete**. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Engenharia Mauá, Centro Universitário do Instituto Mauá de tecnologia, São Caetano do Sul, 2010. Disponível em: <<http://maua.br/files/dissertacoes/influencia-de-prebioticos-na-encapsulacao-de-bacterias-probioticas-adicionadas-em-sorvete.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 1, de 7 jan. 2000. **Diário Oficial da União, Brasília**, n. 6, 10 jan. 2000. Seção I, p. 54-58. [Aprova os Regulamentos Técnicos para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpas e sucos de frutas].

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre. Anexo: Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres, Método 10 – Acidez Total Titulável. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 28 nov. 1986a. Seção 1, pt. 2. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/nao-alcoolicos-10-acidez-total-titulavel.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre. Anexo: Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres, Método 24 – Nitrogênio total. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 28 nov. 1986b. Seção 1, pt. 2. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/nao-alcoolicos-24-nitrogenio-total.pdf/@@download/file/N%C3%83O%20ALCO%3%93LICOS%20-%2024%20Nitrog%C3%AAnio%20Total.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria nº 76 de 26 de novembro de 1986. Dispõe sobre os métodos analíticos de bebidas e vinagre. Anexo: Manual de Métodos de Análises de Bebidas e Vinagres, Método 14 – Açúcares redutores. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 28 nov. 1986c. Seção 1, pt. 2. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/metodos/arquivos-metodos-da-area-bev-iqa/nao-alcoolicos-14-acucares-redutores-nao-redutores-e-totais.pdf/@@download/file/N%C3%83O%20ALCO%3%93LICOS%20-%2014%20A%C3%A7%C3%BAcares%20redutores,%20N%C3%A3o%20redutores%20e%20Totais.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre Os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 10 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 2, de 7 de janeiro de 2002. Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com alegação de propriedades funcional e/ou de saúde. **Diário Oficial da União**. Brasília, 9 de jan. 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_02_2002.pdf/eea25458-6317-4c28-9f57-1982ee32623c>. Acesso em: 7 set. 2018.

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: **IX Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas**. Atualizado em: julho de 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 268, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico para produtos proteicos de origem vegetal. **Diário Oficial da União**, Brasília, 23 set. 2005. Disponível em: <<https://www.saude.rj.gov.br/comum/code/MostrarArquivo.php?C=MjI0Nw%2C%2C>>. Acesso em: 7 set. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 544, de 16 de novembro de 1998. Aprova os Regulamentos Técnicos para Fixação dos Padrões de Identidade e Qualidade, para refresco, refrigerante, preparado ou concentrado líquido para refresco ou refrigerante, preparado sólido para refresco, xarope e chá pronto para consumo. **Diário Oficial da União**, Brasília, 17 nov. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999. Regulamento técnico que estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 3 mai. 1999. Seção 1, p.11. 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância sanitária. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. 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, 3 mai. 1999. Seção 1, p.11. 1999b.

CARDOSO, T. L. **Evolução dos padrões alimentares e sua influência no mercado de alimentos saudáveis**. 2016. 57 f. Monografia (Curso de Ciências Econômicas) - Setor de Ciências Sociais Aplicadas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/47128/THASSIA%20LARISSA%20CARDOSO.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 24 out. 2018.

CARMO E. L.; FERNANDES, R. V. B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por *spray drying*, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, 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, ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, p. 65– 74, 2015.

CHAMPAGNE C. P. et al. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. **International Journal of Food Microbiology**, v.149, n. 3, p. 185-193, 2011.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Effects of storage conditions, microencapsulation and inclusion in chocolate particles on the stability of probiotic bacteria in ice cream. **International Dairy Journal**, v. 47, p. 109-117, 2015.

CHAMPAGNE, C. P.; GARDNER, N. J. Effect of storage in a fruit on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. **Food Research International**, v. 41, p. 539-543, 2008.

CHÁVARRI, M. et al. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. **International Journal of Food Microbiology**, v.142, p.185-189, 2010.

COELHO, J. C. **Elaboração de bebida probiótica a partir de suco de laranja fermentado com *Lactobacillus casei***. 2009. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2009. Disponível em: <<http://www.ppgcta.ufc.br/jamilecoelho.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

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

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.

DING, W. K.; SHAH, N. P. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. **International Food Research Journal**, v. 15, n. 2, p. 219-232, 2008.

DUBEY, M.R.; PATEL, V.P. Probiotics: A promising tool for calcium absorption. **The Open Nutrition Journal**. v. 12, p. 59-69, 2018.

ECKERT, C. **Bactérias lácticas: Avaliação da resistência ao trato gastrintestinal simulado e encapsulamento com soros lácteos**. 2016. 113 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro Universitário UNIVATES. Lajeado, 2016. Disponível em:<<https://www.univates.br/bdu/bitstream/10737/1588/1/2016CamilaEckert.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2018.

ETCHEPARE, M. A. et al. Microencapsulação de probióticos utilizando alginato de sódio. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 7, 2015.

FANG, S. B. et al. Live and heatkilled *Lactobacillus rhamnosus* GG upregulate gene expression of pro-inflammatory cytokines in 5-fluorouracil-pretreated Caco-2 cells. **Supportive Care in Cancer**, v. 22, p. 1647 – 1654, 2014.

FAO/WHO. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. **Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**, Córdoba, 2001. Disponível em: <<http://isappscience.org/wp-content/uploads/2015/12/FAO-WHO-2001-Probiotics-Report.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

FARAONI, A. S. et al. Propriedades reológicas de sucos mistos de manga, goiaba e acerola adicionados de fitoquímicos. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 16, n. 1, p. 21-28, 2013.

FARIA, L. M. **Potencial probiótico in vitro de microrganismos probióticos veiculados em leites fermentados funcionais comerciais**. 2017. 38 f. Trabalho de conclusão de curso (Curso de Medicina Veterinária) - Centro universitário de Formiga, UNIFOR-MG, Formiga, 2017. Disponível em: <<https://bibliotecadigital.uniformg.edu.br:21015/xmlui/bitstream/handle/123456789/464/TCC%20%20LUIZA%20MOTA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 24 out. 2018.

FARIAS, N. V. M. **Crescimento e sobrevivência de *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 em suco de Maracujá da Caatinga (*Passiflora cincinnata*)**. 2016. 73 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial) – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/18697>>. Acesso em: 24 out. 2018.

FARIAS, T. G. S. **Viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* e *Lactobacillus casei* encapsulados em sorvete de cajá**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/25011/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Tha%C3%ADsa%20Gabriela%20Silva%20de%20Farias.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

FERREIRA, G. M.; GUIMARÃES, M. J. O. C.; MAIA, M. C. A. Efeito da temperatura e taxa de cisalhamento nas propriedades de escoamento da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum) integral. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. 385-389, 2008.

FLESH, A. G. T.; POZIOMYCK, A. K.; DAMIN, D. D. C. O uso terapêutico dos simbióticos. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**. São Paulo. v. 27, n. 3, p. 206-209, 2014.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Probióticos, prebióticos e simbióticos. **Revista Food Ingredients Brasil**. São Paulo, n.17, p. 58-65, 2011.

FRITZEN-FREIRE, C. B. et al. Effect of microencapsulation on survival of *Bifidobacterium* BB-12 exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. **LWT- Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 39-44, 2013.

FURTADO, L. L. **Viabilidade de bactérias probióticas em suco tropical de manga e sobrevivência das estirpes às condições gastrointestinais simuladas *in vitro***. 2017. 48 F. Dissertação (Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Rio Pomba, 2017. Disponível em: <https://mpcta.riopomba.ifsudestemg.edu.br/pdf/dissertacoes/2017/622321943_L%C3%8DVI A%20LADEIRA%20FURTADO-imprimir.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

GEBARA C. et al. 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.

GON, R. L. R. **Aplicação e viabilidade de *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* e *S. thermophilus* microencapsulados em frozen yogurt de soja**. 2014. 53 f. Trabalho de conclusão de curso (graduação) – Curso Superior de Engenharia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/2247/1/CM_COEAL_2013_2_10.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

GRAY, A. et al. Determination of microcapsule physicochemical, structural, and mechanical properties. **Particuology**, v.24, p. 32–43, 2016.

HABIL, N. et al. Heat-killed probiotic bacteria differentially regulate colonic epithelial cell production of human β -defensin-2: dependence on inflammatory cytokines. **Beneficial Microbes**, v. 5, p. 483 – 495, 2014.

IBARZ, A., GONZALEZ, C.; ESPLUGAS, S. Rheology of clarified fruit juices. III: Orange juices. **Journal of Food Engineering**, v. 21, p. 485–494, 1994.

ILHA, E. C. ***Lactobacillus paracasei* FNU - Isolado de fermento de uva: Avaliação de características probióticas, resistência a microencapsulação por *spray drying* e quantificação em iogurte por PCR em tempo real**. 2015. 125 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Centro Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2015. Disponível em:

<<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/158876/337263.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 25 out. 2018.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Acesso em: 14 set. 2018.

JONES, M. L., MARTONI, C. J., PRAKASH, S. Cholesterol lowering and inhibition of sterol absorption by *Lactobacillus reuteri* NCIMB 30242: a randomized controlled Trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 66, p. 1234–1241, 2012.

KAR, F.; KAYA, B. A. **The rheological behavior of concentrated orange juice**. In: 10th International Conference on Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics. Orlando, Florida, 2014. Disponível em: <<https://pdfs.semanticscholar.org/4a1f/7696e86ac048b374d6082a5aadbe6408d383.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2018.

KISO, M. et al. Protective efficacy of orally administered, heat-killed *Lactobacillus pentosus* b240 against influenza A vírus. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1563 – 1571, 2013.

KRASAEKOOPT, W.; WATCHARAPOKA, S. Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads 123 coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 761-766, 2014.

LEBLANC, J. G. et al. B-Group Vitamins Production by Probiotic Lactic Acid Bacteria. **Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications**, 2 ed., p. 279-296, 2015.

LIMA, D. C. N. **Suco de banana em pó probiótico**. 2012. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2012. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/256422/1/Lima_DianaClaraNunesde_M.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

LORENZ, J. G. **Comparação dos métodos de emulsificação e spray drying na microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) e aplicação em sorvete**. 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2009. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/30373740.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

MACIEL, G. M. **Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* por spray-drying utilizando soro doce e leite desnatado**. 2013. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2013. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255196/1/Maciel_GuilhermedeMoura_M.pdf>. Acesso em: 25 out. 2018.

MADUREIRA, A. R. et al. Protective effect of whey cheese matrix on probiotic strains exposed to simulated gastrointestinal conditions. **Food Research International**, v. 44, p. 465-470, 2011.

MAHBOOBI, S. et al. The effects of probiotic supplementation on markers of blood lipids, and blood pressure in patients with prediabetes: A randomized clinical trial. **International Journal of Preventive Medicine**, v. 5, n. 10, 2014.

MARTIN, M. J. et al. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v.27, p.15–25, 2015.

MARTINS, E. M. F. et al. Fruit salad as a new vehicle for probiotic bacteria. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 540-548, 2016.

MARTINS, E. M. F. et al. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. **Food Research International**, v.51, n. 2, p.764–770, 2013.

MARTINS, E. M. F. **Viabilidade do uso de salada de frutas minimamente processada como veículo de micro-organismos probióticos**. 2012. 84 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2012. Disponível em: <<http://www.locus.ufv.br/bitstream/handle/123456789/464/texto%20completo.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 7 set. 2018.

MENEZES, C. R. et al. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.

MENEZES, L. A. A. **Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* utilizando extrato de soja e maltodextrina**. 2015. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2015. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/1541/1/MD_PPGTA_M_Menezes%2C%20Leidiane%20Andreia%20Acordi_2015.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos com consumidores**. 2 ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2013.

MOTTA, G. E. **Produção de xarope com elevada concentração de frutose a partir do yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. 2017. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/177908/TCC_final_gabriel.pdf?sequence=1>. Acesso em: 24 out. 2018.

NAMI, Y. et al. Probiotic potential and biotherapeutic effects of newly isolated vaginal *Lactobacillus acidophilus* 36YL strain on cancer cells. **Anaerobe**, v. 28, p. 29-36, 2014.

NORONHA, F. M. F. **Propriedades de adesão e atividade inibitória de espécies de *Lactobacillus* sobre a interação de *Escherichia coli* diarreogênicas em células eucarióticas**. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Mestrado em Biologia Parasitária, Universidade CEUMA. São Luís, 2014. Disponível em: <<http://www.ceuma.br/mestradobiologia/images/dissertacao/Francisca%20Maria%20Ferreira%20Noronha.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

NUALKAEKUL S, et al. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. **Carbohydr. Polym.** v.90, p. 1281-1287, 2012.

NUALKAEKUL, S.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. **International Journal of Food Microbiology**, v. 146, n. 3, p. 111-117, 2011.

NUNES, G. L. et al. Microencapsulação de culturas probióticas: princípios do método de *spray drying*. **Ciência e Natura**, Santa Maria, v.37, ed. Especial, p. 132 – 141, 2015.

OJETTI, V. et al. The effect of oral supplementation with *Lactobacillus reuteri* or tilactase in lactose intolerant patients: randomized trial. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. v. 14, n. 3, p. 163-170, 2010.

OLIVEIRA, D. C. **Viabilidade de *Lactobacillus rhamnosus* GG em sucos de jabuticaba e sobrevivência às condições gastrointestinais simuladas *in vitro***. 2015. 71f. Dissertação (Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Rio Pomba, 2015. Disponível em: <https://mpcta.riopomba.ifsudestemg.edu.br/pdf/dissertacoes/2015/1717983924_DISSERTA%C3%87%C3%83O_Daniane.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

ORLANDO, A. et al. Antiproliferative and Proapoptotic Effects of Viable or HeatKilled *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in HGC-27 Gastric and DLD-1 Colon Cell Lines. **Nutrition and Cancer**, v. 64, p. 1103 – 1111, 2012.

PALOMAR, M. M; et al. Oral probiotics supplementation can stimulate the immune system in a stress process. **Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism**. v. 8, p. 29-40, 2017.

PEREIRA, G. D. G. **Utilização de extrato hidrossolúvel de soja na produção de sorvete**. 2010. 166 f. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2010. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/2985/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Utiliza%C3%A7%C3%A3o%20de%20extrato%20hidrossol%C3%BAvel%20de%20soja%20na%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20sorvete.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, 2018.

PICCOLI, K. R. **Influência da crioconcentração nas propriedades reológicas de sucos de uva**. 2015. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4902/1/CM_COEAL_2015_1_07.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

PIMENTEL, T. C.; PRUDENCIO, S. H.; RODRIGUES, R. S. Néctar de pêssego potencialmente simbiótico. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 3, p. 455-464, 2011.

PRATES, F. C. **Desenvolvimento de suco misto de juçara e manga adicionado de *Lactobacillus rhamnosus* gg submetido ao estresse ácido e bórico subletal**. 2017. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Pós-Graduação Stricto Sensu, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais. Rio Pomba, 2017. Disponível em: <https://mpcta.riopomba.ifsudestemg.edu.br/pdf/dissertacoes/2017/1880710061_Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Fernanda%20Prates%202017.pdf>. Acesso em: 24 out. 2018.

RAMASAMY K. et al. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 65-69, 2010.

RANADHEERA, R. D. C. S. et al. Importance of food in probiotic efficacy. **Food Research Internatioanal**, v. 43, n. 1, p. 1-7, 2010.

RIBEIRO, M. C. E. **Produção e caracterização de iogurte probiótico batido adicionado de *Lactobacillus acidophilus* livre e encapsulado**. 2011. 75 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2011. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/255192/1/Ribeiro_MariaCeciliaEnes_M.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

RODRIGUES, D. et al. Storage stability of *Lactobacillus paracasei* as free cells or encapsulated in alginate-based microcapsules in low pH fruit juices. **Food and Bioprocess Technology**, v.5, p. 2748-2757, 2012.

SALLES, L. G. **Os alimentos funcionais no Brasil: uma análise dos produtos registrados com alegações de propriedade funcional e/ou de saúde entre 1999 e 2013**. 2013. 109 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso Superior de Ciências Sociais. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105024>>. Acesso em: 7 set. 2018.

SANDERS, M. E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v. 8, n. 5-6, p. 341-347, 1998.

SANG, L. et al. Live and heat-killed probiotic: effects on chronic experimental colitis induced by dextran sulfate. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, p. 20072-20078, 2015.

SANTOS, J. S. et al. Suco de uva suplementado com *Lactobacillus acidophilus* e oligofrutose. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 839-844, 2008.

SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. J. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: microrganismos funcionais. **Ciência Equatorial**. v. 1, n. 2, p. 26-38, 2011.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017.

SILVA, P. T. 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**, Santa Maria, v. 45, n.7, 2015.

SILVA, T. M. et al. Encapsulação de compostos bioativos por coacervação complexa. **Ciência e Natura**, Santa Maria v.37, ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, p. 56 – 64, 2015.

SIMEONI, C. P. et al. Microencapsulação de probióticos: inovação tecnológica na indústria de alimentos. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, p. 66-75, 2014.

SOARES, B. L. M. **Desenvolvimeto de uma bebida funcional a base de caju (*Anacardium occidentale L.*) com *Lactobacillus casei* DN 114-001 livre e microencapsulado**. 2016. 163 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016. Disponível em: <<http://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/17621>>. Acesso em: 7 set. 2018.

SOUZA, R. S. **Elaboração de bebida probiótica sabor manga e uva com *Lactobacillus acidophilus***. 2014. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2014. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5360/1/LD_COALM_2014_1_10.pdf>. Acesso em: 26 out. 2018.

STARLING, S. Global probiotics market to grow 6.8% annually until. **Diary Reporter**. 2018. Disponível em: <<https://www.dairyreporter.com/Article/2013/01/17/Global-probiotics-market-to-grow-6.8-annually-until-2018?>>. Acesso em: 24 out. 2018.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos. **Saúde & Ambiente em Revista**. Duque de Caxias, v. 3 n. 1, p. 16-33, 2008.

TEBERGA, P. M. F. **Avaliação do efeito de diferentes prebióticos sobre o desenvolvimento de cepas de *Lactobacillus***. 2017. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2017. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97132/tde-08062018-183427/pt-br.php>>. Acesso em: 24 out. 2018.

TENÓRIO, C. G. M. S. C. **Microencapsulação de *Lactobacillus acidophilus* e aplicação em queijo prato**. 2012. 147 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP. Campinas, 2012. Disponível em: <<http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/255193>>. Acesso em: 7 set. 2018. to_Alves.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

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.

UPADRASTA, A.; MADEMPUDI R. S. Probiotics and blood pressure: current insights. **Integrated Blood Pressure Control**, v. 9, p. 33–42, 2016.

VANDRESEN, S. **Caracterização físico-química e comportamento reológico de sucos de cenoura e laranja e suas misturas**. 2007. 133 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007. Disponível em: <<http://www.pgeal.ufsc.br/files/2011/01/Solange.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2018.

VANISKI, R.; CORTI, D.; DRUNKLER, D. A. Técnicas e materiais empregados na microencapsulação de probióticos. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 8, n. 1, 2017.

VARSHNEY, N. N.; KUMBAR, B. K. Effect of concentration and temperature on rheological properties of pineapple and orange juices. **Journal of Food Science and Technology**, v. 15, n. 2, p. 53–55, 1978.

VASCONCELOS, B. G. **Desenvolvimento de mix de açaí probiótico, prebiótico e simbiótico**. 2010. 54 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9133/tde-13042010-093047/publico/BrunoDissertacaoVERSAOFINAL2010.pdf>>. Acesso em: 7 set. 2018.

VECCHIO R.; VAN LOO, E. J; ANNUNZIATA, A. Consumers' willingness to pay for conventional, organic and functional yogurt: evidence from experimental auctions. **International Journal of Consumer Studies**, v. 40, n. 3, p. 368-378, 2016.

VICENTE, M. R. **Propriedades Reológicas de Suco de Abacaxi com Yacon**. 2015. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015. Disponível em: <http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/4901/1/CM_COEAL_2015_1_09.pdf>. Acesso em: 7 set. 2018.

VILELA, S. F. G. **Influência de *Lactobacillus acidophilus* sobre biofilme formado por *Candida albicans in vitro* e infecção em modelo de invertebrado**. 2013. 115 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Instituto de Ciência e Tecnologia. São José dos Campos, 2013. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/103863>>. Acesso em: 7 set. 2018.

YAN, F.; POLK, D. B. Probiotics and immune health. **Current Opinion In Gastroenterology**. v.27, n. 6, p. 496–501, 2011.

YING D. et al. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. **Journal of Functional Foods**. v. 5, p. 98–105, 2013.

ZENE, K. L. et al. Ação de prebióticos e probióticos em indivíduos com câncer colorretal: Revisão integrativa. **Revista UNINGÁ**. v. 29, n.3, p. 127-131, 2017.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário(a) da pesquisa de “Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em sucos funcionais”. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento.

Título da pesquisa: Viabilidade de *Lactobacillus acidophilus* livre e microencapsulado em sucos funcionais.

Pesquisador responsável: Deisy A. Endereço: Avenida Brasil, 4232, Parque Independência – CEP 85884-000 – Medianeira-PR. Telefones: (45) 3240-8089.

Acadêmica: Laura Luisi Antunes.

Local de realização da pesquisa: UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Medianeira.

Endereço: Avenida Brasil, 4232 - Parque Independência – Medianeira-PR. **Telefone:** (45) 3240-8000.

A) INFORMAÇÕES AO PARTICIPANTE

1. Apresentação da pesquisa: Esta pesquisa tem como objetivo microencapsular o micro-organismo probiótico *Lactobacillus acidophilus* empregando extrato de soja e maltodextrina como agentes encapsulantes e adicioná-lo aos sucos prontos de uva, laranja e limonada, com o intuito de verificar se quando encapsulados os probióticos apresentam maior viabilidade em relação ao tempo de armazenamento e às condições do sistema de digestibilidade simuladas *in vitro* quando comparados aos de forma livre. O estudo visa avaliar se os sucos de fruta podem ser utilizados como veículos de probióticos como alternativa aos produtos lácteos comumente encontrados no mercado. Através da análise sensorial será avaliada a aceitação das bebidas de laranja adicionadas de micro-organismos livres e microencapsulados e não adicionados de micro-organismos e a intenção de compra, no caso destes serem comercializadas. Desta forma, você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa conduzida pela aluna de graduação do

Curso de Engenharia de Alimentos do Câmpus Medianeira da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

2. Objetivo: Desenvolver e avaliar as bebidas funcionais a partir de sucos de frutas adicionados de micro-organismos probióticos (*Lactobacillus acidophilus*) livres e microencapsulados por meio da técnica de *spray drying* empregando extrato de soja e maltodextrina como agentes encapsulantes.

3. Participação na pesquisa: Caso concorde em participar do teste a ser realizado no Laboratório de Análise Sensorial Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Medianeira, você deverá experimentar as três amostras de suco de laranja: controle (sem micro-organismo), com células livres e com probiótico microencapsulado, em seguida deverá preencher de maneira correta a ficha que receberá, dando nota aos produtos, assim estes dados serão avaliados estatisticamente pelo pesquisador. As amostras serão acompanhadas por um copo de água e o participante será orientado a bebê-la entre as amostras, para remoção do sabor residual e limpeza das papilas gustativas.

4. Confidencialidade da pesquisa: Os dados coletados serão utilizados somente para os fins da pesquisa e serão tratados com sigilo e confidencialidade, de modo a preservar sua identidade, bem como garantida a privacidade de seus conteúdos, como preconiza a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

5. Desconfortos, Riscos e Benefícios.

5a) Desconfortos e riscos: Em caso de sentir algum tipo de desconforto, você poderá se recusar a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo pessoal, pois a sua participação é totalmente voluntária. O indivíduo alérgico à proteína da soja, ao glúten ou a ou algum dos componentes será orientado a não participar da análise sensorial. A sua participação poderá ainda envolver riscos ou desconfortos como diarreia, náuseas brandas e vômitos brandos. Caso ocorram efeitos indesejáveis você será encaminhado para a unidade de saúde mais próxima, sendo os custos deste de responsabilidade da pesquisadora.

5b) Benefícios: Você não terá benefício direto.

6. Critérios de inclusão e exclusão.

6a) Critérios de inclusão: acadêmicos, professores, servidores, e funcionários da UTFPR, campus Medianeira, de ambos os sexos com idade acima de 18 anos.

6b) Critérios de exclusão: Você não poderá participar desta pesquisa se apresentar alergia a glúten, a soja ou algum dos componentes.

7. Direito de sair da pesquisa e a esclarecimentos durante o processo: Durante todo o período da pesquisa, você terá o direito de esclarecer qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato com o pesquisador. Garante-se também ao participante a plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma pela sua decisão.

8. Custo/reembolso para o participante: Os gastos necessários para a sua participação na pesquisa serão de responsabilidade da pesquisadora. Os participantes não terão direito a ressarcimento, uma vez que a pesquisa não terá custo algum para os mesmos, entretanto têm o direito de indenização caso a pesquisa cause algum dano.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

O Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP) é constituído por uma equipe de profissionais com formação multidisciplinar que estão trabalhando para assegurar o respeito aos seus direitos como participante de pesquisa. Ele tem por objetivo avaliar se a pesquisa foi planejada e se será executada de forma ética. Se você considerar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você foi informado ou que você está sendo prejudicado de alguma forma, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEP/UTFPR). Av. Sete de Setembro, 3165, Rebouças, CEP 80230-901, Curitiba-PR, telefone: 3310-4494, e-mail: coep@utfpr.edu.br.

B) CONSENTIMENTO

Eu declaro ter conhecimento das informações contidas neste documento e ter recebido respostas claras às minhas questões a propósito da minha participação direta (ou indireta) na pesquisa e, adicionalmente, declaro ter compreendido o objetivo, a natureza, os riscos e benefícios deste estudo.

Após reflexão e um tempo razoável, eu decidi, livre e voluntariamente, participar deste

estudo. Estou consciente que posso deixar o projeto a qualquer momento, sem nenhum prejuízo.

Nome completo: _____

RG: _____ Data de Nascimento: ___/___/___ Telefone: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Cidade: _____ Estado: _____

Assinatura: _____ Data: ___/___/___

Eu declaro ter apresentado o estudo, explicado seus objetivos, natureza, riscos e benefícios e ter respondido da melhor forma possível às questões formuladas.

Nome completo: Deisy Alessandra Drunkler

Assinatura pesquisador: _____ Data: ___/___/___

Para todas as questões relativas ao estudo ou para se retirar do mesmo, poderão se comunicar com Deisy A. Drunkler, via e-mail: deisydrunkler@utfpr.edu.br, telefone: (45) 3240-8089.

Endereço do Comitê de Ética em Pesquisa para recurso ou reclamações do sujeito pesquisado: Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (CEP/UTFPR) REITORIA: Av. Sete de Setembro, 3165, Rebouças, CEP 80230-901, Curitiba-PR, telefone: 3310- 4943, e- mail: coep@utfpr.edu.br.

Obs. Este documento deve conter duas vias iguais, sendo uma pertencente ao pesquisador e outra ao sujeito de pesquisa.

APÊNDICE B

Nome:

Gênero:

Idade:

Você está recebendo três amostras codificadas de suco de laranja. Por favor, avalie cada uma das amostras utilizando a escala de valores abaixo:

Escala Hedônica

- 1 – Desgostei muitíssimo
- 2 – Desgostei muito
- 3 – Desgostei moderadamente
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 5 – Indiferente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 7 – Gostei moderadamente
- 8 – Gostei muito
- 9 – Gostei muitíssimo

Amostras	Aparência	Consistência	Textura	Cor	Sabor	Aroma	Avaliação global
389							
728							
945							

Avalie qual seria sua atitude quanto à compra do produto:

- 1 – Certamente compraria
- 2 – Possivelmente compraria
- 3 – Talvez comprasse/talvez não comprasse
- 4 – Possivelmente não compraria
- 5 – Certamente não compraria

Amostras	389	728	945
Notas			